



GELENEKSEL İÇECEĞİMİZ HARDALIYENİN FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma Faikoğlu* Hakan Yavaş ** Ozan Gürbüz *** Nilgün İSTEK****

ÖZET

Hardaliye, Trakya bölgesinde üzüm suyunun, hardal tohumu ve vişne yaprağıyla aromalandırılması sonucu elde edilen, alkolsüz, buruk ve ferahlatıcı etkisi ile karakteristik bir içecektir. Bu çalışmada, Tekirdağ Mürefte bölgesinden temin edilen Kalecikkarası, Papazkarası ve Adakarası üzüm çeşitlerinden ürettiğimiz hardaliyelerin, fenolik bileşik içeriğinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Hardaliyelerde gallik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, resveratrol, mirisetin, vanilik asit, siringik asit, naringin, (-)-epikateşin içerikleri HPLC-DAD metodu ile tespit edilmiştir.

Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre, Papazkarası ve Kalecikkarası üzüm suyuna laktik asit bakterileri ilave edilerek üretilen hardaliyelerde, toplam fenolik madde içeriği %34 oranında azalırken, Adakarasında ise %47 oranında azaldığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Üzüm, Hardaliye, fenolik asitler, flavonoidler, HPLC-DAD.

RESEARCH ABOUT PHENOLIC COMPOUNDS OF TURKISH TRADITIONAL DRINK HARDALIYE

ABSTRACT

Hardaliye, produced in the Thrace region with grape juice, mustard seeds and sour cherry leaves, is a refreshing drink which is characterized as aromatic, non-alcoholic, and astringent. In this study, we found the phenolic compound contents of Hardaliye prepared from Kalecikkarası, Papazkarası and Adakarası grape varieties. These cultivars were obtained from the Tekirdağ, Mürefte region. Gallic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, resveratrol, myricetin, vanillic acid, syringic acid, naringin, (-)-epicatechin were analyzed by HPLC-DAD.

Results from this study indicated that Hardaliye produced with the addition of lactic acid bacteria decreased the total phenolic content by %47 in the drink made with the Adakarasi cv. but increases %34 when the Kalecikkarası and Papazkarası cv... were used.

Keywords: Grape, Hardaliye, phenolic acids, flavonoids, HPLC-DAD.

* Gıda Yüksek Mühendisi

** Ziraat Mühendisi, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü-BURSA

*** Doç.Dr., Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü-BURSA

**** Uzm.Dyt. Medikal Park Hastanesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü- BURSA

1. GİRİŞ

Türkiye, dünya üzerindeki coğrafi konumu ve sahip olduğu ekolojik özellikleri itibariyle bağcılığa elverişli bir coğrafyada yer almaktadır. Bundan dolayı ülkemizde oldukça geniş bir çeşit yelpazesine sahip bağcılık yapılmaktadır (Özden ve Vardin, 2009). Dünya üzüm üretiminde 3923040 ton üretimiyle 6. sırada yer alan Türkiye bağcılığı (FAO, 2012), ülkenin tarımsal yapısı içerisindeki yeri ve ülke ekonomisine katkısı bakımından da büyük öneme sahiptir.

Üzüm, taze veya kuru olarak tüketildiği gibi farklı işlemlerden geçirildikten sonra üzüm suyu, rakı, sirke, pekmez ve pestil vb. ürünler olarak da tüketilmektedir (Özden ve Vardin, 2009). Hardaliye de bu ürünlerden bir tanesi olup, Türkiye lezzet haritasına Trakya bölgesinden girmiş, olgunlaşmış üzümlerin işlenmesiyle elde edilen dövülmüş hardal tohumu ve vişne yaprağıyla aromalandırılmış, alkolsüz, buruk ve ferahlatıcı etkisi ile karakteristik bir içecektir. Hardaliye sadece besin içerikleri yönünden önem taşımakla kalmayıp; insan sağlığı üzerine olan son derece olumlu etkileri nedeniyle de büyük önem taşımaktadır. Üzüm suyunun fermente edilmesiyle elde edilen hardaliyenin bağışıklık sistemini güçlendirdiği, içerdiği meyve asitleri ve lifli yapısından dolayı mideye zarar vermeden böbrek ve bağırsak sisteminin çalışmasını ve kan dolaşımını düzenlediği, kapiller kuvveti ve vasküler fonksiyonu arttırdığı, böbreklerde kum ve taşların düşürülmesine yardımcı olduğu, karaciğer hastalıklarını önlediği, kanı temizlediği ve özellikle siyah üzümün kabukları ve çekirdekleri ile yenildiğinde hücre yenileyici bir etki gösterdikleri tespit edilmiştir (Aras, 2006).

