

DOĞADA OKSİDATİF STRES: ASMA, ÜZÜM VE ŞARAPTA ANTİOKSİDANLAR

Nuray SİVRİTEPE

**Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü,
Görükle Kampüsü, 16059 Bursa/TURKEY**

ÖZ: Bu makale kapsamında insan ve bitki fizyolojisi bakımından; oksidatif stresin tanımı, nedenleri, teşvik etmiş olduğu zararlanma ve hastalık şekilleri ile savunma mekanizmaları anlatılmıştır. Ayrıca asma, üzüm ve şarapta bulunan antioksidantların hem bitki hem de insan sağlığı bakımından işlevleri açıklanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Oksidatif stres, antioksidantlar, asma, üzüm, şarap.

OXIDATIVE STRESS IN NATURE: ANTIOXIDANTS IN GRAPEVINE, GRAPE AND WINE

ABSTRACT: Within the context of this review; the description, causes, stimulated injury and disease types and defense mechanisms of oxidative stress were evaluated in terms of human and plant physiology. Moreover, regarding both human and plant health, the functions of antioxidants involved in grapevine, grape and wine were explained.

Keywords: Oxidative stress, antioxidants, grapevine, grape, wine.

GİRİŞ

Yaşamın önemli çelişkilerinden biri de oksijen molekülüdür. Aerobik yaşamı temin eden oksijen, hem enerji metabolizması yani solunum için mutlak gerekli element olarak bilinmekte; hem de bitkisel ve hayvansal organizmalarda birçok hastalık ve dejeneratif oluşumun sebebi olarak görülmektedir. Paslanan araba, soyulduğunda kararan elma, doğada oksidatif zararlanmanın en sık rastlanan örnekleridir. Oysa bitki ya da insan metabolizmasındaki zararlanma böylesine görülür değildir. Bilim dünyasının bu konuyla ilgilenmesindeki gecikme, belki de bu nedenledir. Bitki ya da insanlarda metabolik bozukluklara neden olan pek çok stres faktörü ve bu faktörlere karşı metabolizmaların savunma fonksiyonları çok önceleri araştırılarak aydınlatıldığı halde, oksidatif stresle ilgili çalışmalar geçtiğimiz bin yılın

sonlarına denk gelmektedir. Bununla birlikte gerek bilim dünyasında, gerekse günlük yaşamımızda son derece popüler konular arasında yer almaktadır.

Bu makale kapsamında literatüre dayalı olarak; hem insan hem de bitki fizyolojisi bakımından oksidatif stresin tanımı, nedenleri, teşvik etmiş olduğu zararlanma ve hastalık şekilleri ile savunma mekanizmaları üzerinde durulmuş; asma, üzüm ve şarapta bulunan antioksidantların gerek bitki, gerekse insan sağlığı bakımından önemi anlatılmıştır. Bitki fizyolojisi üzerinde yoğunlaşmış bir araştırmacı olarak bu konuyu kaleme almak; oksidatif stres ve savunma mekanizmalarının insan ve bitki fizyolojisinde birbirine son derece benzer reaksiyonlar sergilediğini göstermenin yanısıra, asma fizyolojisine yönelik bilgileri bu boyutuyla zenginleştirmek ve üzümün insan sağlığı açısından önemini bir kez de bu yönüyle vurgulamak şansını vermiştir.

BİTKİLERDE OKSİDATİF STRES VE OKSİDATİF ZARARLANMA

Bitkinin tamamında ya da farklı organlarında olgunlaşmayla birlikte hız kazanan **yaşlanma**; zararlı ve hastalık etmenlerinden kaynaklanan **biyotik stresler** [düşük (üşüme ve donma) ya da yüksek sıcaklık; su (noksanlığı ya da fazlalığı); UV ya da iyonize radyasyon; tuz, iyonlar, gazlar, herbisit ve insektisitler gibi kimyasal; rüzgar, basınç, ses, manyetik ya da elektrik gibi fiziksel etmenlerden kaynaklanan] ve **abiyotik stresler** organizmada indirgenmiş oksijen formlarının birikimini teşvik etmektedir (McKersie ve Leshem, 1994; Edreva, 1998).

Stres terminolojisinde indirgenmiş oksijen formları “**serbest (çiftleşmemiş) elektronlar**” ya da “**serbest kökler**” olarak tanımlanmaktadır. Bitkilerde oluşan serbest kökler temel olarak; superoksit (O_2^-), hidroksil (OH), perhidroksil (HO_2), peroksi (ROO), alkoksi (RO), fenoksi (C_6H_4O) kökleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen (1O_2) formlarından ibarettir (McKersie ve Leshem, 1994; Edreva, 1998). Bu formların tümü, **aktif oksijen (AO)** olarak isimlendirilmektedir (Edreva, 1998).

Aktif oksijen; H_2O 'nun oluşumu ile sonlanan bir seri elektron transferi esnasında, normal dioksijenden (O_2) bir elektronun indirgenmesi ile meydana gelmektedir. Bu olay enzimler tarafından [NADP(H) oksidaz, ksantin oksidaz, lipoksigenaz, peroksidaz gibi] katalize edilebildiği gibi; enzimlerin rolü olmaksızın, kloroplastlarda ışık enerjisi ile kendiliğinden de meydana getirilebilmektedir (McKersie ve Leshem, 1994).

Stres koşullarının belirmesinden çok kısa bir süre sonra, hücrede AO birikimi meydana gelir. AO'ın belirli bir düzeye kadar birikimi, hücrede **savunma** ya da **sinyal** fonksiyonu olarak kabul edilmekte olup gereklidir.

Savunma fonksiyonu, AO'ın antimikrobiyal etkilerinden kaynaklanmakta; örneğin, bitkide polifenol polimerizasyonu yolu ile hücre duvarlarının kuvvetlendirilmesi işlemi, bunun en önemli kanıtı olarak görülmektedir (McKersie ve Leshem, 1994; Edreva, 1998). Nitekim, Reuveni (1998) Cabernet Sauvignon üzüm çeşidinde yaşlı yaprakların genç yapraklara oranla *Plasmopara viticola*'ya daha dayanıklı olmasının, AO üretimi ile ilgili olduğunu tespit etmiştir.

Sinyal fonksiyonu ise bazı genlerin kopyalanması için hücrede belirli düzeyde AO birikiminin gerekli olmasıyla ilgilidir. Bu genler, özellikle stres koşullarında ortaya çıkan ve bitkilerin bu koşullara dayanım kazanmasına yardımcı olan, sekonder metabolitlerin (fitoaleksinler, patojenlerle ilgili proteinler vb.) sentezlenmesi için gereklidir (McKersie ve Leshem, 1994; Edreva, 1998).

Bununla birlikte AO iki yönlü etkiye sahiptir. Hassas bitkilerde ve yüksek seviyelerde birikimi toksik olup, "**oksidatif stres**" meydana getirmektedir (McKersie ve Leshem, 1994). Oksidatif stresin bitkilerde teşvik etmiş olduğu **oksidatif zararlanmanın** derecesi, AO'ın birikim seviyesi ve kalış süresine bağlı olarak değişmektedir. İlk zararlanma hücre düzeyinde lipid (lipidlerin peroksidasyonu), protein (proteinlerin inaktivasyonu) ve nükleik asitlerde (DNA'da mutasyonlar) meydana gelmekte; sitoplazmada protein agregasyonu ve hücre zarlarının parçalanmasını takiben; ozmotik duyarlılığın yitilmesi, solma ve nekrozlarla son bulmaktadır (McKersie ve Leshem, 1994; Edreva, 1998). Ostrovsкая ve ark., (1990) kireç kapsamı yüksek (%30-35 CaCO₃), alkali (pH: 8) topraklarda yetiştirilen 5 BB, 41 B, 101-14 ve 140 Ru anaçlarının kloroz gözlenen yaprakları ile sağlıklı yeşil yapraklarını ayrı ayrı analiz etmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, kirecin teşvik ettiği klorozun sadece klorofil biyosentezinin azalmasından değil; dokularda meydana gelen demir noksanlığından, özellikle de fotosentez sisteminde tahrip edici değişimlere neden olan superoksit ve diğer AO formlarının yüksek oranlarda birikmesinden kaynaklandığını göstermiştir.

BİTKİLERDE OKSİDATİF STRESE DAYANIM VE ANTİOKSİDANTLARIN ROLÜ

Görüldüğü gibi savunma ya da sinyal fonksiyonlarından yararlanmak için AO üretmek zorunda olan bitki, oksidatif stresten sakınmak için de AO birikimini engellemek durumundadır. Böyle bir ikilemde bitki; AO üretimini engellemek yerine, AO'ın neden olduğu potansiyel reaksiyonları kontrol ve idare etme yoluna gider.

Bunun temini için bitkiler, AO birikimiyle eş zamanlı olarak ortaya çıkan ve AO'ı temizleyen kompleks sistemleri kullanmaktadır. Oksidatif strese karşı **savunma mekanizması** olarak da adlandırılan bu sistemler sayesinde bitki, AO üretimi ve temizlenmesi arasında bir denge oluşturmaktadır. Birçok stres koşulu altında, aktif büyüme ve metabolik faaliyetlerin temin edilebilmesi bakımından, bu dengenin kurulması zorunludur. Aksi takdirde AO temizleyici sistemler yetersiz kalacağından, AO birikimi devam edecek; bu birikimin boyutlarına bağlı olarak ortaya çıkacak olan oksidatif zararlanma, bitkiyi ölüme kadar götürecektir (McKersie ve Leshem, 1994; Edreva, 1998).

AO'ı temizleyen sistemlerde temel olarak; **koruyucu enzimler** ve **antioksidantlar** olmak üzere iki metabolit grubu görev yapmaktadır. Bitkilerde bulunan temel koruyucu enzimler arasında peroksidaz, katalaz, superoksitdismutaz vb. bulunmaktadır (Edreva, 1998). Ancak burada antioksidantlar üzerinde durulacağından, koruyucu enzimlerin fonksiyonlarına dair ayrıntılı bilgi verilmeyecektir.

