

Akdeniz Bölgesi'nde Yetiştirilen Bazı Nar (*Punica granatum*, L.) Çeşit ve Genotiplerinin Fenolik Bileşenleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Demet Yıldız Turgut^{1, ✉}, Atif Can Seydim²¹Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya²Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

Geliş Tarihi (Received): 10.06.2013, Kabul Tarihi (Accepted): 30.07.2013

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): dyturgut@hotmail.com (D. Yıldız Turgut)

© 0 368 287 62 65 ☎ 0 368 287 62 55

ÖZET

Bu çalışmada Antalya Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilen beş adet nar çeşidi ve altı adet nar genotipinin toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve toplam antosiyanin madde miktarı ile antioksidan aktivite ve fenolik bileşenleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda nar çeşit ve genotiplerine ait nar suyu örneklerinde toplam fenolik madde miktarı 81.515-138.000 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 mL, toplam flavonoid miktarı 5.898-19.438 mg kateşin eşdeğeri (KE)/100 mL, toplam antosiyanin miktarı 9.892-34.616 mg siyanidin-3-glikozit/100 mL arasında tespit edilmiştir. Örneklerin TEAC değerleri 1.004-1.641 mmol Troloks eşdeğeri (TE)/100 mL, ORAC değerleri 16.39-21.05 µmol TE/mL arasında belirlenmiştir. Nar suyu örneklerinde belirlenen fenolik bileşenler epikateşin (3.44-6.53 mg/L), floridzin (0.89-2.17 mg/L), gallik asit (0.53-4.26 mg/L), kateşin (0.04-0.35 mg/L), klorojenik asit (1.30-1.63 mg/L) rutin (0.69-2.17 mg/L), sirinjik asit (0.55-0.73 mg/L), vanilik asit (0.70-0.77 mg/L) olarak saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Nar, Fenolik bileşenler, Antioksidan aktivite

Determination of Phenolic Composition and Antioxidant Activities of Some Pomegranate (*Punica granatum*, L.) Cultivars and Genotypes Grown in the Mediterranean Region of Turkey

ABSTRACT

In this study, total phenolic, flavonoid and antochyanins contents, antioxidant activities and phenolic compositions of five pomegranate cultivars and six pomegranate genotypes bred in the Western Mediterranean Agricultural Research Institute were investigated. Total phenolic, flavonoid and anthocyanin contents of pomegranate juices were in the ranges of 81.515-138.000 mg GAE/100 mL, 5.898-19.438 mg CE/100 mL and 9.892-34.616 mg cyanidin 3-glucoside/100 mL, respectively. TEAC and ORAC values of pomegranate juices were in the ranges of 1.004-1.641 mmol TE/100 mL and 16.39-21.05 µmol TE/mL, respectively. Furthermore epicatechin (3.44-6.53 mg/L), phlorizin (0.89- 2.17 mg/L), gallic acid (0.53-4.26 mg/L), catechin (0.04-0.35 mg/L), chlorogenic acid (1.30-1.63 mg/L), rutin (0.69-2.17 mg/L), syringic acid (0.55-0.73 mg/L), vanilic acid (0.70-0.77 mg/L) were found in the pomegranate samples.

Key Words: Pomegranate, Phenolic compounds, Antioxidant activity

GİRİŞ

Nar (*Punica granatum L.*) tropik ve subtropik iklim kuşağında yetiştirilen bir meyvedir [1]. Nar yetiştiriciliği yaygın olarak Güney ve Kuzey Amerika, Akdeniz Havzası ve Güneybatı Asya' da yapılmaktadır [2]. 2010 yılına gelindiğinde dünya genelinde 2.500.000 ton nar üretildiği tahmin edilmekte olup [3], İran, Afganistan, Türkiye, Hindistan, ABD (Amerika Birleşik Devletleri), Çin, Tunus, , İsrail, Mısır, İspanya, Japonya ve Rusya nar üretiminin yapıldığı başlıca ülkelerdir. Türkiye'de özellikle Akdeniz, Ege ve Güney Doğu Anadolu Bölgeleri nar yetiştiriciliği için en uygun koşulları sağlamaktadır [4]. Nar, son yıllarda meyve yetiştirme tekniğinde, gıda teknolojisinde, depolama ve taşıma alanlarında görülen önemli gelişmeler sonucu daha fazla tanınan, üretimi, tüketimi ve ticareti yıldan yıla artan bir meyve durumuna gelmektedir [5]. 1999 yılında 58000 ton olan nar üretimi 2011 yılında 217.572 ton olarak gerçekleşmiştir. Bu üretimin %60'ı Akdeniz Bölgesi'nden karşılanmaktadır [6].

Nar taze olarak tüketilebildiği gibi aynı zamanda, nar suyu, şurup, konserve, nar tane kurusu, reçel ve şarap şeklinde ikincil ürünlere işlenebilmektedir [5, 7]. Bunun yanında çeşitli gıdalara renk verici ve tatlandırıcı olarak katılmakta [8] ve özellikle ülkemizde nar ekşisi olarak çeşitli yemeklere ve salatalara lezzet vermek amacıyla kullanılmaktadır [9]. Nardan elde edilen ekstraktlar ise bitkisel ilaçlarda ve gıda takviyelerinde kullanılmaktadır [10].

Son yıllarda yapılan araştırmalar, bitkisel ürünlere yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri nedeniyle sağlık açısından çok yararlı bileşikler olduğunu göstermiştir. Epidemiyolojik çalışmalar fenolikçe zengin gıdaların aralarında kalp ve damar hastalıkları ile kanser gibi hastalıkların da bulunduğu pek çok hastalığı önleyici etki gösterdiği ve yaşlanmayı geciktirme gibi olumlu etkiler yarattığını göstermiştir [11, 12].

Nar meyvesinin hem yenilebilir kısmı, hem de kabuk ve çekirdekleri antioksidan aktiviteye katkıda bulunan önemli miktarlarda fenolik maddeler içermektedir [12-18]. Diğer meyveler gibi narın fiziksel ve kimyasal özellikleri ile fenolik madde içeriği, dolayısı ile antioksidan aktivitesi çeşit, olgunluk, iklim, yetiştirme bölgesi ve kültürel uygulamalar gibi birçok faktöre göre değişebilmektedir [11, 14, 19].