Bugüne kadar en az 5000 tane fenolik madde tanımlanmış olup 2000'den fazlası doğal flavonoidlerdir. Genellikle bitkilerin yaprak, çiçek meyve gibi canlı dokularında glikozitler şeklinde, odunsu dokularında aglikonlar şeklinde, çekirdeklerinde ise her iki formda da bulunabilmektedirler (Shahidi ve Nacz, 1995). Meyve ve sebzelerde az miktarda bulunan bu bileşikler ağızda buruk bir tat bırakan ve besin rengine etki eden, önemli olan bir madde grubudur. Fenolik maddeler aromatik halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren bileşiklerdir (Shahidi ve Nacz, 1995). Bu bakımdan en basit fenolik maddenin bir tane hidroksil grubu içeren fenol olduğu ve diğer fenolik maddelerin bundan türediği bilinmektedir (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

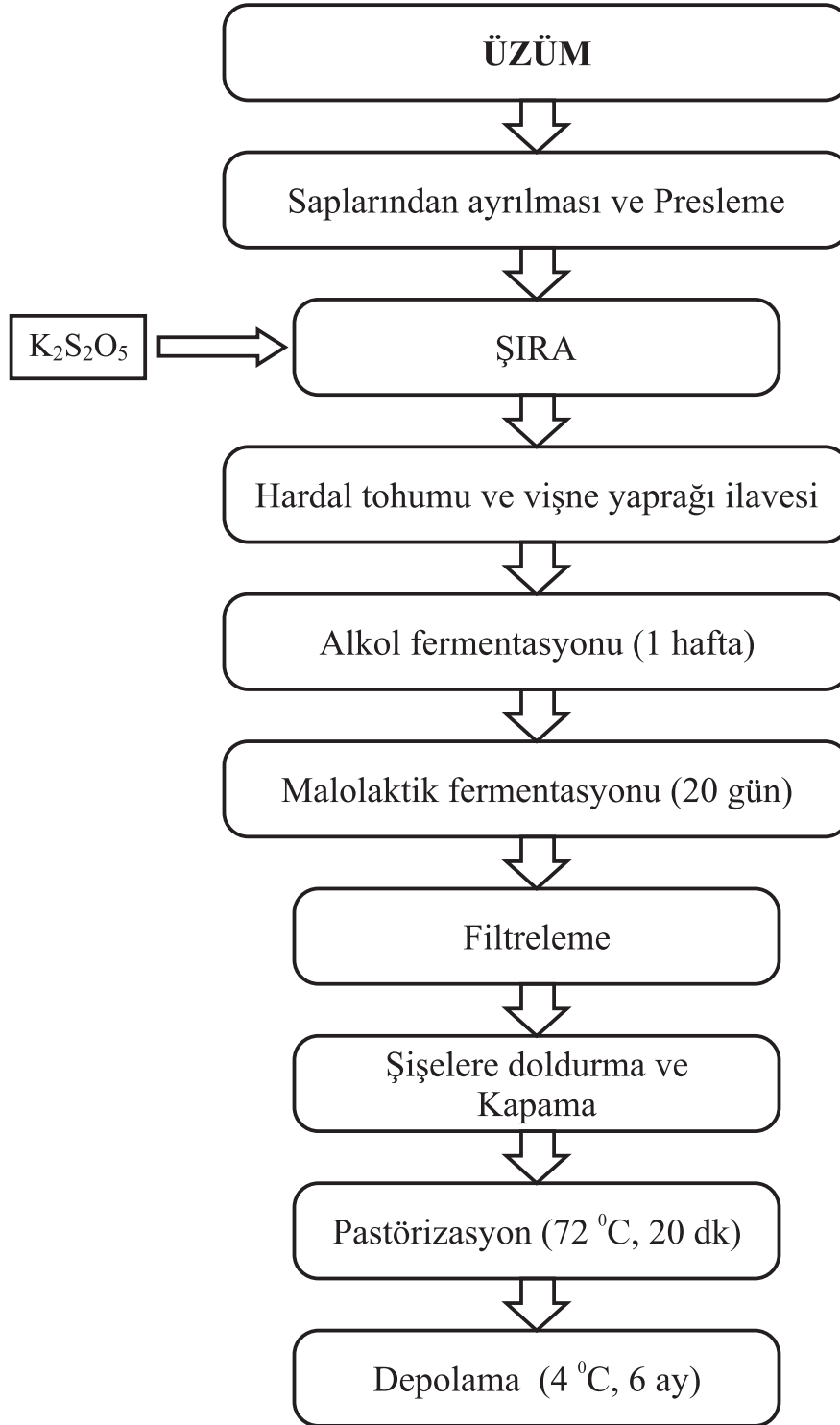
Çalışmada materyal olarak 2012 yılında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilen Kalecikkarası, Adakarası ve Papazkarası çeşitinden hasat edilen üzümler aynı gün hardaliye üretiminde kullanılmıştır. Aromalandırmada hardal tohumu ve vişne yaprağı, fermentasyonda ise (*Saccharomyces bayanus*) ve laktik asit bakterileri (*Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*, *Leuconostoc mesenteroides*) kullanılmıştır. Maya ve küf oluşumunu önlemek için potasyum metabisülfid ve benzoik asit kullanılmıştır.