Bitkilerde yer alan ve antioksidant olarak kabul edilen metabolitler arasında; askorbik asit, tioller (glutation, sistein), karotenoidler, tokoferol ve fenoller (fenolik asitler, antosiyaninler, flavonoidler, tanenler vb.) yer almaktadır (McKersie ve Leshem, 1994; Edreva, 1998). Bu metabolitlerin genel olarak bitkilerde üstlenmiş oldukları antioksidant roller ve özellikle asmalarda yapılan çalışmalar, aşağıda ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Askorbik Asit (Vitamin C)

Bitki büyümesi, metabolizma ve farklılaşma olaylarındaki rolüne ilaveten askorbik asit, birçok AO formunun indirgeyicisi olarak görev yapmakta, dolayısıyla oksidatif stresin neden olabileceği zararları da engellemektedir. Direkt olarak AO'ı (özellikle peroksil ve singlet oksijen formlarını) temizlediği gibi, membranlara bağlı durumda olan α -tokoferol (Vitamin E) gibi diğer bazı antioksidantların oluşumunu teşvik ederek dolaylı etkide de bulunmaktadır. Askorbik asit bitkilerde en fazla yeşil yapraklarda vardır. Askorbat formunda olup, yeşil yaprakların mezofil hücrelerindeki kloroplastlarda, vakuol ve hücreler arası boşluklarda yer alır (McKersie ve Leshem, 1994).

Üzüm tanesinin yanı sıra; asmanın yaprak, sürgün ve kök gibi diğer organlarında da askorbik asit bulunmaktadır (Beridze ve Gvamichava, 1978; Tarasashvili ve ark., 1982; Bakhmulaeva ve Alieva, 1999). Üzüm tanesinde askorbik asit kapsamı çeşit, iklim, toprak ve muhafaza koşullarına (Mievska, 1985; Gamova ve ark., 1991; Bakhmulaeva ve Magomedova, 1996; Bakhmulaeva ve Alieva, 1999);

köklerinde ise vegetasyon periyodu, anaç kullanımı ve günlük ritme bağlı olarak değişmektedir (Beridze ve Gvamichava, 1978).

Asmanın farklı organlarında yer alarak büyüme ve gelişme olaylarına iştirak eden askorbik asit, diğer bitkilerde olduğu gibi asmada da antioksidant rol oynamaktadır. Singh ve ark., (1992), Perlette ve Beauty Seedless üzüm çeşitlerinde etilen uygulaması ile teşvik edilen olgunlaşmanın dolayısıyla yaşlanmanın, tanenin vitamin C kapsamında önemli bir artışa yol açtığını saptamışlardır. Tarasashvili ve ark., (1982) ise dona dayanıklı asma çeşitlerinin, özellikle içsel dinlenme döneminde, floem dokularında daha fazla Vitamin C içerdiğini tespit etmişlerdir.

Glutasyon (GSH)

Bitkilerin birçok doku, hücre ve hücreler arası boşluklarında tespit edilmiştir. Seviyesi dokunun yaşı ya da çevre koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Dokuların yaşlanması ile seviyesinin azaldığı, ışıkta yükseldiği, karanlıkta ise azaldığı bilinmektedir. GSH konsantrasyonu hücre düzeyinde en fazla kloroplastlarda bulunmaktadır. GSH birçok yönden antioksidant olarak işlev görür. AO ile kimyasal reaksiyona girerek indirgenmesini sağladığı gibi, direkt olarak AO'ı temizleyebilir. GSH özellikle lipid peroksidasyonu ile oluşan peroksiti uzaklaştırarak, hücre zararının yapısını stabilize etmektedir (McKersie ve Leshem, 1994).

Gvamichava ve ark., (1977)'nin Rkatsiteli üzüm çeşidinin X ışını uygulanmış 1 yaşlı çeliklerinde elde ettiği bulgular, asmalarda glutasyonun antioksidant rolünü göstermek bakımından önemlidir. Araştırmacılar, bitkiler X-ışınlarına maruz kaldığı sürece, radyasyon dozuna bağlı olarak yapraklarda oksidasyon meydana geldiğini; aynı süreç içerisinde yapraklarda oksijen ile reaksiyona girmiş glutasyon miktarının arttığını bildirmişlerdir.

Tokoferol (Vitamin E)

Vitamin E olarak da tanımlanan α -tokoferol, en aktif tokoferol formudur. Tüm yüksek bitkilerde hem fotosentetik, hem de fotosentetik olmayan dokularda bulunmaktadır. Özellikle hücre zarlarına lokalize olmuştur. Vitamin E'nin antioksidant fonksiyonu; membranın parçalanması, erimesi ve büzülmesine neden olan serbest yağ asiti ile reaksiyona girerek, hücre zarında stabilizasyonu temin etmesidir (McKersie ve Leshem, 1994). Özellikle don zararının önlenmesinde, bu fonksiyonu çok önemlidir. Ayrıca bitkilerde fotooksidasyona karşı koruyucu olduğu da bilinmektedir (Levitt, 1980).

Karotenoidler

Hem fotosentetik hem de fotosentetik olmayan dokuların plastidlerine lokalize olmuşlardır. Kloroplastlarda ışığı absorblayan pigmentler olarak görev yapan karotenoidlerin belki de en önemli rolü, AO'nin pekçok formunu etkisiz hale getirme kabiliyetleridir. Karotenoidler ışık enerjisinin absorblanmasından sonra ortaya çıkar. Antioksidant işlevleri de bu safhada önem kazanır. Karotenoidlerin, özellikle de β -karoten'in, antioksidant rolü fotosistemlerin korunmasına yönelik olup, stres koşulları altında fotosentezde devamlılığın temin edilmesidir. Bu işlevi aşağıda belirtilen dört farklı yoldan biri ile gerçekleştirebilir (McKersie ve Leshem, 1994; Edreva, 1998):

- Lipit peroksidasyon ürünleri ile reaksiyona girerek halka reaksiyonlarını sınırlandırır ve peroksi formundaki AO'nin temizlenmesi için Vitamin E'nin birikimini teşvik ederler.
- Özellikle ışık şiddeti saturasyon seviyesinin üstüne çıktığında, biriken enerji klorofilden karotenoidlere aktarılır. Karotenoidler bu enerjiyi sıcaklık olarak dağıtarak, öncelikle singlet oksijen formunda AO oluşumunu, dolayısıyla oksidatif stresin meydana gelmesini engeller.
- Bu koşullar altında singlet oksijen oluşumu; karotenoidlerin, uyarılmış ya da üçlü haldeki klorofil molekülleri ile reaksiyona girmesi yoluyla da engellenebilir.
- Ayrıca karotenoidlere aktarılan enerjinin sıcaklık şeklinde dağıtılması için, mevcut enerji buradan ksantofil döngüsüne aktarılır. Ksantofil döngüsü içinde de-epoksidaz enzimi yardımı ile violaksantin zeaksantine dönüşümü temin edilir. Yüksek ışık şiddeti altında bu şekilde akümüle olan zeaksantin, fotosentez kapasitesinin artırılmasını temin eder.

Düring (1999), düşük ışık koşullarına ($400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) adapte edilen Orion üzüm çeşidinin aniden yüksek ışığa ($800 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) maruz bırakılması ile, yapraklarda meydana gelen karotenoid değişimlerini incelemiştir. Bitkinin ışığa maruz kalmasıyla birlikte 3 dakika gibi kısa bir süre içinde yapraklarda zeaksantin miktarının (violaksantin harcanmasına bağlı olarak) önemli derecede arttığı ve 20 dakika sonra da sabit bir durum aldığı saptanmıştır. Bunun tersine yüksek ışığa adapte olmuş yapraklar, karanlığa maruz bırakıldığında zeaksantin kapsamı azalırken, violaksantin kapsamı artarak ancak 2,5 saatte sabit hal almıştır. Gf.Ga-47-42 üzüm çeşidi ile arazi koşullarında yapılan denemelerde de, sabah güneş ışığının artması ya da öğleden sonra azalmasına paralel olarak, ksantofil döngüsünde benzer değişimin meydana geldiği saptanmıştır.

Gubin ve Gubina, (1994) da Burmunk ve Moskovskii Ustoichivii melez asma çeşitlerinin yapraklarında, *Vitis vinifera*'ya oranla, daha fazla miktarda karotenoid ve klorofil pigmenti bulunduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, melez

üzüm çeşitlerinin yüksek pigment içeriğine sahip olmasının, daha fazla ışık absorblanmasına, dolayısıyla fotosentetik aktivitenin artmasına yol açtığını belirlemişlerdir.

Omca üzerinde karotenoid kapsamı yüksek olan diğer bir organ da üzüm tanesidir. Üzüm tanesinden ayrıştırılan ve tanımlanan karotenoid pigmentleri; β -karoten, lutein, 5,6-epoksi lutein, luteoksantin, violaksantin, flavoksantin ve neoksantindir (Razungles ve ark., 1987). Ancak üzüm tanesinde tespit edilen toplam karotenoidler içinde, miktarca en fazla olanları ve temel karotenoidler olarak kabul edilenleri lutein ve β -karotendir (Marais ve ark., 1991; Razungles ve ark., 1996). Tanedeki karotenoid konsantrasyonu çeşit, güneş ışığına maruz kalma, olgunlaşma dönemi ve ekolojiye bağlı olarak değişmektedir.

Razungles ve ark., (1987) inceledikleri 13 farklı üzüm çeşidinin olgun tanelerinde karotenoid kapsamı bakımından önemli farklılıklar bulunduğunu; Chenin, Sauvignon, Syrah ve Cabernet Sauvignon çeşitlerinin lutein; Gamay ve Chardonnay çeşitlerinin β -karoten; Carignan Noir, Riesling ve Ugni Blanc çeşitlerinin 5,6-epoksi lutein; Syrah, Carignan Noir, Sauvignon, Riesling ve Chardonnay çeşitlerinin neoksantin bakımından diğer çeşitlere oranla daha zengin olduğunu bildirmişlerdir.