Narın içerdiği fenolik bileşikler ve diğer antioksidan özelliğe sahip maddelerin biyoyararlılığı konusunda birçok bilimsel çalışma mevcuttur. Bu nedenle nar son yıllarda fonksiyonel gıda olarak kabul edilmektedir [2]. Nar suyunun içerdiği fenolik bileşikler nedeniyle diğer meyve sularına göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [11, 20]. Nar ekstraktlarının antimikrobiyal ve antiviral aktiviteye sahip olduğu ortaya konmuştur [21-24]. Bunların yanında, bazı klinik çalışmalar nar meyvesinin bileşimindeki maddelerin kan basıncını düşürdüğünü, düşük yoğunluklu lipoprotein [LDL] oksidasyonunu önemli derecede azalttığını [12, 25, 26], koroner kalp hastalıklarındaki olumlu etkilerini

[27], kanser tedavisinde kemoterapinin yan etkilerini azalttığını [28], tümör oluşumu ve gelişimini önlediğini [29], Alzheimer hastalığına karşı yararlı etkileri olduğunu göstermiştir [30]. Ayrıca narın son yıllarda AIDS hastalığının tedavisinde kullanılan yiyecekler sınıfına alındığı ve Japon patentli ilaçlarda yer alan dokuz bitkiden biri olduğu da rapor edilmektedir [31].

Bu çalışmada Antalya ilinde Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilen bazı nar çeşit ve genotiplerinin fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırma kapsamında Antalya Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü [BATEM] Kayaburnu-Serik meyvecilik birimi nar parsellerinde yetiştirilen 17-64, 17-180, 17-183, 18-19, 19-12, 20-138 genotipleri ile BATEM Onurnar, BATEM Yılmaznar, BATEM Hicrannar, BATEM Hicaznar ve BATEM Esinnar çeşitleri kullanılmıştır.

Nar meyveleri 20 Eylül- 20 Ekim 2010 tarihleri arasında hasat edilmiştir. Meyveler paslanmaz çelik bıçakla 2-4 parçaya ayrılarak, dane dokusuna zarar vermeyecek şekilde elle danelenmiştir. Danelerin suları elektrikli meyve presinde [Philips 1861] çıkarılmıştır. Çıkarılan sular kaba filtre kağıdından geçirilmiş ve nar suyu örnekleri kimyasal analizler yapılınca kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir.

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Nar suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarı Singleton et al. [32] tarafından önerilen yöntemle, Folin-Ciocalteu çözeltisi kullanılarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit eşdeğeri [GAE]/ 100 mL olarak spektrofotometrede (Shimadzu UV-Vis 160A, Japonya) absorbansın 765 nm' de ölçülmesiyle tespit edilmiştir [32].

Toplam Flavonoid Madde Miktarı

Toplam flavonoid madde miktarı Zhishen et al. [33] tarafından önerilen yöntemle belirlenmiştir. Nar suyu örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı mg kateşin eşdeğeri [KE]/100 mL olarak spektrofotometrede [Shimadzu UV-Vis 160A, Japonya] absorbansın 510 nm'de ölçülmesiyle tespit edilmiştir.

Toplam Antosiyenin Miktarı

Toplam antosiyenin miktarı pH diferansiyel metoduna [34] göre belirlenmiştir. 0.025 M KCl tamponu [pH 1.0] ve 0.4 M CH₃COONa tamponu içerisinde inkubasyona tabi tutulan örneklerin absorbansları spektrofotometrede [Shimadzu UV-Vis 160A, Japonya] 520 ve 700 nm'de ölçülmüş ve absorbans değerleri A [absorbans değeri]=[A_{520nm}-A_{700nm}] pH 1.0- [A_{520nm}-A_{700nm}] pH 4.5 formülüyle bulunmuştur. Toplam antosiyenin miktarı [TAM] ise TAM= A_xMW_xSf_x100/⁹xL formülüyle siyanidin-3-glikozit cinsinden mg/ 100 mL olarak hesaplanmıştır [MW: Siyanidin-3-glukozidin molekül

ağırlığı: 449.2 g/mol; Sf: Seyreltme faktörü; ^a: Siyanidin-3-glukozidin molar absorpsiyon katsayısı: 26900].

Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite [TEAC]

Örneklerin TEAC analizleri 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikal (ABTS) inhibisyonunun Troloks ile karşılaştırılmasına göre spektrofotometrik olarak yapılmıştır [35]. Bu yöntem, ABTS⁺ (2,2'-azinobis-[3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit]) radikal katyonu tarafından tutulan antioksidatif maddelerin miktarının, sentetik bir antioksidan olan Troloks 'un [suda çözünen E vitamini analogu] standart miktarlarıyla kıyaslanarak bağlı ölçümünü sağlamaktadır. Sonuçlar mmol Troloks Eşdeğeri (TE)/100 mL olarak ifade edilmiştir.

Oksijen Radikal Absorbans Kapasite [ORAC]

Nar suyu örneklerinin antioksidan aktivitesi spektrofloreometrik olarak ORAC-Fluorescein yöntemiyle Biotek Synergy™ HT Multi-Detection Microplate Reader [Winooski, Vermont, ABD] cihazında Biotek Gen 5™ programı yardımıyla belirlenmiştir [36]. Örneklerin ORAC değerleri µmol Troloks Eşdeğeri (TE)/mL olarak ifade edilmiştir.