2.2. Hardaliye Üretim Metodu

Tekirdağ Mürefte bölgesinden Ağustos-Kasım ayları arasında değişen olgunlaşma zamanları gözönünde bulundurularak optimum olgunluk dönemlerinde hasat edilen üzümler bekletilmeden Uludağ Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm işletmesine getirilmiş ve aynı gün hardaliye üretimine başlanmıştır. Üretim akım şemasına (Şekil 1) göre gerçekleştirilmiştir.

Fizikokimyasal analizler, Uludağ Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşiklerin kromatografik analizleri ise Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü HPLC laboratuvarında yürütülmüştür.

Hardaliye üretiminde öncelikle üzümler yıkanıp saplarından ayrılıp sonrasında danelerin patlatılması işlemine tabi tutulmuştur. Daneler patlatıldıktan sonra 50 mg/L olacak şekilde K-metabisülfid ilavesi yapılmıştır. Bu işlem sonrasında aroma vermesi için vişne yaprağı ve dövülmüş hardal tohumu ilave edilerek işlemler sonunda elde edilen mayşe 25 °C'de 1 hafta alkol fermentasyonuna bırakılmıştır. Bu aşamada hardal tohumu üzüm şirasının mayalanmasını engelleyerek alkole dönüşmemesini sağlamıştır. Fermentasyon sonunda şıra süzülerek ayrı kaplara alınıp 25 °C'de 20 gün süreyle malolaktik fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Fermentasyonun ikinci aşaması olan malolaktik fermentasyon sırasında malik asidin laktik aside dönüşmesi sağlanarak hardaliyedeki asitlik belli bir seviyeye çekilmiştir. Fermentasyon sonunda filtreleme, şişelere doldurma ve taç kapakla kapatma işlemleri yapıp 72 °C'de 20 dakika pastörize edilmiş ve örneklerin hepsi buzdolabında 4 °C'de 6 ay depolandıktan sonra analize alınmıştır.



Şekil 1. Hardaliye örneklerinin üretim akım şeması (Faikoğlu ve Gurbuz 2012).