Marais ve ark., (1991) β -karoten ve lutein konsantrasyonunun ılık iklime sahip yörelerde yetiştirilen üzümelerde, soğuk iklime oranla daha fazla olduğunu; ancak olgunluğun ilerlemesi ya da salkımın güneş ışığına maruz kalması ile her ikisinde de azalma meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Razungles ve ark., (1996) Muscat of Alexandria, Sauvignon ve Syrah üzüm çeşitlerinin tanelerinde olgunlaşma süresince karotenoidleri ayrıştırarak, değişimlerini incelemişlerdir. Ben düşme safhasından olgunlaşma dönemine kadar taneden ayrıştırılarak tanımlanan karotenoidlerin önemli bir kısmını lutein (%50-55) ve β -karoten (%30-35) oluşturmuştur. Diğerlerinin ise neo-, flavo- ve violaksantin olduğu tespit edilmiştir. Bu karotenoidlerin toplam konsantrasyonu ben düşme safhasında 2-3 mg/kg iken, olgunlaşma safhasında 1 mg/kg olmuştur. Diğer bir karotenoid olan 5,6-epoksi lutein, ben düşme döneminde saptanamazken, olgun tanelerde 30 μ g/kg'ın üzerinde bulunmuştur. Olgunlaşma ile birlikte violaksantin ve luteoksantin konsantrasyonunda da ikinci bir artış olmuştur.

Üzüm tanesindeki karotenoidler, C13 norisoprenoid aroma maddesine dönüştürülebildiği için özellikle şaraplık üzüm çeşitlerinde önem kazanmaktadır. Ancak ben düşmeden sonra olgunlaşma ile birlikte azalma eğiliminde olan karotenoidlerin, üzüm salkımlarının güneş ışığına maruz kalmasıyla azalışı hız

kazanmaktadır. Yapılan değişik araştırmalarda bu azalışın önüne geçerek aroma maddesi oluşumunu artırmak için, salkımların ya da omcaların gölgelemesi gerektiği tespit edilmiştir (Bureau ve ark., 1998a; Bureau ve ark., 1998b).

Fenolik bileşikler

Benzenin hidroksi türevleridir. Fenollerin antioksidant etkileri de benzen halkasında hidroksi gruplarının bulunmasından kaynaklanmaktadır. Hidroksi sinnamik asit türevleri olan kamarinler ile flavonoidleri kapsayan fenilpropanoidler, bitkilerde en yaygın olan fenolik bileşikleridir. Kamarinler, lignin ve suberin biyosentezi için gereklidir. Görülebilir ve UV ışığı absorplayan flavonoidler ise ışığa karşı koruyucu (fotoprotektan) rol oynar. Bazı fenol türevleri (tirosin ve ferulik asit) hücre duvarında proteinler ile polisakaritlerin yapısal bileşenleri olarak bulunur ve peroksidaz/hidrojen peroksit dengesini temin ederek, hücre duvarı elastikiyetini düzenlemekle sorumludur. Tüm bu özellikler, fenollerin stres faktörlerine karşı etkili olmasını sağlamaktadır (Edreva, 1998).

Bağcılık açısından üzerinde en fazla çalışma yapılmış olan metabolitler, fenolik bileşiklerdir. Bu maddelerin asmanın kök, dal, sürgün, yaprak, salkım ve tanesi gibi hemen tüm organlarında farklı formlarda ve farklı seviyelerde buldukları belirlenmiştir (Flanzy ve ark., 1972; Fernandez de Simon ve ark., 1990).

Üzüm tanesi incelendiğinde, kırmızı ve beyaz renkli üzüm çeşitlerinde genel olarak toplam fenol içeriğinin %38'i tohumlar, %36'sı kabuk, %20'si tane sapı ve %6'sı da meyve etinde bulunmaktadır (Flanzy ve ark., 1972). Meyve kabuğunda tanımlanan fenolik bileşikler; tanen, gallik asit, kafeik asit, benzoik asit, sinnamik asit, benzoik aldehitler, kateşin, epikateşin, delfidin, siyanidin ve flavonoidlerdir (Nozaki ve ark., 1984; Nozaki ve Yokotsuka, 1985; Fernandez de Simon ve ark., 1990; Fernandez de Simon ve ark., 1993). Şırada tanımlananlar; gallik asit, benzoik asit, sinnamik asit, vanillik asit, sirinjik asit, benzoik aldehitler, kateşin, epikateşin, kuersetin ve mirisetindir (Fernandez de Simon ve ark., 1990, Fernandez de Simon ve ark., 1993). Tohumda tanımlananlar ise tanen, gallik asit, kateşin, epikateşin, epikateşingallat, kafeik asit, delfidin, siyanidin, prosiyanidin türevleri ve flavonoidlerdir (Flanzy ve ark., 1972; Nozaki ve ark., 1984; Nozaki ve Yokotsuka, 1985; Oszmianski ve Sapis, 1989).

Bu formların meyvedeki miktarı ya da tanenin kısımlarındaki dağılımı çeşide bağlı olarak değişiklik göstermektedir. 43 üzüm çeşidinde, meyvedeki toplam fenol miktarının 2154 mg/kg tane (Merlot) ile 7674 mg/kg tane (Alicante Bouchet) arasında değiştiği ve toplam fenollerin %25 ile %64'ünü antosiyaninlerin oluşturduğu belirlenmiştir (Boubals ve Mur, 1984). Yi ve ark., (1997) ise Red Malaga, Red Globe

ve Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşitlerinde gallik asit cinsinden toplam fenol konsantrasyonunun 440 ila 495 mg/kg, Petite Sirah ve Calzin üzüm çeşitlerinde ise 2800 ila 3200 mg/kg arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Nozaki ve Yokotsuka (1985) 32 üzüm çeşidinin meyve kabuğu ve tohumlarındaki toplam fenolik bileşiklerin büyük oranda tanenler, epikateşin ve kateşinden oluştuğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, diğer fenolik bileşiklerden delfidin ve siyanidin değişiminin ise çeşitler arasında karakteristik bir ayrıma yol açtığını; bu ayrımın tohumdan çok meyve kabuğunda belirgin olduğunu bildirmişlerdir. Flanzly ve ark. (1972) da 13 farklı üzüm çeşidinde, tanen, gallik asit ve kafeik asit miktarının tohuma oranla meyve kabuğunda daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar tanen içeriği bakımından çeşitler arasında da önemli farklılıklar bulunduğunu; Cinsaut, Grenache Noir ve Aramon üzüm çeşitlerinin düşük, Seibel ve Alicante Bouschet üzüm çeşitlerinin yüksek tanen içeriğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Arien ve Cencibel üzüm çeşitlerinde ise gallik asit formlarının, meyve kabuğu ve şıraya oranla, tohumda daha fazla olduğu belirlenmiştir (Fernandez de Simon ve ark., 1990).

Asma yapraklarında fenolik maddelerin dağılımı incelendiğinde; renkli ve yeşil yapraklara sahip asma çeşitlerinde aynı flavonoidler, fenolik asitler ve kondanse tanenler tespit edilmiştir. Ancak renkli yaprakların flavonoid ve fenolik asit içeriği yeşil yapraklara oranla daha düşük bulunmuştur. Renkli yapraklarda temel antosiyaninin peonidin-3-glukozid olduğu ve üzümlerin olgunlaşma zamanında maksimuma ulaştığı belirlenmiştir (Boucheny ve Brum-Bousquet, 1990). Ugni Blanc üzüm çeşidinin de boğum aralarında büyüme sezonunda fenolik bileşiklerin değişimi incelenmiş; kondanse olmuş proantosiyanidinleri içeren tanenlerin, en önemli fenolik bileşik olduğu belirlenmiştir (Darne, 1982).

Asmanın farklı organlarında ve dokularında fenolik bileşiklerin miktarı, tür ya da çeşit özelliği dışında, içsel ve dışsal pek çok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir. Ben düşmeden itibaren olgunlaşmaya kadar geçen dönemde şıraya bulunan fenolik bileşiklerin miktarı azalırken, meyve kabuğunda artış olmaktadır (Fernandez de Simon ve ark., 1993). Yapraklarda da olgunlaşma ile birlikte toplam fenollerin miktarı artmakta; aynı omca üzerinde yaşlı yapraklar genç yapraklara oranla daha fazla fenolik bileşik kapsamaktadır (Medeghini ve ark., 1992). Şeker, absizik asit, etilen, yüksek sıcaklık ve ışık uygulamaları meyve ve yapraklarda toplam fenol ve antosiyanin miktarının artmasına (Prier ve Mullins, 1976; Roubelakis-Anglakis ve Kliewer, 1986), salkımların gölgelenmesi ise bu bileşiklerin azalmasına yol açmaktadır (Morrison, 1988). Salkımlar omcadan ayrıldıktan sonra da meyvenin toplam fenol içeriği değişebilmektedir. Örneğin, *Vitis rotundifolia*'nın yüksek muhafaza sıcaklığına (20°C) maruz kalan meyvelerinde toplam fenol miktarının arttığı tespit edilmiştir (Takeda ve ark., 1983).

Üzüm tohumunda ise, salkımın sürgün üzerinde bulunduğu pozisyona göre fenolik bileşik miktarı değişmekte, özellikle bilezik alınmış bölgenin üstünde kalan salkımlar bu açıdan önemli farklılık arz etmektedir (Darne ve Bouard, 1986). Tanede bulunan tohum sayısı ve tohumun yumurtalık içindeki pozisyonu ise üzüm tanesinin fenolik bileşik miktarını etkilemektedir (Bouard ve ark., 1980).

Bunların dışında omcanın yetiştiği toprak koşullarına ya da kültürel uygulamalara bağlı olarak da fenolik bileşiklerin kapsamı değişebilmektedir. Sodyum kapsamı ve pH'sı yüksek olan topraklar tohum, meyve kabuğu ve sapında fenolik madde miktarının azalmasına (Quintana ve Gomez, 1989); sulama uygulamaları ise yaprak ve sürgünlerde toplam fenol miktarının artmasına yol açmaktadır (Madero ve ark., 1978). Ayrıca terbiye şekli, anaç ve herbisit uygulamaları da omca ve üzümde fenolik maddelerin kapsamını etkilemektedir (Bezhanishvili ve ark., 1982; Smart ve Smith, 1988).