Fenolik Bileşenler

Nar suyu örneklerinin fenolik bileşenleri LC-MS/MS (High-performance Liquid Chromatography Coupled With Tandem Mass Spectrometry) ile belirlenmiştir [37]. Analizlerde Mass Hunter paket programı ile çalışan Agilent 6430 Triple Quadrupole (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) marka elektrosprey iyon kaynaklı kütle spektrometresi ve Agilent-1290 Infinity (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) marka sıvı kromatografisi kullanılmıştır. Çalışma pozitif ve negatif iyon modunda yürütülmüştür. Çalışmada gaz (azot) sıcaklığı 350°C, gaz akış hızı 10 L/dakika, iyonizasyon enerjisi 70 Ev'tur. Çalışmada 50-500 amu arasında kütle spektraları kaydedilmiştir. Çalışma Zorbax SB-C18 (150x2.1 mm, 1.8 µm) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) kolonda, 0,25 mL/dakika akış hızında yürütülmüştür. Gallik asit, kafeik asit, ferulik asit, klorojenik asit, protokateşuik asit, ellajik asit, 2,6 dihidroksibenzoik asit, kateşin, epikateşin, sirinjik asit, vanilik asit, kuersetin, floridzin, rutin, p-kumarik asit standartlarından farklı konsantrasyonlarda (2.5-20 mg/L) çözeltiler hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Nar suyu örnekleri 0.45 µm çaplı PVDF (polyvinylidene fluoride) filtreden [Millipore, Bedford, MA, U.S.A] geçirilerek cihaza enjekte edilmiştir. Enjeksiyon hacmi 10 µL'dir. Çalışmada kullanılan mobil faz: Solvent A= (5/95:h/h) Metanol:Su [%0.01 formik asit ve 5 mM amonyum format içeren], Solvent B= Metanol [% 0.01 formik asit ve 5 mM amonyum format içeren]'dür. Kullanılan elüsyon profili şu şekildedir: 0-1 dakika %5 solvent B [sabit akış], 1-3 dakika %30 solvent B, 3-4 dakika %60 solvent B, 4-5 dakika %60 solvent B (sabit akış), 5-6 dakika %70 solvent B, 6-8 dakika %80 solvent

B, 8.01 dakika %5 solvent B, 8.01-10 dakika %5 solvent B (sabit akış).

İstatistiksel Değerlendirme

Araştırma üç tekerrür ve tüm analizlerde her örnek için iki paralel olarak düzenlenmiştir. Elde edilen sonuçlar varyans analizi ile değerlendirilmiş, önemli bulunan sonuçlar, Duncan çoklu karşılaştırma testi ile P<0.05 düzeyinde karşılaştırılmıştır. İstatistiksel değerlendirmede SAS istatistik programı kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

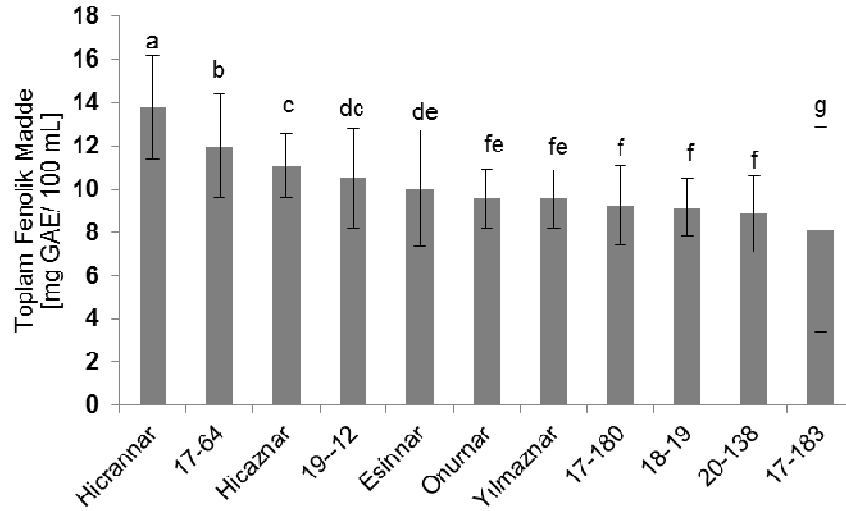
Nar Çeşit ve Genotiplerinde Toplam Fenolik Madde Miktarı

Nar çeşit ve genotiplerine ait nar suyu örneklerinde toplam fenolik madde miktarları Şekil 1'de verilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı 81.515- 138 mg GAE /100 mL arasında değişim göstermiştir. Hicrannar çeşidi en yüksek fenolik madde miktarı ile diğer örneklerden önemli düzeyde farklılık göstermektedir (P<0.05). Yüksek fenolik madde miktarına sahip diğer örnekler 17-64 genotipi, Hicaznar, 19-12 genotipi ve Esinnar olarak tespit edilmiştir. En düşük toplam fenolik madde miktarı ise 17-183 genotipinde tespit edilmiştir.

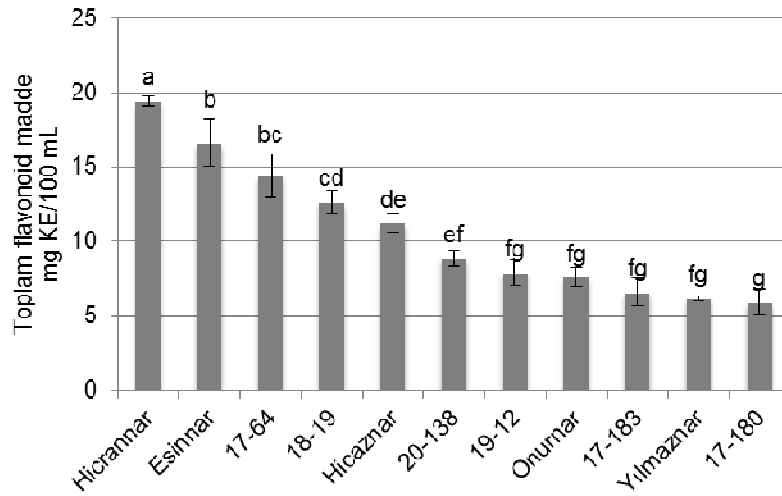
Akdeniz bölgesi'nde yetiştirilen 6 farklı nar çeşidinde toplam fenolik madde miktarı 124.5-207.6 mg GAE/100 mL olarak belirlenmiştir [38]. Şili'de yetiştirilen 8 nar genotipinde toplam fenolik madde miktarları 105.5-128.0 mg GAE/100 mL [39], İtalya bölgesi ait 5 nar çeşidinde 65.14-110.31 mg GAE/100 mL [40] arasında tespit edilmiştir. Bulgularımız literatür sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Nar suyunun toplam fenolik madde miktarı, nar çeşidi ve presleme basıncına bağlı olarak 55-320 mg/100 mL arasında değişebilmektedir [41]. Ayrıca olgunluk durumunun, yetiştirme bölgesinin, iklimin, kültürel uygulamaların fenolik bileşiklerin biyosentezini etkilediği bilinmektedir [7]. Bunun yanında ekstraksiyon ve analiz metodları da elde edilen toplam fenolik madde miktarı sonuçlarını etkilemektedir [42].