Yapılan çalışmada, Kontrol Grubu ve Deney Grubu olmak üzere her üzüm çeşidi için iki farklı deneme gerçekleştirilmiştir. Deney grubuna kontrol grubundan farklı olarak laktik asit bakterileri (*Leuconostoc mesenteroides subsp. Dextranicum*, *Leuconostoc mesenteroides*) ilave edilerek tat ve aromada meydana gelebilecek değişiklikler panelistler tarafından puanlama testine göre değerlendirilmiştir. Laktik asit bakterileri hardaliyede tat, koku ve renk değişikliklerine neden olmalarının yanı sıra, mikrobiyal kararlılığın sağlanmasında da önemli rol oynarlar. Üretim aşamasında deney ve kontrol grupları için diğer tüm parametreler aynı tutulmuştur.

2.3 Analiz Metotları

2.3.1 Hardaliye Ekstraktlarının Hazırlanması

Hardaliye ekstraksiyonu için Mulero ve ark., (2010) tarafından bildirilen metod modifiye edilerek kullanılmıştır. Hardaliye örneklerinden 5 mL alındıktan sonra 15 mL etanol ile karanlıkta 25°C sıcaklığa ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda 15 saat süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda 15 dakika ultrasonik su banyosunda bekletilen örnekler önce 25°C sıcaklıkta 2000 devir/dak. hızda 10 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra santrifüjden elde edilen berrak kısımlar 6000 rpm devirde 20 dakika süreyle ikinci bir santrifüjleme işlemine tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen hardaliye ekstraktları fenolik madde bileşenlerinin belirlenmesi için HPLC cihazı kullanılarak analiz edilmiştir.

2.3.2 Fenol Bileşiklerinin HPLC ile Belirlenmesi

Ekstraksiyon işleminde elde edilen hardaliye ekstraktları 0,45 µL'lik membran filtreden süzülmüştür. Filtre edilen ekstraktın 100 µL'si HPLC'ye enjekte edilmiştir. Fenolik bileşiklerin HPLC ile belirlenmesinde Gürbüz ve ark., (2012) metodu bazı değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. HPLC analizinde uygulanan koşullar Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. HPLC çalışma koşulları

HPLC Çalışma Koşulları				
Model	HP	A (%)	B (%)	Süre(dk)
Kolon	C8 (ACE HPLC coloumn) 150x4,6 mm8920	8	92	0
Kolon Fırını	Coloumn C1316A	8	92	0
Dedektör	DAD	18	82	57
Mobil Faz	A: Asetonitril	24	76	78
	B: su+ %0,1 fosforik asit	26	74	92
Dedeksiyon	280, 320 ve 360 nm	28	72	92
Akış Hızı	1 mL/dk	0	20	98
Kolon Sıcaklığı	40°C	8	92	115
Enjeksiyon Miktarı	100 µL			

Fenolik bileşiklere ait piklerin tanımlanması ve konsantrasyonlarının hesaplanması bileşiklerin seçilen 3 dalga boyundan maksimum absorbans değeri verdiği dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada primer fenolik bileşiklerin her bir standart serisi teker teker run edilip kalibrasyon eğrisi oluşturularak belirlenmiştir.

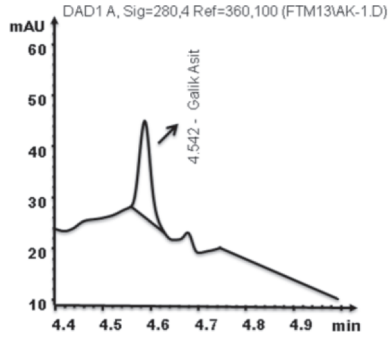
Örneğimizde araştırılan fenolik bileşikler ve dalgaboyları aşağıdaki gibidir:

280 nm: Gallik asit, ferulik asit, vanilik asit, naringin, (-) epikateşin, mirisetin