Asmalarda fenolik bileşiklerin birikimine neden olan önemli faktörlerden biri de biyotik stresler yani patojen ya da insektisit saldırıdır. Bu birikim, pek çok hastalık ve zararlıya karşı dayanım kazanılmasında etkili olmaktadır. Bağ mildiyözü (*Plasmopara viticola*) ve *Vitis* türleri arasında konukçu-parazit ilişkisini incelemek amacıyla mildiyöye hassas Grenache (*V. vinifera*), orta derecede hassas Rupestris du Lot (*V. rupestris*) ve dayanıklı Carlos (*V. rotundifolia*) asma çeşitleri seçilmiştir. Hastalık etmeninin bulaştırılmasından sonra yapılan gözlem ve analizlerde; spor gelişimi olmaksızın sadece nekrotik lekelerin meydana geldiği Carlos çeşidinin stoma hücreleri ve bunların çevresindeki komşu hücrelerde, 2 gün gibi kısa bir sürede flavonoidlerin oluştuğu tespit edilmiştir. Sınırlı spor oluşumuyla birlikte nekrozların daha yaygın olduğu Rupestris du Lot anacında, nekrotik alanların çevresinde, bulaştırmadan 5 gün sonra resveratrol ve peroksidaz aktivitesi, 8 gün sonra flavonoid, 15 gün sonra da lignin oluşumu belirlenmiştir. Görülebilir nekrozlara rastlanmayan, fakat çok ağır bir spor gelişimi olduğu tespit edilen Grenache çeşidinde ise, bulaştırmadan ancak 8 gün sonra çok az miktarda flavonoid oluşumu meydana gelmiştir. Araştırmacılar *Vitis rotundifolia*'nın mildiyöye dayanıklı olmasında, çok hızlı flavonoid oluşturma kabiliyetinin önemli rol oynadığını; *Vitis rupestris*'te ise resveratrol, flavonoidler ve lignin oluşumunun bu etmenin gelişimini sınırlayıcı görev yaptığını bildirmişlerdir (Dai ve ark., 1995a, Dai ve ark., 1995b). Dai ve ark., (1995c)'nin *in vitro* koşullarda tekrarladığı çalışmalar, mildiyöye dayanıklı tür ya da çeşitlerin yüzeysel hücre duvarlarında hastalık etmeni ile bulaşmadan hemen sonra flavonoid formundaki gallokateşin türevlerinin ortaya çıktığını, ilerleyen safhalarda ise bu hücrelerin mantarlaştığını ortaya koymuştur.

Blaich ve ark., (1990)'nın külleme (*Uncinula necator*) ve gri küf (*Botrytis cinerea*) etmenleri ile *Vitis vinifera* omcaları arasında konukçu-parazit ilişkisini hücre

bazında incelemek amacıyla yapmış oldukları araştırmada da benzer sonuçlar elde edilmiş; bitkilerin, enfekte olan hücreler ile bunlara komşu olan hücrelerin duvarlarında fenolik bileşikler ve silis biriktirerek kimyasal savunma mekanizması geliştirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, gri küfe hassas olan Gamay üzüm çeşidinin, dayanıklı olan Gamaret çeşidine oranla, meyve kabuğunda daha az fenolik bileşik içerdiği ve kabuğunun da ince olduğu belirlenmiştir (Pezet ve Pont, 1992). Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidinin tanelerinden alkol ya da eter ile ekstrakte edilen lipit ve fenolik bileşiklerin uygulanması ise gri küf etmeninin gelişimini engellemiştir (Padgett ve Morrison, 1990).

Fenolik bileşikler biyotik streslere dayanımda bitkinin kimyasal savunma sistemi olarak görüldükleri gibi, pratikte sağlıklı bitkilerin seleksiyon kriteri olarak da değerlendirilmektedir. Virusların neden olduğu pek çok hastalık (leafroll, fanleaf, fleck, vein mosaic, yellow mosaic) durumunda enfekte olan asmaların yaprak ve sürgünlerinde, sağlıklı omcalara oranla, çok daha yüksek miktarlarda fenolik bileşik bulunduğu tespit edilmiştir (Buciumeanu ve ark., 1995). Aynı tepki bakteriyel hastalıklar (örneğin *Agrobacterium tumefaciens*) sözkonusu olduğunda da elde edilmiştir (Spencer ve ark., 1990). Bu nedenle virus, bakteri ya da filoksera ile bulaşmış omcaların sağlıklı olanlardan ayrılabilmesi için, fenollerin kimyasal sinyal olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (Mirzaev ve ark., 1971; Spencer ve ark., 1990; Buciumeanu ve ark., 1995).

Bunlara ilave olarak fenolik bileşikler, oksinlerin (IAA) oksidasyonunu engellediklerinden, oksin koruyucular olarak da tanımlanmakta; bu işlevleri nedeni ile özellikle yeni kök oluşumunda etkili olmaktadır (Bartolini ve ark., 1991). Strakhov ve ark., (1984) ise fenolik bileşiklerin büyüme ve meyve tutumu bakımından asmalarda düzenleyici role sahip olduğunu bildirmektedirler. Araştırmacılar vegetasyon döneminde 4 kez, %0,003 konsantrasyonda ve sprey şeklinde uygulanan fenolik bileşiklerin; klorofil a ve b miktarı ile çiçek sayısında artışa, olgunlaşmanın hızlanmasına neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Asmalarda fenolik bileşiklerle ilgili olarak yapılan diğer araştırmalar ise bitkinin farklı organlarından ayrıştırılan fenolik bileşiklerin antioksidant kapasitesini belirlemeye, dolayısıyla ticari kullanımına olanak sağlamaya yöneliktir. Genel olarak tohumdan elde edilen fenolik bileşiklerin antioksidant kapasitesi, meyve kabuğundan elde edilenlere oranla daha yüksektir. Tohumlardaki temel antioksidant madde ise flavonoidlerden oluşmakta, kateşin ve epikateşin içeriği de antioksidant aktiviteyi artırıcı rol oynamaktadır (Nozaki ve ark., 1984). Tohumdan izole edilen flavonoller, superoksit ve hidroksil (Ricardo da Silva ve ark., 1991); proantosiyanidinler ise süperoksit formundaki AO'ı temizleme kabiliyetindedir (Bourzeix, 1991). Üzüm tohumundan elde edilen bu bileşiklerin antioksidant kapasitesi vitamin C, E ve

glutatyona oranla daha yüksektir (Bourzeix, 1991). Üzüm tohumundan elde edilen ve ticari olarak satılan proantosiyanidin ekstraktının antioksidant işlevini, vitamin C ve E ile karşılaştırmalı olarak, *in vitro* koşullarda incelemiş olan Bagchi ve ark., (1997) da benzer sonuçlar elde etmiştir. Araştırmacılar, üzüm tohumu ekstraktının superoksit ve hidroksil formundaki AO'ı temizlemek bakımından, her iki vitamene göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Tamura ve Yamagami (1994) ise meyve kabuğundan izole ettikleri antosiyaninler ile ticari antioksidantları, üzümde elde edilen ürünlerde oksidasyonu önlemek amacıyla karşılaştırmışlar; antosiyaninlerin ticari antioksidantlara göre daha etkili olduğunu ve üretimde kullanılabileceklerini bulmuşlardır.

Omcanın farklı organlarında bulunan fenolik bileşikler, üzümde üretilen meyve suyu ve şaraba da geçmektedir. Örneğin Concord üzüm çeşidinin ticari olarak satılan meyve suyunda, fenolik bileşiklerden flavan-3-oller ve hidroksisinnamatlar tespit edilmiştir (Frankel ve ark., 1998). Değişik ekolojilerde yetiştirilen farklı üzüm çeşitlerinden üretilmiş şaraplardan izole edilerek tanımlanan fenolojik bileşikler ise; kateşinler, antosiyaninler, lökoantosiyoninler, resveratrol, gallik asit, fenolik asit, kuersetin, rutin, mirisetin, kaempferol, isorhamnetin gibi flavonoller, flavonoidler ve prosiyanidinlerdir (Hertog ve ark., 1993; Simonetti ve ark., 1997). Dimov ve ark., (1995) 1933 yılı üretimi Cabernet Sauvignon şarabında (3500 ml'de kuru ekstrakt olarak); 20,4 mg/g gallik asit, 23,9 mg/g kateşin, 10,1 mg/g epikateşin, 4,4 mg/g sirinjik asit, 3,3 mg/g kumarik asit, 2,9 mg/g kafeik asit, 2,6 mg/g p-hidroksibenzoik asit, 1,5 mg/g vanilik asit ve 0,9 mg/g protokatekuik asit bulunduğunu bildirmektedir. Hertog ve ark., (1993) analiz edilen kırmızı şarapların kuersetin ve mirisetin düzeylerinin 4-16 mg/l arasında değiştiğini, beyaz şaraplardaki toplam flavonoid miktarının ise 1 mg/l'den fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Romani ve Vincieri (1995) şarap ya da üzümde tespit edilmiş olan tüm bu fenolik bileşiklerin fenolik asitler, flavonoidler, antosiyaninler ve tanenler olmak üzere dört alt grupta toplanabileceğini bildirmektedir. Bu sınıflandırmaya göre kırmızı şaraplarda hakim fenolik bileşikler antosiyaninler, beyaz şaraplarda ise flavonoidlerdir (Yi ve ark., 1997).

Şaraplarda fenolik bileşiklerin miktarı, başta şarabın rengi olmak üzere pek çok faktöre göre değişiklik göstermektedir. Genelde kırmızı şaraplar, pembe ya da beyaz şaraplara oranla daha fazla fenolik bileşik içermektedir (Sato ve ark., 1996). Fermentasyon esnasında üzümde bulunan fenolik bileşiklerin %50-80'i şaraba geçmektedir. Ancak kullanılan şarap yapım tekniğine bağlı olarak, örneğin mayşenin ısıtılması, tortu alma, pastörizasyon ve sıcak şişeleme fenollerin azalmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla olgun şaraplarda fenolik bileşik oranı %20-30'a kadar düşebilmektedir (Valouiko ve Ivanutina, 1976). Meyvenin hızlı preslenmesi de fenolik bileşiklerin azalmasına yol açmaktadır. Yapılan araştırmalar üzüm suyu ya da

şarap üretimi esnasında sıcak preslemenin ve meyve kabuğu ile birlikte fermentasyonun fenolik bileşikler arttırıcı rol oynadığını göstermektedir (Auw ve ark., 1996). Azhogina ve ark., (1988) makineli hasata göre elle yapılan hasadın; Huang ve ark., (1988) ise sürgün, yaprak ve yaprak sapı gibi materyallerin ilave edilmesi ile yapılan üretimin, şarapta fenolik bileşiklerin artmasına neden olduğunu bildirmektedir. Archier ve ark., (1994) şarabın olgunluğu ile fenolik bileşik kapsamı arasındaki ilişkiyi incelemişler; genel yargıya varacak belirgin bir ilişki bulunmadığını ve şarabın fenolik kompozisyonu üzerine yaşlanma etkisinin üzüm çeşitlerine bağlı olarak değişiklik gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Fenolik bileşikler, şarabın tadı ve rengi açısından da çok önemlidir. Ancak bu maddelerin antioksidant özellik taşıdığı anlaşıldıktan sonra, insan sağlığı açısından önemleri ön plana çıkmış ve konuyla ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. Bu araştırma sonuçları bir sonraki bölümde ayrıntıları ile verilmiştir.