Nar Çeşit ve Genotiplerinde Toplam Flavonoid Madde Miktarı

Nar çeşit ve genotiplerine ait nar suyu örneklerinde toplam fenolik madde miktarları Şekil 2'de verilmiştir. Örneklerin toplam flavonoid miktarları 5.898-19.438 mg kateşin eşdeğeri (KE)/ 100 mL olarak belirlenmiştir. Hicrannar çeşidinin toplam flavonoid içeriğinin diğer örneklerden önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Hicrannar çeşidinden sonra Esinnar, 17-64 genotipi, 18-19 genotipi, Hicaznar yüksek flavonoid içeriğine sahip diğer örneklerdir. En düşük flavonoid miktarı ise 17-180 genotipinde tespit edilmiştir. Fawole et al. [43] Güney Afrika' da yetişen 'Arakta', 'Bhagwa' ve 'Ruby' çeşitlerinde toplam flavonoid miktarını 46.38-72.28 mg KE/100 mL arasında tespit etmiştir. Bulgularımız ve literatür değerleri arasındaki farklılıkların nar çeşitlerinden, ekstraksiyon ve analiz metodlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 1. Nar çeşit ve genotiplerinde toplam fenolik madde miktarı



Şekil 2. Nar çeşit ve genotiplerinde toplam flavonoid madde miktarı

Nar Çeşit ve Genotiplerinde Toplam Antosiyanin Madde Miktarı

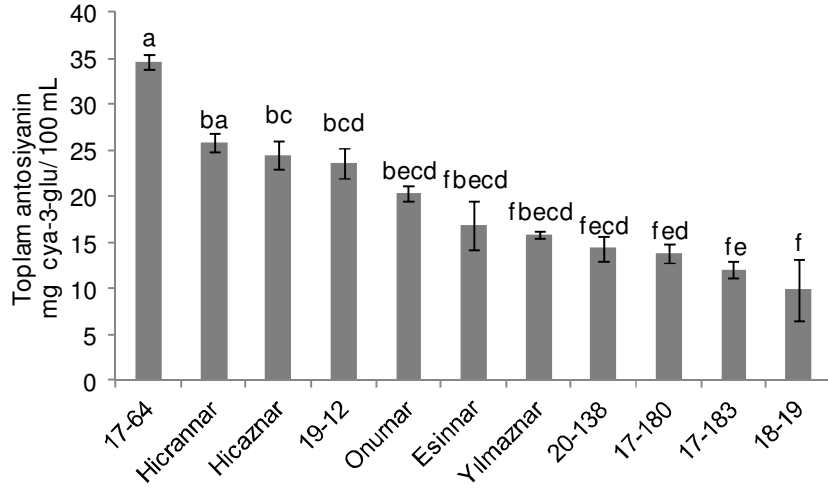
Nar çeşit ve genotiplerine ait nar suyu örneklerinde toplam antosiyanin miktarları Şekil 3'te verilmiştir. Örneklerin toplam antosiyanin miktarları 9.892- 34.616 mg siyanidin-3- glikozit/ 100 mL arasında değişmektedir. Nar suyu örneklerinde en yüksek antosiyanin miktarı 17-64 genotipinde, en düşük antosiyanin miktarı ise 18-19 genotipinde belirlenmiştir. Bu örneklerin fenolik madde miktarlarına bakıldığında 17-64 genotipi yüksek fenolik madde içeriği ile 18-19 genotipi ise düşük fenolik madde içeriği ile dikkat çekmektedir (Şekil 1). Nar çeşit ve genotiplerine ait meyve suyu örneklerinin antosiyanin miktarları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Diğer çalışmalar incelendiğinde toplam antosiyanin miktarı Özgen et al [38] 6 farklı nar çeşidinde 0.61-21.9 mg siyanidin-3-glikozit/100 mL, Çam ve ark. [44] ise 8 nar çeşidinde 8.1-36.9 mg/100 mL olarak belirlemiştir.

Çalışma bulguları literatür değerleriyle benzerlik göstermektedir.

Nar Çeşit ve Genotiplerinde Trolox Eşdeğeri Antioksidan Aktivite [TEAC]

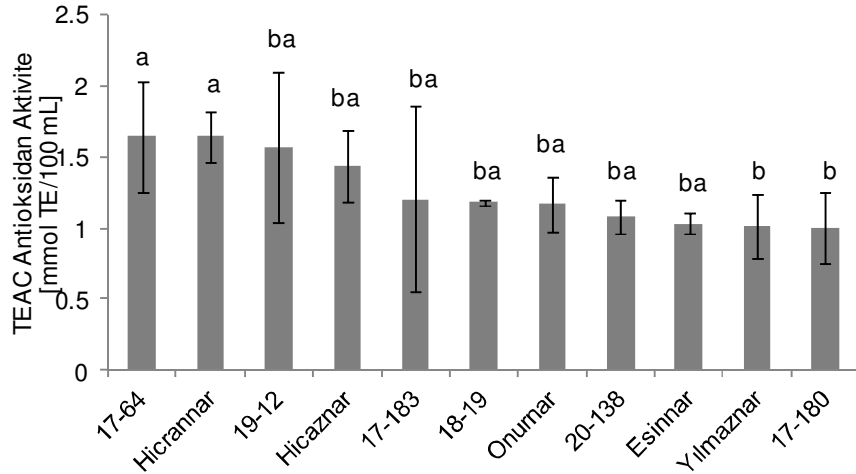
Nar suyu örneklerinin TEAC değerleri Şekil 4'te verilmiştir. Örneklerin TEAC değerleri 1.004-1.641 mmol Trolox Eşdeğeri [TE]/100 mL arasında belirlenmiştir. En yüksek TEAC değerine sahip örnekler 17-64 genotipi ve Hicrannar çeşididir. En düşük TEAC değeri ise 17-180 genotipi ve Yılmaznar çeşidinde belirlenmiştir. Nar suyu örneklerinin TEAC değerleri arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Yüksek TEAC değerine sahip 17-64 genotipi, Hicrannar, 19-12 genotipi ve Hicaznar'ın toplam fenolik madde ve toplam antosiyanin içerikleri yüksek örnekler olduğu görülmektedir (Şekil 1 ve 2). Ayrıca 19-12 genotipi dışında diğer üç örneğin toplam flavonoid miktarları, diğer nar suyu örneklerinden yüksektir (Şekil 2).