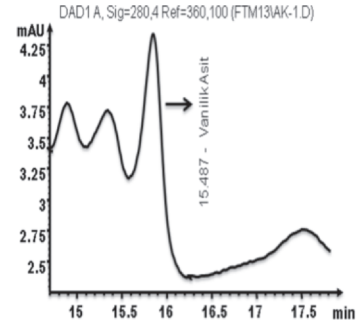
320 nm: Kafeik asit, p- kumarik asit, resveratrol, siringik asit

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

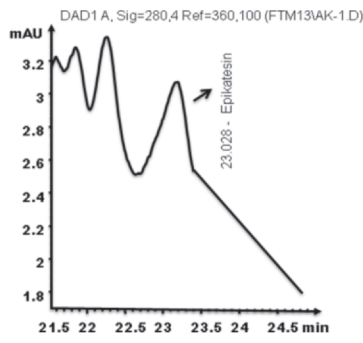
Hardaliye örneklerinden fenol bileşikleri içeriği açısından en zengin olan Adakarası cinsine ait fenol bileşiklerinin kromotogram örnekleri Şekil 2.1-2.10 arasında verilmiştir.



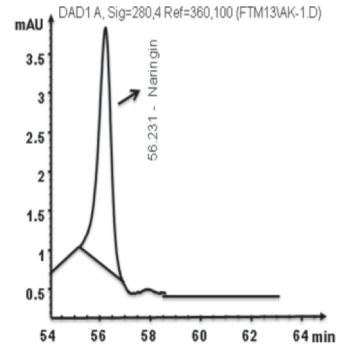
Şekil 2.1. Numuneye ait Gallik asit için HPLC kromatogramı



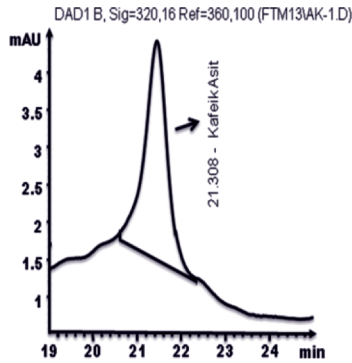
Şekil 2.2. Numuneye ait Vanilic asit için HPLC kromatogramı



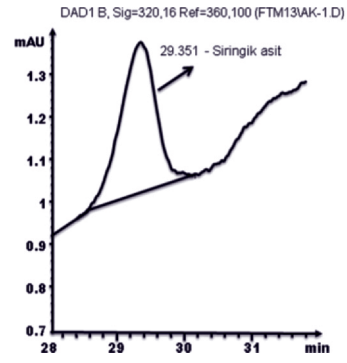
Şekil 2.3. Numuneye ait (-)Epikateşin için HPLC kromatogramı



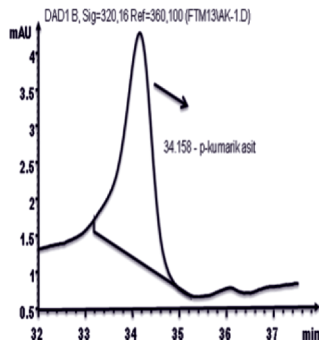
Şekil 2.4. Numuneye ait Naringin için HPLC kromatogramı



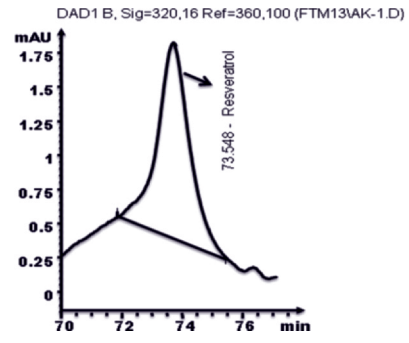
Şekil 2.5. Numuneye ait Kafeik asit için HPLC kromatogramı



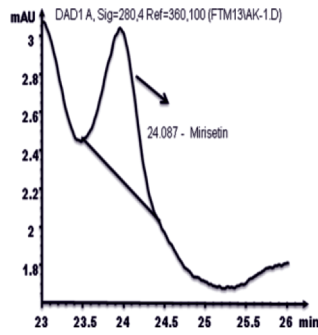
Şekil 2.6. Numuneye ait Siringik asit için HPLC kromatogramı