İNSAN METABOLİZMASINDA OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDANTLARIN ROLÜ

İnsan metabolizmasında da vücudun oksijen kullanımındaki normal işlemler sırasında bazı etmenlerin teşviki ile; superoksit (O_2^-), hidroksil (OH), peroksil (ROO), alkoksil (RO), semiquinon (Q \cdot), nitrik oksit (NO \cdot) kökleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit (ONOO \cdot) ve singlet oksijen (1O_2) gibi aktif oksijen formları oluşmaktadır. Radyasyon, gazlar, ağır metaller, herbisitler, pestisitler vb. gibi çevre kirleticiler ile tedavi amacıyla alınan birçok ilaç vücutla etkileşime girerek AO oluşumuna neden olmaktadır. Bu dış etmenlere ilave olarak vücuttaki antimikrobiyal savunma sistemi, ateşli iltihabik durumlar, kanser oluşumu, yorgunluğa sebep olan ağır egzersiz gibi pek çok durum da AO oluşumunu teşvik etmektedir. AO birikimi bir antioksidantla engellenmediği takdirde, bitkilerde olduğu gibi insan metabolizmasında da, oksidatif strese neden olmaktadır (Anonim, 1994; Sies ve Stahl, 1995; Sies ve ark., 1998).

Oksidatif stres, normal metabolik faaliyetlerin devam ettirilmesi için gerekli olan AO-antioksidant dengesini AO lehine bozarak; DNA, protein, karbonhidrat ve lipitlerde zararlanmaya yol açmaktadır. Sayılan komponentlerdeki bu zararlanmalar, hücre membranının hem yapısını hem de fonksiyonlarını bozarak, birçok dejeneratif hastalığa neden olmaktadır (Sies ve ark., 1998). Bu gün literatürde 50'nin üzerinde hastalığın AO'lerle ilgili olduğu bildirilmektedir (Halliwell, 1989). Bunlar arasında yaşlanma, katarakt, kanser, aralıklı topallama, aşırı trombosit kümelenmesi, iskemi (kan akımının azalması), aterosklerotik kalp ve damar hastalıkları en önemlileridir (Anonim, 1994; Sies ve Stahl, 1995; Sies ve ark., 1998). Üzerinde en fazla durulan ise ateroskleroz yani damar sertliğidir (Halliwell, 1989). Bu nedenle ateroskleroz

oluşumunda AO'nin rolünü kısaca özetlemek, daha sonraki bölümlerde antioksidantların önemini vurgulamak bakımından yerinde olacaktır.

Damarlara yerleşerek aterosikleroza neden olan kolesterolün, öncelikle düşük densiteli lipoproteinlerden (LDL-Low Density Lipoproteins) kaynaklandığı bilinmektedir. Bu nedenle kanda artan LDL konsantrasyonunun aterosikleroz riskini arttırdığı düşünülmektedir. Çünkü aterosiklerozun başlangıç safhasında; oksitlenmiş LDL'i içine almış makrofajlar, köpük hücrelerine dönüşerek damarlarda birikir. Köpük hücreleri kolesterol içeren sıvı damlacıklarla dolu yapılar halindedir. Kanda biriken LDL ise AO formları için önemli bir hedeftir. LDL miktarı arttıkça AO tarafından oksidasyonu da hızlanmaktadır. LDL'in oksidatif değişimi, bu lipoprotein partikülünün makrofajlarca daha fazla tutulmasına ve makrofajların köpük hücrelerine dönüştürülmesine yol açmakta; bu durum ise yağlı aterosikleroz lezyonlarını arttırmaktadır (Halliwell, 1989; Sato ve ark., 1990; Anonim, 1994).

Bu tür hastalıkların engellenmesi bakımından vücutta antioksidantların varlığı ve miktarı önemlidir. Antioksidant maddeler, AO oluşumunu engelleyerek ya da oluşan AO'eri temizleyerek, oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararlanmaları hücresel bazda engellemekte (DNA bozulmalarını, yağların peroksidasyonunu vb. azaltarak), dolayısıyla dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadır. Yapılan araştırmalar da kandaki antioksidant düzeylerine bağlı olarak, kanser, katarakt, kalp ve damar hastalıkları, çevre kirliliğinin teşvik ettiği akciğer hastalıkları vb. rahatsızlıklara yakalanma riskinin, azaldığını göstermektedir. Ayrıca yaşlanma sürecinde koruyucu role sahip olan antioksidant maddelerin, daha uzun ve sağlıklı bir yaşam sağladığı bildirilmektedir (Anonim, 1994).

İnsan sağlığı bakımından da antioksidant fonksiyonları ile ön plana çıkan metabolitler; vitaminler, karotenoidler ve fenollerdir. Bu metabolitlerin asıl kaynağı günlük diyetimizde yer alan besinlerdir. Özellikle bitkilerin farklı organ ve dokularında doğal olarak bulunan antioksidantlar; doğrudan bitkilerin veya bunlardan elde edilen farklı ürünlerin tüketilmesi yoluyla ya da bitkilerden ekstrakte edilen antioksidantların farklı şekillerde işlenerek ticari anlamda insanların kullanımına sunulmasıyla, günlük yaşantımızda önem kazanmış, hatta popüler olmuşlardır. Antioksidantların insan metabolizmasındaki rolleri ile üzüm ve üzümde elde edilen ürünlerin bu açıdan önemi aşağıda verilmiştir.

Vitamin C

Superoksit, hidrojen peroksit, hipoklorit, hidroksil ve peroksil kökleri ile singlet oksijen formundaki AO'lerin temizlenmesinde en etkili antioksidanttır. Özellikle peroksil köklerinin teşvik ettiği lipid peroksidasyonunun engellenmesinde

diğer antioksidantlardan (tiyoller, ürat, bilirubin, Vitamin E) daha etkilidir. Ayrıca tokoferol aktivitesini de arttırarak, peroksidasyona karşı membranların korunmasını temin etmektedir. Oksidasyonun insan sperminde neden olduğu DNA zararlanmasına karşı da koruyucudur (Anonim, 1994; Sies ve Stahl, 1995; Sies ve ark., 1998). Yapılan klinik deneyler, günlük diyet içerisinde yer alan ya da dışardan alınan C vitamininin; değişik kanser formları, kalp-damar hastalıkları ve katarakt riskinin azaltılması (Anonim, 1994), yaşlılıkla birlikte zihinsel fonksiyonlardaki azalmanın önlenmesi (%61 oranında) (Paleologes ve ark., 1998), kadınlarda kemik yoğunluğunun korunması (Hall ve Greendale, 1998), akciğer fonksiyonlarında meydana gelen azalışın engellenmesi (Hu ve ark., 1998) bakımından etkili olduğunu göstermiştir.

Vitamin C için önerilen günlük alım miktarı 60 mg olup, temel kaynağı meyve ve sebzelerdir. Vitamin C işleme ya da pişirme esnasında önemli miktarda kayba uğradığından, meyve ve sebzelerin taze tüketilmesi gerekmektedir. Bu açıdan günlük diyetimizde taze üzüm tüketme alışkanlığına sahip olmamız avantajlı gözükmektedir. Olgun üzümlerin C vitamini kapsamı çeşide bağlı olarak 0,15-14,7 mg/100g arasında değişmekte (Mievska, 1985; Gamova ve ark., 1991; Bakhmulaeva ve Magomedova, 1996); meyve kabuğu, meyve suyuna oranla daha fazla askorbik asit içermektedir (Mievska, 1985). Bununla birlikte Kılıç (1990), üzüm şırasında 1-18 mg/100g askorbik asit bulunabileceğini, ancak şıranın işlenmesi esnasında kayıplar meydana geldiğini bildirmektedir. Asma yaprağı 120 mg/100g askorbik asit içermesi nedeniyle, üzüme oranla, C vitamini bakımından çok daha zengindir (Eriş ve Yanmaz, 1979). Türk mutfağında özel yeri bulunan asma yaprağı, pişirme esnasında kayba uğrasa bile, diğer pek çok sebzeyle oranla daha avantajlı görünmektedir.

Vitamin E

Hücre membranlarında yer alarak, hücreyi koruyan ve hücre içine madde giriş çıkışını düzenleyen Vitamin E, kırmızı kan hücrelerinin oluşumu için de mutlak gereklidir. Hidroksil, alkoksil, peroksil kökleri ve singlet oksijen gibi AO formlarının neden olduğu oksidasyon zararından hücre ve dokuları koruyarak antioksidant rol oynar. Özellikle peroksil kökleri ile reaksiyona girerek, hücre içinde ve duvarlarında yağların oksidasyonunu engeller. Dolayısıyla LDL'leri de oksidasyondan koruyarak, damarlarda köpük hücrelerinin ve yağlı çizgilerin oluşumunu azaltır. Ayrıca kanser riski ve gelişiminde koruyucu etkisinin olduğu; AO birikiminin neden olduğu yaşlanma ile sonuçlanan patolojik değişimleri engellediği; katarakt gelişimini bir dereceye kadar durdurabildiği, hatta geri çevirebildiği bildirilmektedir (Anonim, 1994; Sies ve Stahl, 1995; Sies ve ark., 1998). Yapılan klinik araştırmalar, yaşlılarda bağışıklık sisteminin iyileştirilmesi (200-800 IU/gün/4 ay), prostat kanseri riskinin azaltılması (50 mg/gün/5-8 yıl), Alzheimer hastalığının yol açtığı zihinsel

fonksiyonlardaki azalmanın yavaşlatılması (2000 IU/gün/2 yıl), LDL oksidasyonunun azaltılması (100 IU/gün/3 ay), aterosikleroza bağlı kalp krizi riskinin % 75 oranında azaltılması (400-800 IU/gün/18 ay) bakımından Vitamin E'nin etkili olduğunu göstermektedir (Anonim, 1994; Slepens ve ark., 1996).