Şekil 3. Nar çeşit ve genotiplerinde toplam antosiyanin miktarı

Özgen ve ark. [38] 6 nar çeşidinde TEAC değeri 0.438-0.77 mmol TE/100 mL, Öztan [45] taze sıkılmış nar sularında TEAC değerlerini 1.83-3.00 mM Troloks olarak belirlemiştir. Özkan [46] ülkemizde yetiştirilen 9 nar çeşidinde TEAC değerini 1.71- 2.46 mmol TE/100 mL olarak bildirmiştir. Nar içerdiği antosiyanin, punikalagin ve punikalın gibi ellajitanenler, gallik asit, ellajik asit, katesin gibi fenolik maddelerden

kaynaklanan yüksek antioksidan aktivitesine sahiptir. Diğer meyvelerde olduğu gibi çeşit, iklim, toprak, bölge, olgunluk durumu, kültürel uygulamalar gibi faktörler nar suyunun fenolik madde miktarı ve çeşidini, dolayısıyla antioksidan aktivitesini etkilemektedir. Ayrıca nar suyu üretim teknikleri, nar suyunun antioksidan aktivitesine katkıda bulunan fenoliklerin konsantrasyonu ve çeşidini etkilemektedir [11, 44].



Şekil 4. Nar çeşit ve genotiplerinde TEAC değerleri

Nar çeşit ve Genotiplerinde Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC)

Nar çeşit ve genotiplerine ait nar sularında ORAC değerleri Şekil 5'te verilmiştir. Nar suyu örneklerinin ORAC değerleri 16.39-21.05 µmol TE/mL arasında değişmektedir. En yüksek ORAC değeri 17-64 genotipinde, en düşük ORAC değeri ise 17-183 genotipinde belirlenmiştir. Nar suyu örneklerinin ORAC

değerleri arasında farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Yüksek ORAC değerlerine sahip 17-64 genotipi ve diğer örneklerden, Hicaznar ve Hicrannar'ın toplam fenolik, toplam flavonoid ve antosiyanin içeriklerinin de yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 1, 2 ve 3). En düşük ORAC değerine sahip 17-183 genotipinin diğer örnekler arasında en düşük toplam fenolik madde miktarına sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).

Sepulveda ve ark. [39] ise 8 nar genotipinde ORAC değerini 12.7-24.4 mmol TE/L olarak bildirmiştir. Bulgularımız bu değerlerle benzerlik göstermektedir. Seeram ve ark. [20], ticari meyve sularında ORAC değerini 25 µmol TE/mL olarak belirlemiştir. Bulgularımız bu değerlerden düşüktür.

Nar çeşit ve Genotiplerinde Antioksidan Aktivite İle Fenolik Madde Konsantrasyonu Arasındaki İlişki

Bazı araştırmacılar meyvelerde fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivite arasında pozitif korelasyon bulunduğunu bildirmişlerdir [48,45,38,43]. Çalışmamızda nar suyu örneklerinin antioksidan aktivite değerleri ile toplam fenolik madde, toplam antosiyanin ve toplam flavonoid miktarı değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon (r) Tablo 1'de verilmiştir. TEAC yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivite, toplam antosiyanin ve toplam fenolik içeriği arasındaki korelasyon istatistiksel açıdan önemli bulunurken, toplam flavonoid madde içeriği ile arasındaki korelasyon önemsiz bulunmuştur. ORAC yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivite ile tüm fenolik madde parametreleri arasındaki korelasyon istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Bu çalışmada yer alan nar çeşit ve genotiplerinin antioksidan aktivitelerinde, fenolik maddelerin, özellikle antosiyaninlerin rolü olduğu söylenebilir. Antosiyaninlerin nar suyunun ve birçok meyvenin rengine katkısı bulunan suda çözünbilir pigmentler olduğu ve nar suyunun antioksidan aktivitesinde güçlü bir rol oynadığı bilinmektedir [17, 39]. Ancak fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivite değeri arasındaki korelasyon gıdaya, antioksidan ile korunan substrat çeşidine, fenolik bileşikler arasındaki antagonist etkiye bağlı olarak değişebilmektedir. Aynı şekilde farklı reaksiyonların inhibisyonunun ölçümüne dayalı antioksidan kapasitelerin ölçüldüğü yöntemlerin birbiriyle kıyaslanması reaksiyon koşulları, substrat veya ürünlerdeki farklılıklar nedeniyle doğru değildir. Antioksidan aktivitenin ölçümünde kullanılan yöntemlerin sınırlamaları nedeniyle bir gıdanın antioksidan aktivitesinin ölçümünde birden fazla yöntemin kullanılması önerilmektedir [49].

Sepulveda ve ark. [47], Şili'de yetiştirilen nar genotiplerinde ORAC yöntemiyle elde edilen antioksidan aktivite değerleri ile toplam fenolik madde içeriği ($r=0.95$) ve toplam antosiyanin içeriği arasında ($r=0.85$) korelasyon önemli bir korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Özgen ve ark. [38], Akdeniz bölgesinde yetiştirilen nar çeşitlerinde TEAC ve FRAP değerleri ile toplam fenolik, toplam antosiyanin madde içeriği arasında pozitif bir korelasyon ($r=0.82-0.96$) bulunduğunu bildirmiştir.

Nar Çeşit ve Genotiplerinde Fenolik Bileşen Miktarları

Çalışma sonucunda nar suyu örneklerinde 3 adet hidroksibenzoik asit (gallik, vanilik ve sirinjik asit), 2 adet flavanol (epikateşin, kateşin), 1 adet hidroksisünamik asit (klorojenik asit), 1 adet flavanon (floridzin), 1 adet flavonol (rutin) tespit edilmiştir. Nar çeşit ve

genotiplerine ait fenolik bileşenlerin dağılımı grafikte görülmektedir [Şekil 6].