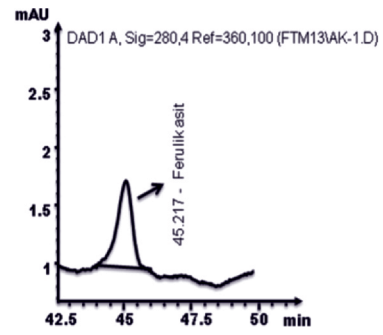
Şekil 2.7. Numuneye ait p-kumarik asit için HPLC kromatogramı



Şekil 2.8. Numuneye ait Resveratrol için HPLC kromatogramı



Şekil 2.9. Numuneye ait Mirisetin için HPLC kromatogramı



Şekil 2.10. Numuneye ait Ferulik asit için HPLC kromatogramı

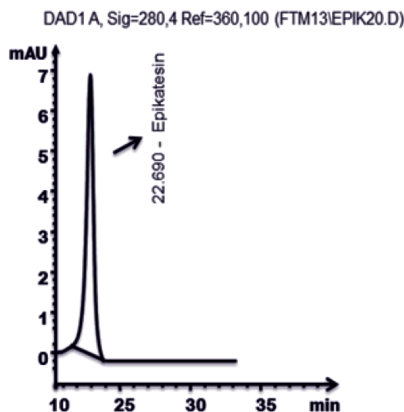
Çizelge 2. Hardaliye Örneklerine Ait Analiz Sonuçları (mg/100mL)

ÖRNEKLER						
Fenolik Bileşikler	Adakarası Kontrol	Adakarası*	Papazkarası Kontrol	Papazkarası*	Kalacikkarası Kontrol	Kalacikkarası*
Gallik asit	21.18 ± 0.024	4.00 ± 0.036	17.61 ± 0.032	2.46 ± 0.015	21.88 ± 0.023	1.14 ± 0.019
Ferulik asit	1.00 ± 0.051	TE	TE	TE	TE	TE
Vanilik asit0	0.83 ± 0.043	0.87 ± 0.029	0.62 ± 0.011	1.34 ± 0.025	3.81 ± 0.044	2.17 ± 0.056
Naringin	13.22 ± 0.038	13.41 ± 0.082	TE	0.16 ± 0.018	TE	TE
(-)-Epikateşin	21.89 ± 0.072	21.16 ± 0.063	1.46 ± 0.037	1.62 ± 0.064	20.55 ± 0.028	24.76 ± 0.078
Kafeik asit	1.39 ± 0.057	TE	0.58 ± 0.084	0.54 ± 0,0.81	1.73 ± 0.077	1.46 ± 0.053
p-kumarik asit	0.77 ± 0.033	TE	0.29 ± 0.023	0.29 ± 0.041	1.83 ± 0.076	1.20 ± 0.033
Resveratrol	0.53 ± 0.061	TE	0.13 ± 0.054	TE	0.54 ± 0.093	1.39 ± 0.079
Siringik asit	7.48 ± 0.058	TE	8.87 ± 0.067	8.56 ± 0.044	9.06 ± 0.045	4.39 ± 0.057
Mirisetin	7.34 ± 0,022	TE	6.80 ± 0.047	8.99 ± 0,091	9.50 ± 0.055	8.89 ± 0.039
Toplam	75.63	39.44	36.36	23.96	68.90	45.40