Vitamin E için önerilen günlük alım referans değeri 30 IU olup, 1200 IU'e kadar sağlık açısından herhangi bir risk taşımadığı bildirilmektedir. Vitamin E yağda çözünen ve vücutta depolanabilen bir vitamin olduğundan, günlük alım miktarının 1200 IU'i geçmemesi önerilmektedir. Vitamin E'nin temel kaynağı yağ içeriği zengin olan sert kabuklu meyveler ve tohumlar ile bitkisel yağlar ve margarindir. Yeşil yapraklı sebzeler de az miktarda Vitamin E içermektedir. Heinen (1997) üzüm tohumu yağının önemli miktarda E vitamini içerdiğini, bunun da insan sağlığı bakımından önem taşıdığını bildirmektedir. Gvozdjakova ve ark., (1996) da kırmızı şaraplarda 589 µg/l, pembe şaraplarda 448 µg/l, beyaz şaraplarda ise 385 µg/l E vitamini bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Karotenoidler

Karotenoid yapısında 500'den fazla bileşik tanımlanmıştır. Ancak üzerinde en fazla durulanı β-karotendir (Sies ve ark., 1998). İnsanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, β-karoten'in kanser ve kalp hastalıkları ile UV stresinden korunmada, vücudun bağışıklık fonksiyonlarının aktivasyonunda önemli rol oynadığını göstermektedir (Van Poppel ve Goldbohm, 1995; Herraiz ve ark., 1998). β-karoten; singlet oksijen aktivitesini (vücudun ışığa hassasiyet reaksiyonudur) ve peroksil köklerinin neden olduğu oksidasyonu engelleyerek, antioksidant fonksiyonlarını yerine getirmektedir. Hücre membranlarını lipit peroksidasyonundan koruması da önemli özelliklerinden biridir (Sies ve ark., 1998).

β-karoten'in antioksidant fonksiyonlarına diğer karotenoidler de eşlik etmektedir. Örneğin likopen, singlet oksijen aktivitesinin engellenmesinde önemli rol oynamaktadır (Sies ve Stahl, 1995). Yapılan araştırmalar likopenin bir çok kanser, özellikle de prostat kanseri riskini azalttığını göstermektedir. α-karoten ise hücre çoğalmasını engelleyebilen ve kanserin yayılmasını durdurabilen bir antioksidanttır. Gözün retina tabakasında yer alan lutein ve zeaksantin, mavi ışığa karşı filtre görevi yapan karotenoidler olup, gözü meydana gelebilecek zararlanmalardan korumakta, katarakt riskini azaltmaktadır (Kolski, 1998).

β-karoten'in bir diğer önemli fonksiyonu ise vücudun ihtiyacı olduğunda Vitamin A (retinol)'ya dönüştürülebilmesidir. Bu nedenle provitamin A olarak da adlandırılmaktadır. Doku, cilt ve göz sağlığı ile bağışıklık sistemi için mutlak gerekli olan A vitamininin 2/3'ünü β-karoten oluşturmaktadır. Vitamin A ihtiyacı diğer

kaynaklardan karşılanırsa bile, yeterli düzeyde β -karoten alınmadığı takdirde vücudun antioksidant savunma sistemi optimum düzeyde işlev görememektedir (Kolski, 1998). Günlük β -karoten alımıyla ilgili referans değeri henüz geliştirilememiştir; ancak tavsiye edilen günlük doz kadınlar için 4,8 mg, erkekler için 6 mg'dır (Machlin ve Hüni, 1994). Meyve ve sebzelerle zenginleştirilmiş bir diyetin de günde 5-6 mg β -karoten alımını temin edeceği bildirilmektedir. Günlük 10 ila 20 mg'a kadar β -karoten alımının sağlık açısından herhangi bir risk taşımadığı; 30 ila 50 mg gibi yüksek dozların ise günde iki dubleden fazla alkol alanlarda ve sigara içenlerde, akciğer kanserine yol açtığı tespit edilmiştir (Kolski, 1998).

En iyi karotenoid kaynakları sarı, kırmızı ve koyu yeşil renge sahip olan sebze ve meyvelerdir. Havuç, patates, kayısı, kantalop, kışlık kabak, mango, mısır, brokoli ve ıspanak β -karoten; yine havuç ve kışlık kabak α -karoten; kavun, guava, pembe greyfurt ve domates likopen; kırmızı biber, bamya, ıspanak, kıvırcık ve baş salatalar lutein ve zeaksantin; papaya ve turunçgiller ise kriptoksantin bakımından zengindir (Kolski, 1998). Üzümde ise daha önce de belirtildiği gibi 5,6-epoksi lutein, neo-, flavo-, luteo- ve violaksantin; özellikle de lutein ve β -karoten bulunmaktadır. Toplam karotenoid miktarı çeşide bağlı olarak 0,8 ila 2,5 mg/kg arasında değişmekte, üzümde sıra ve şaraba da geçmektedir (Razungles ve ark., 1987).

Fenolik Bileşikler

Fenollerin insan sağlığı bakımından antioksidant özellik taşıdığı, 1990'lı yıllarda yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur. Farklı kültürlerle sahip 7 ülkenin 16 bölgesi seçilerek yapılan bir araştırmada; yöre halklarının 1960'dan bu yana tükettiği flavonoid miktarları, yeme alışkanlıklarına uygun olarak diyetlerinde yer alan gıdaların analiz edilmesiyle, tahmini olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda, bu bölgelerde son 25 yılda koroner kalp hastalıkları ve kanserden ölenlerin oranları da tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, yeterli miktarda flavonoid alımı ile koroner kalp hastalıklarından ölüm oranı arasında negatif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Hertog ve ark., 1995). Fransa'da İngiltere'ye oranla çok daha fazla miktarlarda doymuş yağ kullanılmasına rağmen, kalp ve damar hastalıklarından ölüm oranı İngiltere'nin 1/3'ü kadardır. Bu durum, Fransa'da flavonoidler bakımından son derece zengin olan kırmızı şarap tüketiminin çok yüksek olmasıyla açıklanmakta ve "Fransız ikilemi" olarak adlandırılmaktadır (Whitehead ve ark., 1995).

Son on yılda bu konuyla ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmaların ortak neticesi özellikle kırmızı şarapta bulunan fenollerin LDL oksidasyonunu engelleyerek, kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu olduğudur (Frankel ve ark., 1995; Ghiselli ve ark., 1998). Ayrıca kırmızı üzüm ya da şarapta yer

alan fenollerin LDL oksidasyonunda, C ve E vitaminlerinden daha yüksek bir antioksidant kapasiteye sahip olduğu bildirilmektedir (Teissedre ve ark., 1996).

Şarapta bulunan fenolik bileşiklerin nitrik oksit, superoksit, hidroksil ve peroksil kökleri gibi AO formlarının neden olduğu oksidasyonu engelleyerek, antioksidant fonksiyonlarını yerine getirdiği tespit edilmiştir (Ghiselli ve ark., 1998). Aslında üzümün değişik dokularından şaraba geçen bu bileşikler, meyve, üzüm suyu ya da tohumdan elde edildiklerinde de aynı aktiviteye sahiptir (Meyer ve ark., 1997). Ancak rengine ve çeşide bağlı olarak üzüm suyu ya da şarapta bulunan fenollerin antioksidant kapasitesi farklılık göstermektedir. Örneğin kırmızı üzümlerden Red Globe ve Emperor (%66-68 engelleme) ile beyaz üzümlerden Chardonnay ve Sauvignon blanc'ın (%58-63) antioksidant kapasiteleri daha yüksek, Calzin ve Niabell çeşitlerinin (%25-27) ise daha düşüktür (Yi ve ark., 1997). Beyaz şarapların antioksidant kapasitesi 39-216 ünite/ml arasında değişirken, kırmızı şarapların antioksidant kapasitesi bunun 5 ila 10 katı arasında değişmektedir (Sato ve ark., 1996). Simonetti ve ark., (1997) antioksidant kapasitenin flavonoller, Saint-Cricq ve ark., (1998) ise antosiyaninler ile ilgili olduğunu belirtse de Frenkel ve ark., (1995) bunun spesifik bir fenolik bileşikle değil, toplam fenolik bileşik kapsamıyla ilgili olduğunu bildirmektedir. Üzümlerin sahip olduğu toplam fenolik bileşik kapsamı, daha önce de belirtildiği gibi tane rengi ve çeşit özelliği dışında; bir çok içsel ve dışsal faktör ile kültürel uygulamalara bağlı olarak değişmektedir. Bu durum fizyologları ve ıslahçıları, bu faktörleri kontrol ederek antioksidant kapasitesi yükseltilmiş ürünler elde etmeye yöneltmektedir.

Üzüm, üzüm suyu ya da şarap dışında diğer bahçe bitkileri de fenolik bileşikler bakımından zengindir. Ancak 41 kırmızı, 12 pembe ve beyaz şarap; 20 yeşil ve siyah çay ile 30 farklı meyve suyu toplam fenolik bileşikler (TFB) ve antioksidant kapasiteleri (AK) bakımından karşılaştırıldığında; en yüksek TFB ve AK değerlerinin, kırmızı şarap ve çayda olduğu tespit edilmiştir (Henn ve Stehle, 1999). Üzüm dahil 33 farklı meyvenin şarabı ile 11 likörün antioksidant kapasitesini belirlemek amacıyla yapılan araştırmalarda da kırmızı üzüm ve frenk üzümü şarabının daha üstün olduğu belirlenmiştir (Heinonen ve ark., 1998).