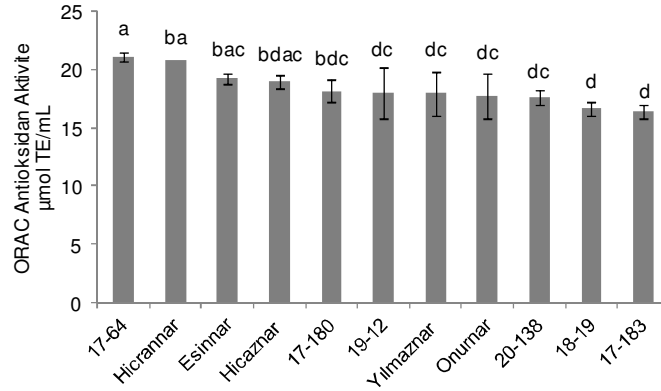
Epikateşin tüm nar suyu örneklerinde hakim fenolik bileşen olarak 3.44-6.53 mg/L arasında belirlenmiştir. En yüksek epikateşin miktarına sahip örnekler 17-64 genotipi, Onurnar ve Esinnar çeşidi olarak belirlenmiştir, En düşük epikateşin miktarı ise 20-138 genotipinde saptanmıştır. Nar suyu örneklerinde 0.89- 2.17 mg/L arasında değişen miktarlarda floridzin tespit edilmiştir. En yüksek floridzin miktarı Hicaznar çeşidinde, en düşük floridzin miktarı ise 20-138 genotipinde belirlenmiştir. Gallik asit miktarı 0.53-4.26 mg/L arasında tüm nar suyu örneklerinde tespit edilmiştir. En yüksek gallik asit miktarına sahip örnek Yılmaznar, en düşük gallik asit miktarına sahip örnek ise Onurnar olarak belirlenmiştir, Kateşin miktarı açısından örnekler incelendiğinde 17-180, 20-138 ve 18-19 genotipinde kateşin tespit edilememiştir. Diğer nar suyu örneklerinin kateşin miktarları 0.04-0.35 mg/L arasında değişmektedir. Diğer örnekler içerisinde en yüksek kateşin miktarı 17-64 genotipinde, en düşük kateşin miktarı ise Yılmaznar çeşidinde saptanmıştır. Klorojenik asit miktarları tüm örneklerde tespit edilmiş olup, en yüksek değer Onurnar çeşidinde (1.63 mg/L), en düşük değer ise Hicrannar çeşidinde (1.30 mg/L) tespit edilmiştir. Nar suyu örneklerinin rutin miktarları 0.69-2.17 mg/L arasında tespit edilmiştir, En yüksek rutin miktarı Yılmaznar çeşidinde, en düşük rutin miktarı ise 20-138 genotipinde belirlenmiştir. Nar suyu örneklerinin sirinjik asit miktarları 0.55-0.73 mg/L olarak belirlenmiştir. Örneklerin vanilik asit miktarları 0.70-0.77 mg/L arasında saptanmıştır.

Nar çeşit ve genotipleri arasındaki epikateşin, floridzin, gallik asit, kateşin, klorojenik asit, rutin miktarları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunurken ($P<0.05$), sirinjik ve vanilik asit miktarları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).

Poyrazoğlu ve ark. [7] 13 nar çeşidinin işlenmemiş meyve suyunda gallik asit 0.34-30.86 g/L, protokateşinik asit 0.12-2.09 g/L, kateşin 0.13-8.44 g/L, klorojenik asit 0.09-4.72 g/L, kafeik asit 0.09-2.89 g/L, *p*-kumarik asit 0.04-0.15 g/L, ferulik asit 0.01-0.06 g/L, *o*-kumarik asit 0.07-0.30 g/L, floridzin 0.06-4.93 g/L, kuersetin 0.23-5.30 g/L olarak belirlemiştir. Pande ve Akoh [50], 6 nar çeşidine ait meyve suyunda fenolik bileşiklerden hidrolize tanenler 71.2-103.1 mg/100 g, kafeik asit 12.3-14.4 mg/100g, *p*-kumarik asit 6.6-8.1 mg/100 g, ferulik asit 1.3-2.0 mg/100 g, kateşin 82.7-101.2 mg/100g, epikateşin 9.6-11.7 mg/100g, kuersetin 66.7-77.1 mg/100 g belirlemiştir. Swatsiang ve ark. [13] tarafından yapılan çalışmada nar suyunda bulunan fenolik bileşiklerin miktarları 3.49 mg/ 100g gallik asit, 0.39 mg/ 100g protokateşinik asit, 4.23 mg/100g *p*-hidroksibenzoik asit, 2.16 mg/100g vanilik asit, 0.24 mg/100g kafeik asit, 10.01 mg/100g *p*-kumarik asit, 13.95 mg/100g ferulik asit olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada nar çeşit ve genotiplerinin fenolik bileşenlerin çeşidi ve miktarlarının literatür değerleri arasındaki farklılıkların, nar çeşidinden, narın yetiştirildiği bölge, iklim, sıcaklık, olgunluk durumu gibi faktörlerden ayrıca kullanılan

analiz yöntemlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nar çeşit ve genotiplerinin fenolik bileşen türü ve

miktarları arasındaki farklılıkların ise narların genetik özelliklerinden kaynaklandığı söylenebilir.

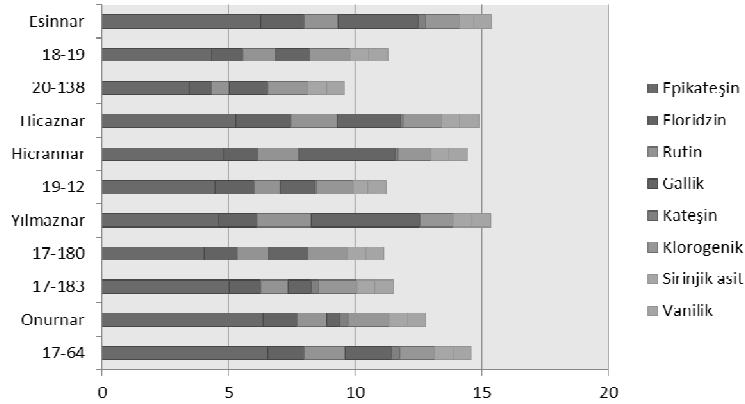


Şekil 5. Nar çeşit ve genotiplerinde ORAC değerleri

Tablo 1. TEAC, ORAC değerleri ile toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve toplam antosiyanin madde parametreleri arasındaki korelasyon