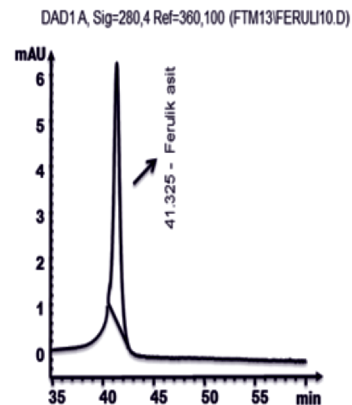
TE: Tespit edilemedi

*Laktik asit bakterileri ilave edilmiş grup

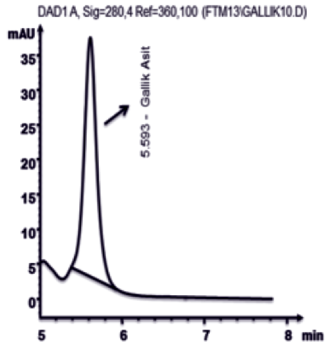
HPLC- DAD tekniği ile tespit edilen fenolik bileşiklerin konsantrasyonları toplamına bakıldığında kontrol grubu olarak üretilenlerin laktik asit bakterisi ilave edilerek üretilenlere göre daha zengin olduğu görülmektedir. Fenolik bileşiklerin standart kromatogramları Şekil 3.1 - 3.12 arasında verilmiştir.



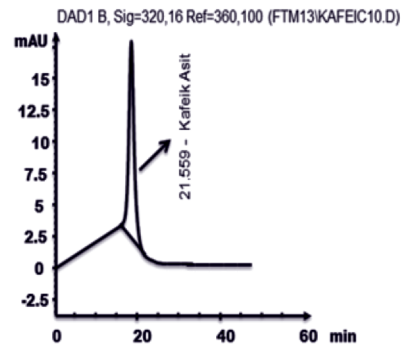
Şekil 3.1. (-)-Epikateşin standardının HPLC kromatogramı



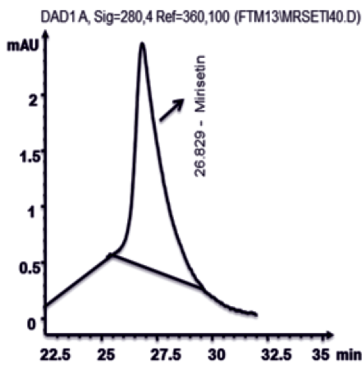
Şekil 4.1. Ferulik asit standardının HPLC kromatogramı



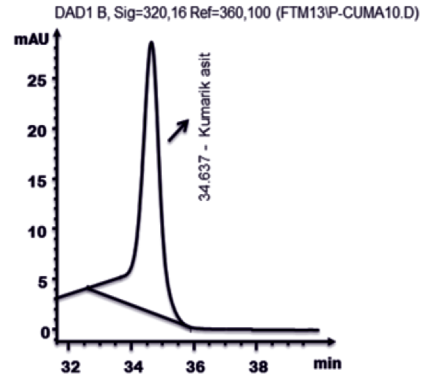
Şekil 5.1. Gallik asit standardının HPLC kromatogramı



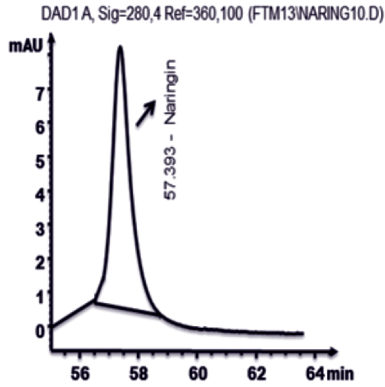
Şekil 6.1. Kafeik asit standardının HPLC kromatogramı



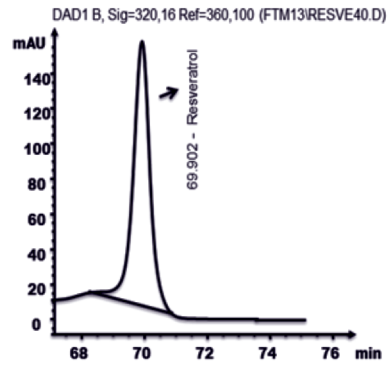
Şekil 7.1. Mirisetin standardının HPLC kromatogramı



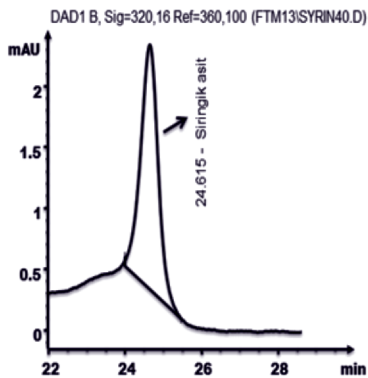
Şekil 8.1. p-kumarik asit standardının HPLC kromatogramı