Literatürde fenolik bileşiklerin günlük alımı ile ilgili referans değere rastlanılamamıştır. Bununla birlikte Amerika'da günde 2, Avrupa ülkelerinde 5, Dünya'da kalp ve damar hastalıkları oranının en düşük olduğu Japonya'da ise 3.2 kadeh şarap tüketilmesi tavsiye edilmektedir (Holmgren, 1995).

LİTERATÜR LİSTESİ

- Anonim 1994. Vitamin E'nin insanlarda etkinliğinin genel değerlendirilmesi. Vitamin E Research and Information Service, 5325 South Ninth Avenue, LaGrangei Illinois 60525, U.S.A., 24 s.
- Archier, P., S. Coen, and J. P. Roggero. 1994. Changes in the phenolic content of single variety wines after the first nine months of storage. VITIS Viticulture and Enology Abstracts 33 (1) K3.
- Auw, J. M., V. Blanco, S. F. O'Keefe, and C. A. Sims. 1996. Effect of processing of the phenolics and color of Cabernet Sauvignon, Chambourcin, and Noble wines and juices. American Journal of Enology and Viticulture, 47 (3): 279-286.
- Azhogina, V. A., E. M. Sobolev, and V. N. Fisenco. 1988. Influence of mechanised grape harvesting on composition of high molecular substances of must and wine. VITIS Viticulture and Enology Abstracts 27 (4) E4.
- Bagchi, D., A. Garg, R. L. Krohn, M. Bagchi, M. X. Tran, and S. J. Stohs. 1997. Research communications in molecular pathology and pharmacology 95 (2): 179-189.
- Bakhmulaeva, Z. K., and M. Y. Alieva. 1999. Vitamins in berries of early ripening table grapes in Dagestan. VITIS Viticulture and Enology Abstracts 38 (1) D1.
- Bakhmulaeva, Z. K., and E. S. Magomedova. 1996. Rutin and ascorbic acid in table grapes grown in Dagestan. VITIS Viticulture and Enology Abstracts 35 (2) D9.
- Bartolini, G., M. A. Toponi, and L. Santini. 1991. Propagation by cuttings of two Vitis rootstocks: Diffusion of endogenous phenolic compounds into the dipping waters. Phytion 52 (1): 9-15.
- Beridze, A. G., and N. E. Gvamichava. 1978. Vitamin secretion by grapevine roots. VITIS Viticulture and Enology Abstracts 17 (1) C2.
- Bezhanishvili, K. N., K. A. Kakhiashvili, and D. S. Ugrehelidze. 1982. The effect of atrazine on the contents of some phenolic compounds of the grapevine. VITIS Viticulture and Enology Abstracts 21 (4) E1.

- Blaich, R., C. Heintz, G. Hoos, and R. Wind. 1990. Phenol and silica incrusts in epidermal cells of *Vitis spp.* as a general defence mechanism. Proceedings of the 5th International Symposium on Grape Breeding, 12-16 September 1989, Vitis Special Issue 248: 19-25.
- Bouard, J., G. Darne, and J. Lavaud. 1980. Quality of different categories of grape seeds. Proceedings of 3rd International Symposium on Grape Breeding, Davis, USA, 130-139.
- Boubals, D., and G. Mur. 1984. The content of total phenols and anthocyanins in different grapevine cultivars. VITIS Viticulture and Enology Abstracts 23 (2) D13.
- Boucheny, A., and M. Brum-Bousquet. 1990. Contribution to the study of the leaf of the red grapevine *Vitis vinifera* L. Plantes Medicinales et Phytotherapie, 24: 179-192.
- Bourzeix, M. 1991. Influence of grape and wine phenolics on health. II. Simposia Internacional. Uva, Vino y Salud. 4-6 Diciembre, Buenos Aires, Argentina, 15pp.
- Buciumeanu, E., C. Grecu, and C. Bejan. 1995. Polyphenolic compounds of virus-infected grapevine In: Brouillard, R., M. Jay, A. Scalbert (Eds.): Polyphenols 94. 17th International Conference on Polyphenols, Palma de Mallorca, Spain, May 23-27, 1994. Collogues de l'INRA, 69; 387-388.
- Bureau, S. M., A. J. Razungles, R. L. Baumes, and C. L. Bayonove. 1998a. Effect of vine or bunch shading on the carotenoid composition in *Vitis vinifera* L. Berries. I. Syrah grapes. Wein-Wissenschaft 53 (2): 64-71.
- Bureau, S. M., A. J. Razungles, R. L. Baumes, and C. L. Bayonove. 1998b. Effect of vine or bunch shading on the carotenoid composition in *Vitis vinifera* L. Berries. II. Muscat de Frontignan. Wein-Wissenschaft 53 (2): 72-78.
- Dai, G. H., C. Andary, L. Mondolot-Cosson, and D. Boubals. 1995a. Histochemical responses of leaves of *in vitro* plantlets of *Vitis spp.* to infection with *Plasmopara viticola*. Phytopathology 95 (2) 149-154.

- Dai, G. H., C. Andary, L. Mondolot-Cosson, and D. Boubals. 1995b. Histochemical studies on the interaction between three species of grapevine. *Vitis vinifera*, *V. rupestris* and *V. rotundifolia* and the down mildew fungus, *Plasmopora viticola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 46 (3): 177-188.
- Dai, G. H., C. Andary, L. Mondolot-Cosson, and D. Boubals. 1995c. Involvement of phenolic compounds in the resistance of grapevine callus to downy mildew, *Plasmopara viticola*. *European Journal of Plant Pathology* 101 (5): 541-547.
- Darne, G. 1982. The phenolic compounds of the internodes of *Vitis vinifera* L. cv. Ugni blanc during growing season: Study of the evolution of their structure. *Vitis* 21: 15-21.
- Darne, G., and J. Bouard. 1986. Influence of girdling on quality of grape seeds: consequences on their contents in phenolic compounds. *Vignevini* 13 (12): 286-289.
- Dimov, S., K. Fartzov, and B. Bankov. 1995. Quantitative analysis and physiological effect of phenolic acids of wines. *Revue des Oenologues* 21 (76): 40-42.
- Düring, H. 1999. Photoprotection in leaves of grapevines: Responses of the xanthophyll cycle to alterations of light intensity. *Vitis* 38 (1): 21-24.
- Edreva, A. 1998. Molecular bases of stress in plants. Bitkilerde stres fizyolojisinin moleküler temelleri, 22-26 Haziran 1998, Bornova, İzmir, E. Ü. Bilim-Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, 1-33.
- Eriş, A. ve R. Yanmaz. 1979. Sağlık ve beslenme açısından sebzelerin önemi. *Gıda* 4 (1): 25-40.
- Fernandez de Simon, B., T. Hernandez, and I. Estrella. 1993. Phenolic composition of white grapes, var. Airen. Changes during ripening. *Food Chemistry* 47; 47-52.
- Fernandez de Simon, M. B., T. Hernandez, I. Estrella, and G. Santamaria. 1990. Phenolic composition of must, seeds and skins during maturation of grapes *In*: Ribereau-Gayon, P., A. Lonvaud. (Eds.): *Actualities Oenologique* 89, *Comptes Rendus du 4EXPe Symposium International d'Oenologie*, 15-17 Juin 1989, Bordeaux, France 59-62.

- Flanzy, M., M. Bourzeix, N. Heredia, and M. O. Dobernet. 1972. The concentration and distribution of various phenolic compounds in grapes and stalks of 12 cvs. *C.R. Seances Acad.Agricult.* 58: 452-460.
- Frenkel, E. N., A. L. Waterhouse, and P. L. Teissedre. 1995. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43 (4): 890-894.
- Frankel, E. N., C. A. Bosanek, A. S. Meyer, K. Silliman, and L. L. Kirk. 1998. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (3): 834-838.
- Gamova, O. V., B. L. Dorokhov, M. V. Tsypko, T. V. Petrova, and S. G. Kharyuk. 1991. Ascorbic acid content of grape berries. *VITIS Viticulture and Enology Abstracts* 30 (1) D1.
- Ghiselli, A., M. Nardini, A. Baldi, C. Scaccini. 1998. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (2): 361-367.
- Gubin, E. N., and L. E. Gubina. 1994. Pigment content and optical properties of vine leaves. *VITIS Viticulture and Enology Abstracts* 33 (3) D4.
- Gvamichava, N. E., T. A. Kezeli, K. M. Tarasashvili, and N. S. Piranishvili. 1977. The influence of ionizing radiation on the change of the glutathione-ascorbic system in grapevine leaves. *VITIS Viticulture and Enology Abstracts* 16 (1) D.
- Gvozdjakova, A., J. Kucharska, P. Durisin, and E. Minarik. 1996. Is plastoquinone10-ox an antioxidant marker of red wines? *Vitis* 35 (2): 103-104.
- Hall, S., and G. Greendale. 1998. The relation of dietary vitamin C intake to bone mineral density. *Calcif Tissue Int.* 63: 183-189.
- Halliwell, B. 1989. Current status Review: Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br. J. Exp. Path.* 70: 737-757.
- Heinen, W. 1997. Kaltpresstes Traubenkernöl: Ein Glücksfall der Natur. 14: 16-18.