	Toplam Fenolik	Toplam Flavonoid	Toplam Antosiyanin
TEAC	0.797*	0.489	0.826**
ORAC	0.895**	0.710*	0.843**

*P<0.01 düzeyinde önemli, **P<0.001 düzeyinde önemli



Şekil 6. Nar suyu örneklerinin fenolik bileşen dağılımına ait grafik

SONUÇLAR

Bu çalışmada Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM) tarafından geliştirilen nar çeşit ve genotiplerinin fitokimyasal özellikleri ilk kez belirlenmiştir. Çalışma sonucunda kullanılan nar çeşit ve genotiplerinde fitokimyasal özellikler bakımından önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Nar çeşit ve genotiplerinin antioksidan aktiviteleri TEAC ve ORAC yöntemleri ile saptanmıştır. Nar suyunun antioksidan aktivitesinin içerdiği fenolik madde konsantrasyonu ile ilgili olduğu bilinmektedir. 17-64, Hicranmar ve Hicaznar çeşitlerinin toplam fenolik, toplam antosiyanin ve toplam flavonoid miktarlarının da yüksek olması antioksidan aktivitenin fenolik maddelerden kaynaklandığını doğrular niteliktedir. Nitekim antioksidan aktivite ve fenolik madde parametreleri arasındaki korelasyon önemli

bulunmuştur. Antioksidan maddelerin farklı radikallere karşı farklı reaksiyon mekanizmasına sahip olabileceği bilinmektedir. Bu nedenle antioksidan aktivite belirlemede birden fazla yöntemin kullanılması önerilmektedir. Ayrıca bu çalışmada nar suyu örneklerinin antioksidan aktivitesi *in vitro* yöntemlerle tespit edilmiştir. Bu yöntemlerin sonuçlarını desteklemesi bakımından, nar suyunda bulunan antioksidan maddelerin insan vücudundaki biyoyararlılığını saptayacak yöntemlerin uygulanmasının, nar suyunun sağlık açısından yararlarını ortaya koymada daha etkili olacağı düşünülmektedir. Çalışmada nar suyu örneklerinde LC-MS/MS ile 3 adet hidroksibenzoik asit (gallik, vanilik ve sirinjik asit), 2 adet flavanol (epikateşin, kateşin), 1 adet hidroksisünamik asit (klorogenik asit), 1 adet flavanon (floridzin), 1 adet flavonol (rutin) tespit edilmiştir. Nar

suju flavonoidler, fenolik asitler, antosiyaninler, tanenler gibi çok çeşitli fenolik madde gruplarını içermektedir. Bu nedenle farklı ekstraksiyon ve analiz metotlarının uygulanmasının nar suyunda bulunan diğer fenolik madde gruplarını (özellikle antosiyaninler) tanımlamada yararlı olabileceği düşünülmektedir. Çalışma sonucunda elde edilen bilgiler ışığında Hicrannar, Hicaznar, Esinnar çeşidi ile 17-64 ve 19-12 genotipi içerdikleri fenolik bileşenlerin çeşidi, yüksek fenolik ve antosiyanin madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri nedeniyle sofralık tüketim, meyve suyu endüstrisi ve ıslah çalışmaları için önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Kulkarni, A.P., Aradhya, S.M., 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry* 93: 319-324.
- [2] Martinez, J.J., Melgarejo, P., Hernandez, F., Salazar, D.M., Martinez, R., 2006. Seed characterisation of five new pomegranate [*Punica granatum L.*] varieties. *Scientia Horticulturae* 110: 241–246.
- [3] Kurt, H., Şahin, G., 2013. Bir Ziraat Coğrafyası Çalışması: Türkiye’de Nar (*Punica granatum L.*) Tarımı. *Marmara Coğrafya Dergisi* 27: 551-574.
- [4] Özgüven, A.I., Yılmaz, C., 2000. Pomegranate Growing in Turkey. *CIHEAM-Options Mediterraneennes*. 41-48.
- [5] Vardin, H., Abbasoğlu, M., 2004. Nar Ekşisi ve Narın Diğer Değerlendirme Olanakları. *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*. Eylül 23-24, 2004, Van, Türkiye, 165-169.
- [6] TÜİK 2011. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> [Erişim Tarihi 05.03.2013]
- [7] Poyrazoğlu, E., Gökmen, V., Artık, N., 2002. Organic acid and phenolic compounds in pomegranates [*Punica granatum L.*] grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 15 (5): 567-575.
- [8] Al-Maiman, S.A., Ahmad, D., 2002. Changes in physical and chemical properties during pomegranate [*Punica granatum*] fruit maturation. *Food Chemistry* 76: 437- 441.
- [9] Maskan, M., 2006. Production of pomegranate [*Punica granatum L.*] juice concentrate by various heating methods: colour degradation and kinetics. *Journal of Food Engineering* 72: 218-224.
- [10] Seeram, N.P., Zhang, Y., Reed, J.D., Krueger CG, Vaya J., 2006. Pomegranate Phytochemicals. In *Pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine*, Edited by N.P. Seeram., R.N. Schulman, D. Heber, CRC Press, Taylor and Francis, New York, 3-26.
- [11] Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Pierce, B.H., Holcroft, D.M., Kader, A.A., 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 48: 4581-4589.
- [12] Aviram, M., Rosenblat, M., Gaitini, D., Nitecki, S., Hoffman, A., Dornfeld, L., Volkova, N., Presser, D., Attias, J., Liker, H., Hayek, T., 2004. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clinical Nutrition* 23: 423–433.
- [13] Swatsitang, P., Tucker, G., Salter, A., 1999. Antioxidant in fruits. *Scand. J. Nutr.* 43 (2): 4-19.
- [14] Poyrazoğlu, E., Gökmen, V., Artık, N., 2002. Organic acid and phenolic compounds in pomegranates [*Punica granatum L.*] grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 15 (5): 567-575.
- [15] Özhan Tümer, L., 2006. Bazı nar çeşitlerinin olgunlaşma aşamalarında fenolik bileşik miktarlarındaki değişimler. *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, Adana, Türkiye, 53 s.
- [16] Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., Cheng, S., 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry* 96: 254-260.
- [17] Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., Aviram, M., Amir, R., 2007. Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 9559–9570.
- [18] Fischer, U.A., Carle, R., Kammerer, D.R., 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate [*Punica granatum L.*] peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD–ESI/MSⁿ. *Food Chemistry* 127:807-821.
- [19] El-Nemr S.E., Ismail, I.A., Ragab, M., 1990. Chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruit. *Nahrung* 7: 601-606.
- [20] Seeram, N.P., Aviram, M., Zhang, Y., Henning, S.M., Feng, L., Dreher, M., Heber, D., 2008. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 1415–1422.
- [21] Braga, L.C., Shupp, J.W., Cummings, C., Jett, M., Takahashi, J.A., Carmo, L.S., Chartone-Souza, E., Nascimento, A.M., 2005. Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production. *Journal of Ethnopharmacology* 96: 335–339.
- [22] Vasconcelos, L.C., Sampaio, F.C., Sampaio, M., Pereira, C., Mdo, S., Higinio, J.S., Peixoto, M.H., 2006. Minimum inhibitory concentration of adherence of *Punica granatum Linn* [pomegranate] gel against *S. mutans*, *S. mitis* and *C. albicans*. *Braz. Dent. J.* 17: 223–227.
- [23] Neurath, A.R., Strick, N., Li, Y.Y., Debnath, A.K., 2004. *Punica granatum* [pomegranate] juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infect. Dis.* 4: 41.
- [24] Vidal, A., Fallarero, A., Pena, B.R., Medina, M.E., Gra, B., Rivera, F., Gutierrez, Y., Vuorela, P.M., 2003. Studies on the toxicity of *Punica granatum L.* [Punicaceae] whole fruit extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 89: 295–300.
- [25] Aviram, M., Dornfeld, L., 2001. Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting

- enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis* 158: 195–198.
- [26] Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D., Fuhrman, B., 2000. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71: 1062-1076.
- [27] Kim, N.D., Mehta, R., Yu, W., Neeman, I., Livney, T., Amichay, A., Poirier, D., Nicholls, P., Kirby, A., Jiang, W., Mansel, R., Ramachandran, C., Rabi, T., Kaplan, B., Lansky, E., 2002. Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate [*Punica granatum*] for human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 71: 203–217.
- [28] Sumner, M.D., Elliott-Eller, M., Weidner, G., Daubenmier, J.J., Chew, M.H., Marlin, R., Raisin, C.J., Ornish, D., 2005. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. *The American Journal of Cardiology* 96: 810–814.
- [29] Khan, N., Afaq, F., Kweon, M.H., Kim, K., Mukhtar, H., 2007. Oral consumption of pomegranate fruit extract inhibits growth and progression of primary lung tumors in mice. *Cancer Res.* 67: 3475–3482.
- [30] Singh, M., Arseneault, M., Sanderson, T., Murthy, V., Ramassamy, C., 2008. Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 4855–4873.
- [31] Lansky, E., Shubert, S., Neeman, I., 1998. Pharmacological and therapeutical properties of pomegranate. In Proceedings 1st International Symposium on Pomegranate, Edited by Martinez, J.J., Martinez, J., CIHEAM, Orihuela, Spain, 231-235p.
- [32] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymology* 299: 152-178.
- [33] Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.
- [34] Giusti, M.M., Wrolstad, R.E., 2001. Characterization and measurement of Antocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* F1.2.1- F1.2.-13.
- [35] Davalos, A., Bartolome, B., Gomez-Cordoves, C., 2005. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chemistry* 93: 325-330.
- [36] Fischer, U.A., Carle, R., Kammerer, D.R., 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate [*Punica granatum L.*] peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD–ESI/MSⁿ. *Food Chemistry* 127: 807-821.
- [37] Özgen, M., Durgaç, C., Serçe, S., Kaya, C., 2008. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in Mediterranean region of Turkey. *Food Chemistry* 111: 703–706.
- [38] Sepulveda, E., Saenz, C., Pena, A., Robert, P., Bartolome, B., Gomez-Cordoves, C., 2010. Influence of the genotype on the anthocyanin composition, antioxidant capacity and color of Chilean pomegranate [*Punica granatum L.*] juices. *Agric. Res.* 70: 50-57.
- [39] Cristofori, V., Caruso, D., Latini, G., Dell'Agli, M., Cammilli, C., Rugini, E., Bignami, C., Muleo, R., 2011. Fruit quality of Italian pomegranate [*Punica granatum L.*] autochthonous varieties. *European Food Research Technology* 232: 397-403.
- [40] Vardin, H., Fenercioğlu, H., 2003. Study on the development of pomegranate juice processing technology: Clarification of pomegranate juice. *Nahrung* 47: 300–303.
- [41] Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99: 191-203.
- [42] Fawole, O.A., Opara, U.L., Theron, I.K., 2012. Chemical and phytochemical properties and antioxidant activities of three pomegranate cultivars grown in South Africa. *Food Bioprocess Technology* 5: 425-444
- [43] Çam, M., Hışıl, Y., Durmaz, G., 2009. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry* 112: 721-726.
- [44] Öztan, T., 2006. Mor Havuç, Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar suyu ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi. *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul, Türkiye, 93 s.
- [45] Özkan, M., 2009. Ülkemizde Yetiştirilen Başlıca Nar Çeşitlerinin Bazı Kimyasal Nitelikleri. *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Hızlandırılmış Proje Kesin Raporu*, Ankara, 40 s.
- [46] Sepulveda, E., Saenz, C., Pena, A., Robert, P., Bartolome B, Gomez-Cordoves C., 2010. Influence of the genotype on the anthocyanin composition, antioxidant capacity and color of Chilean pomegranate [*Punica granatum L.*] juices. *Chilean Journal of Agricultural Research* 70(1), 50-57.
- [47] Wang, S.Y., Lin, H.S., 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 140-146.
- [48] El, S.N., 2008. Türkiye'de sıklıkla tüketilen bazı gıdaların toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktiviteleri. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 45-48.
- [49] Pande, G., Akoh, C.C., 2009. Antioxidant capacity and lipid characterization of six Georgia-grown pomegranate cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 9427–9436.