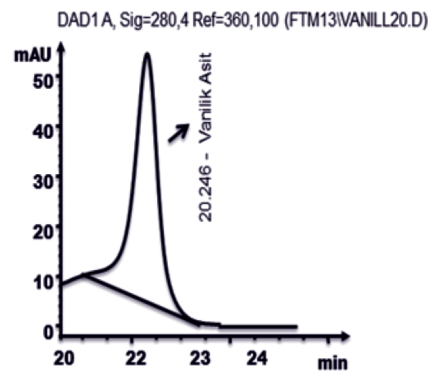
Şekil 9.1. Naringin standardının HPLC kromatogramı



Şekil 10.1. Resveratrol standardının HPLC kromatogramı



Şekil 11.1. Siringik asit standardının HPLC kromatogramı



Şekil 12.1. Vanilik asit standardının HPLC kromatogramı

4. SONUÇ

Hardaliye örnekleri içermiş oldukları fenolik bileşik miktarları bakımından elde edilen verilere göre değerlendirildiğinde; kullanılan üzüm çeşitlerine göre miktarının değiştiği belirlenmiştir. Yapmış olduğumuz araştırmada; Adakarası, Papazkarası ve Kalecikkarası üzüm cinsinden üretilen hardalilerde laktik asit bakterisi (*Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*, *Leuconostoc mesenteroides*) ilave edilen deney grupları ile laktik asit bakterisi ilave edilmeyen kontrol grupları kıyaslandığında, kontrol gruplarının toplam fenolik bileşik miktarının sırasıyla %47, %34 ve %34 oranında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak insan sağlığı ve beslenmesi üzerinde son derece önemli rolü olan üzümün toplam fenolik bileşik içeriklerinin, kullanılan üzüm çeşidine ve işleme sonrası dönüştüğü ürüne bağlı olarak büyük ölçüde değiştiği saptanmıştır. Bu ürünlerin bileşimlerinin bilinmesinin daha doğru bir tüketim alışkanlığı kazanılmasında büyük rol oynayacağı düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

Aras, Ö., 2006, Üzüm ve Üzüm Ürünlerinin Toplam Karbonhidrat, Protein, Mineral Madde ve Fenolik Bileşik İçeriklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.

Cemeroğlu, B., Acar, J., 1986. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:6, Ankara.

Faikoğlu F., Gürbüz O., 2012 Geleneksel Lezzetimiz Hardaliyenin Kontrollü Fermentasyon Tekniğiyle Üretimi, Uludağ Üniversitesi II. Bilgilendirme ve AR-GE Günleri, 13-15 Kasım 2012, Bursa.

FAO, 2012. Dünya Üzüm Üretimi, <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopD> (Accessed 19.06.2012).

Gürbüz O., Yıldız S., Faikoğlu F., 2012 Yaban Mersini (*Vaccinium spp.*) Türlerinin Fenolik Bileşiklerinin ve Antioksidan Kapasitelerinin Araştırılması, Uludağ Üniversitesi II. Bilgilendirme ve AR-GE Günleri, 13-15 Kasım 2012, Bursa.

Özden M., Vardin H., 2009. Şanlıurfa Koşullarında Yetiştirilen Bazı Şaraplık Üzüm Çeşitlerinin Kalite ve Fitokimyasal Özellikleri. HR. Ü.Z.F. Dergisi, 13(2): 21-27.

Shahidi, F., Naczk, M., 1995. Food Phenolics, Chemistry, Effects, Applications. Technomic, USA.

Torres, J.L, Varela, B., Garcia, M.T., Carilla, J., Matito, C., Centelles, J.J, Cascante, M., Sort, X., Bobet, R.L, 2002. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts, antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. J. Agric. Food Chem. 50, 7548-7555