- Heinonen, I. M., P. J. Lehtonen, and A. I. Hopia. 1998. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (1): 25-31.
- Henn, T., and P. Stehle. 1999. Gesamtphenolgehalt und antioksidative kapazität kandelsüblicher getränke. *Ernährung-Umschau* 45 (9): 308-313.
- Herraiz, L. A., W. C. Hsieh, R. S. Parker, J. E. Swanson, A. Bendich, and D. A. Rao. 1998. Effect of UV exposure and beta-carotene supplementation on delayed-typ hypo sensitivity response in healthy older men. *J. Am. Coll. Nutr.* 16: 616-624.
- Hertog, M. G. L., P. C. H. Hollmann, and B. Putte. 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 1242-1246.
- Hertog, M. G. L., D. Kromhout, C. Aravis, H. Blackburn, R. Buzina, F. Fidanza, S. Giampaoli, A. Jansen, A. Menotti, S. Nedeljkovic, M. Pekkarinen, B. S. Simic, H. Toshima, E. J. M. Feskens, P. C. H. Hollman, and M. B. Katan. 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Archives of Internal Medicine* 155: 381-386.
- Holmgren, E. 1995. Summary of research results relating to moderate wine consumption. *Bulletin de l'O. I. V.* 68 (769-770): 192-219.
- Hu, G., X. Zhang, J. Chan, R. Peto, T. L. Chambell, and P. A. Cassano. 1998. Dietary vitamin C intake and lung function in rural China. *American Journal of Epidemiology* 148: 594-599.
- Huang P. J. D., J. N. Cash, and C. R. Santerre. 1988. Influence of stems, petioles and leaves on the phenolic content of Concord and Aurora blanc juice and wine. *Journal of Food Science* 53 (1): 173-175.
- Kılıç, O. 1990. Alkollü içkiler teknolojisi. *Uludağ Üniversitesi Yayınları*, No: 7-023-0199. 236s.
- Kolski, S. 1998. Vitamin A. (In URL;http://www.drkoop.com/wellness/nutrition/vitamins_minerals/) 5 pp.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Volume I, 2nd ed. Academic Press, New York. 497 p.

- Machlin, L. J., and E. S. Hüni. 1994. Vitamins basics. F. Hoffmann-La Roche, Ltd., Basel, Switzerland, 74 p.
- Madero, T. J., G. Darne, and J. Bouard. 1978. Influence of irrigation on the composition of fatty acid and phenolic compounds in the internodes, leaves and inflorescences of vines at blossom time. *Ann. Technol. Agric.* 27: 123-125.
- Marais, J., C. J. Wyk, and A. Rapp. 1991. Carotenoid levels in maturing grapes as affected by climatic regions, sunlight and shade. *South African Journal for Enology and Viticulture* 12: 64-69.
- McKersie, B. D., and Y. Y. Leshem. 1994. Stress and stress coping in cultivated plants. Kluwer Academic Publishers, Nederland. 256 p.
- Medeghini B. P., F. R. Borani, and E. Sgarbi. 1992. Ultrastructure, phenol content and peroxidase activity in developing leaves of *Vitis vinifera*, cv. Lambrusco Salamino. *VITIS Viticulture and Enology Abstracts* 31 (2) B3.
- Meyer, A. S., O. S. Yi, D. A. Pearson, A. L. Waterhouse, and E. N. Frankel. 1997. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (5): 1638-1643.
- Mievska, T. S. 1985. Dynamics of vitamin C in berries of several table grape cultivars. *VITIS Viticulture and Enology Abstracts* 24 (3) C39.
- Mirzaev, M. N., V. N. Kitlaev, N. N. Perov, and A. T. Mammaev. 1971. The autoregulatory role of antioxidants of grape plants infected with phylloxera. *VITIS Viticulture and Enology Abstracts* VITIS 10 (2) D.
- Morrison, J. C. 1988. The effect of shading on the composition of Cabernet Sauvignon grape berries. *In: Smart, R., R. Thornton, S. Rodriguez, J. Young, (Eds.): Proceedings of the 2nd International Symposium for Cool Climate Viticulture and Oenology, Ayckland, New Zealand, 11-15 January 1988.* pp. 144-146.
- Nozaki, K., and K. Yokotsuka. 1985. Paper chromatography of phenolic compounds from seed and skins of 32 grape varieties. *Journal of Institute of Enology and Viticulture* 20: 1-15.

- Nozaki, K., T. Kushida, T. Nakajima, M. Yajimai, and K. Yokotsuka. 1984. Antioxidant activities of phenolic compounds from seeds and skins of 33 grape varieties. *Journal of Institute of Enology and Viticulture* 19: 29-38.
- Ostrovskaya, L. K., V. V. Truch, and O. M. Mikhailik. 1990. Superoxide dismutase activation in response to lime-induced chlorosis. *New Phytologist* 114: 39-45.
- Oszmianski, J., and J. C. Sapis. 1989. Fractionation and identification of some low molecular weight grape seed phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37: 1293-1297.
- Padgett, M., and J. C. Morrison. 1990. Changes in grape berry exudates during fruit development and their effect on mycelial growth of *Botrytis cinerea*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 115: 269-273.
- Paleologes, M., R. G. Cumming, and R. Lazarus. 1998. Cohort study of vitamin C intake and cognitive impairment. *American Journal of Epidemiology* 148: 45-50.
- Pezet, R., and V. Pont. 1992. Different biochemical and histochemical studies of two grape cultivars in the view of their respective susceptibility and resistance to *Botrytis cinerea*. *In: Verhoeff, K., N. E. Malathrakis, B. Williams, (Eds.): Recent Advance in Botrytis Research. 10th International Botrytis Symposium, Heraklion, Crete, Greece, 5-10 April, 1992 pp 93-98.*
- Prier, A., and M. G. Mullins. 1976. Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and abscisic acid. *Plant Physiol.* 58: 468-472.
- Quintana, G. M., and P. J. M. Gomez. 1989. Influence of soil, climate and other factors on the phenolic content of the grape variety Xarello. *Bulletin de l'O.I.V.* 62: 485-497.
- Razungles, A., C. L. Bayonove, R. E. Cordonnier, and R. L. Baumes. 1987. Investigation on the carotenoids of the mature grape. *Vitis* 26: 183-191.
- Razungles, A. J., I. Babic, J. C. Sapis, and C. L. Bayonove. 1996. Particular behaviour of epoxy xanthophylls during veraison and maturation of grape. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (12): 3821-3825.

- Reuveni, M. 1998. Relationships between leaf age, peroxidase and β -1,3-glucanase activity and resistance to downy mildew in grapevine. *Journal of Phytopathology* 146 (10): 525-530.
- Ricardo da Silva, J. M., N. Darmon, Y. Fernandez, and S. Mitjavila. 1991. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39: 1549-1552.
- Romani, A., and F. F. Vincieri. 1995. Flavonoid polyphenols of grapes and wine that are of interest with respect to nutrition and health. *VITIS Viticulture and Enology Abstracts* 34 (1) A.
- Roubelakis-Anglakis, K. A., and W.M. Kliewer. 1986. Effects of exogenous factors on phenylalanine ammonia-lyase activity and accumulation of anthocyanins and total phenolics in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture* 37: 275-280.
- Saint-Cricq, G., Y., Glories, and N. Vivas. 1998. Determination of the compounds responsible for the anti-radical effect of wines. The influence of maturing in barrels. *Journal des Sciences et Technique de la Tonnellerie* 4: 163-177.
- Sato, M., C. Ernesto, R. G. Thomas, M. R. Klauber, K. Schafer, M. Grundman, P. Woodbury, J. Growdon, C. W. Cotman, E. Pfeiffer, L. S. Schneider, J. L. Thol. 1990. A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol or both as treatment for Alzheimer's disease. *New Engl. J. Med.* 336 (17): 1216-1222.
- Sato, M., N. Ramarathnam, Y. Suzuki, T. Ohkubo, M. Takeuchi, H. Ochi. 1996. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (1): 37-41.
- Sies, H. and W. Stahl. 1995. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am. J. Clin. Nutr.* 62; 1315-1321.
- Sies, H., W. Stahl, and A. Sundquest. 1998. Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids. *Annals New York Academy of Sciences* 669: 7-20.
- Simonetti, P., P. Pietta, and G. Testoline. 1997. Polyphenol content and total antioxidant potential of selected Italian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (4): 1152-1155.

- Singh, S., I. S. Singh, and R. K. Pathak. 1992. A note on the effect of vine parts treatment with ethephon on ripening and quality of grape, *Vitis vinifera* L. Haryana Journal of Horticultural Sciences 21: 224-226.
- Slephens, N. G., A. Parsons, P. M. Schofield. 1996. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge heart antioxidant study. Lancet 347:781-786.
- Smart, R. E., and S. M. Smith. 1988. Canopy management: identifying the problems and practical solutions. In: Smart, R., R. Thornton, S. Rodriguez, J. Young, (Eds.): Proceedings of the 2nd International Symposium for Cool Climate Viticulture and Oenology, Aucland, New Zealand, 11-15 January 1988 pp. 109-115.
- Spencer, P. A., A. Tanaka, and G. H. N. Towers. 1990. An Agrobacterium signal compound from grapevine cultivars. Phytochemistry 29: 3785-3788.
- Strakhov, V. G., E. I. Khrenovskov, and V. A. Sedletskii. 1984. Utilization of some metabolites of phenol exchange as growth and fruiting regulators of grapes under foliar treatment. Viticulture and Enology Abstracts 23 (3) C32.
- Takeda, F., M. S. Saunders, and J. A. Saunders. 1983. Physical and chemical changes in muscadine grapes during post harvest storage. American Journal of Enology and Viticulture 34: 180-185.
- Tamura, H., and A. Yamagami. 1994. Antioxidative activity of monoacylated anthocyanins isolated from Muscat Bailey a grape. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42: 1612-1615.
- Tarasashvili, K. M., N. E. Gvamichava, T. A. Kezeli, and A. G. Beridze. 1982. Significance of the ascorbic acid glutathione system in the frost resistance of grapevine. Viticulture and Enology Abstracts 21 (1) C.
- Teissedre, P. L., A. L. Waterhouse, R. L. Walzem, J. B. German, E. N. Frankel, S. E. Ebeler, and A. J. Clifford. 1996. Phenolic compounds of grape and wine and health. Bulletin de l'O.I.V. 69 (781-782): 251-277.
- Valouiko, G. G., and A. I. Ivanutina. 1976. Technological reserves of phenolic compounds in red grapes grown in the USSR, and transformation of the compounds. Viticulture and Enology Abstracts 15 (2) L.

- Van Poppel, G., and R. A. Goldbohm. 1995. Epidemiological evidence for beta carotene and cancer prevention. *Am. J. Clin. Nutr.* 62: 1393-1402.
- Whitehead, T. P., D. Robinson, S. Allaway, J. Syms, and A. Hale. 1995. Effect of red wine investigation on the antioxidant capacity of serum. *Clin. Chem.* 41 (1): 32-35.
- Yi, O. S., A. S. Meyer, and E. N. Frankel. 1997. Antioxidant activity of grape extract in a lecithin liposome sistem. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 74 (10): 1301-1207.