

FARKLI BÖLGELERDEN ALINAN ALPHONSE LAVALLÉE ÜZÜM ÇEŞİDİNİN KABUK VE ÇEKİRDEKLERDE BULUNAN FENOLİK BİLEŞİK MİKTARLARININ BELİRLENMESİ

Damla YÜKSEL¹, Hande TAHMAZ², Gökhan SÖYLEMEZOĞLU³

¹Öğr. Gör., Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Park ve Bahçe Bitkileri Bölümü, BİLECİK

²Araş. Gör. Dr., Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, ANKARA

³Prof. Dr., Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, ANKARA

Geliş tarihi / Received: 11.09.2017, Kabul tarihi / Accepted: 20.06.2018

ÖZET

Üzüm tanesinin kabuğunda ve çekirdeğinde yüksek oranda bulunan fenolik bileşikler, antioksidanlar ve antosiyaninler insanların üzüme ve üzüm ekstraktlarına yönelmesine neden olmuştur. *Vitis vinifera* L.'ya ait Alphonse Lavallée üzüm çeşidi morumsu–siyah kabuk rengine sahip olmasından dolayı fenolik bileşikler, antioksidanlar ve antosiyaninler açısından oldukça zengindir. Ayrıca sofralık olmasına karşın çekirdekli olarak tüketilen bir çeşit olması da çekirdeklerinde bulunan fenolik bileşiklerden ve antioksidanlardan yararlanma imkânı sunmaktadır. Bilindiği gibi aynı çeşide ait asmalar farklı bölgelerde yetiştirildiğinde farklı ekolojik koşullara maruz kaldığından morfolojik ve fizyolojik olarak çeşit içi farklılıklar meydana gelmektedir. Bu çalışmada; önemli bir sofralık üzüm çeşidi olan Alphonse Lavallée çeşidinin 3 farklı (Efemçukuru–İzmir, Kalecik–Ankara, Merkez–Tekirdağ) bölgeden alınan örneklerinde toplam fenolik bileşik, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin analizleri yapılmıştır. Kabukta en yüksek toplam fenolik bileşik, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin değerlerini sırasıyla 47275 mg/kg KA, 484.1 µmol/g trolox KA ve 23583 mg/kg KA sonuçları ile Merkez–Tekirdağ ilinden alınan örnekler vermiştir. Çekirdekte ise; toplam fenolik bileşik ve antioksidan aktivite değerlerinin elde edilmesi için yapılan analizler sonucunda 83250 mg/kg KA ve 723.7 µmol/g trolox KA değerleri ile Efemçukuru–İzmir ilinden alınan örneklerden en yüksek değerler elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Vitis vinifera* L., fenolik bileşik, Alphonse Lavallée, antioksidan aktivite, toplam antosiyanin

DETERMINATION OF THE PHENOLIC COMPOUND QUANTITY OF THE ALPHONSE LAVALLÉE GRAPE VARIETY FROM DIFFERENT REGIONS IN SKIN AND SEEDS

ABSTRACT

High levels of phenolic compounds, antioxidants and anthocyanins in the skin and seed of grape cause people to turn to grape and grape extracts. The Alphonse Lavallée grape variety of *Vitis vinifera* L. is quite rich in terms of phenolic compounds, antioxidants and anthocyanins because of its purple–black skin color. In addition, although it is a table, it is a kind that is consumed as a seed, it also provides the opportunity to benefit from phenolic compounds and antioxidants found in the seeds. As it is known, since the stands belonging to the same kind are exposed to different ecological conditions when grown in different regions, morphological and physiologic differences within the species occur. In this study; total phenolic compounds, antioxidant activity and total anthocyanins were analyzed in three different samples of Alphonse Lavallée cultivar (Efemçukuru–İzmir, Kalecik–Ankara, Merkez–Tekirdağ) which is an important table grape variety. The highest total phenolic compound, antioxidant activity and total anthocyanin levels in the skin were obtained from the provinces of Merkez–Tekirdağ with 47275 mg/kg DW, 484.1 µmol/g trolox DW and 23583 mg/kg DW, respectively. In the seed; the highest values were obtained from the samples taken from Efemçukuru–İzmir with the values of 83250 mg/kg DW and 723.7 µmol/g trolox DW as a result of the analyzes performed to obtain the total phenolic compound and antioxidant activity values.

Keywords: *Vitis vinifera* L., phenolic compounds, Alphonse Lavallée, antioxidant activity, total anthocyanins

GİRİŞ

Bitkilerin yaşam döngüleri boyunca büyüme ve gelişme olaylarının sonucu olarak meydana getirdikleri birincil ürünler, ekosistemin tüm varlıklarının yaşamında önem taşıdığı gibi insanlar için de beslenmeden barınmaya kadar vazgeçilmezdir. Diğer taraftan bitkiler, birincil ürünlerden farklı olarak doğrudan büyüme ve gelişme ile ilişkili olmayan, türlere özgü özel moleküller sentezleyebilmektedir. Bu özel moleküllere ikincil ürünler (sekonder metabolitler) adı verilmektedir.

Modern kimya ve özellikle bitki biyokimyasının gelişmesi ve 20. yüzyılın ortalarında analitik yöntemlerin, özellikle kromatografik yöntemlerin hızla ilerlemeye başlamasıyla birlikte, ikincil ürünlerin moleküler yapıları tanımlanmaya başlamıştır. Bu gelişmelere moleküler biyolojideki gelişmelerin de katılmasıyla birlikte, ikincil ürünlerin, bitkilerin bulundukları çevre koşullarına adaptasyonunda, ekosistem ile bitki sağlığı arasındaki ilişkilerin düzenlenmesinde rol oynadıkları açığa çıkarılmıştır. Bu maddeler, düşük molekül ağırlıklı olmakla birlikte, bitkilerden üretildikleri miktarlar da oldukça düşük (kuru ağırlığın %1'inden daha az) olup, bitkinin fizyolojik durumu ve gelişme aşamasına bağlı olarak sentezlenmektedir.

İkincil ürünlerin, doğrudan bitki için önemli olmalarının yanı sıra, yüzyıllardır bitkileri kullanan insanlar için de önemli oldukları giderek daha iyi anlaşılmaktadır. Bitkilerden elde edilen besin maddelerinin, özel tat ve aromaları bu maddelerden kaynaklanmakta ve böylece bu maddeler insan yaşamına tat ve renk katmaktadır. İkincil ürünlerin bir diğer ve çok önemli yararlanma alanları bitkilerin tedavi amaçlı kullanımının bu maddelere dayanmasıdır. İnsanoğlu, bitkileri ve dolayısıyla ikincil ürünleri iyi veya kötü amaçlı olarak yüzyıllardır kullanmıştır. Günümüzde de ikincil ürünler; ilaç, kozmetik, tarımsal kimyasallar, gıda katkı maddeleri gibi birçok sektör için önemli olan değerli ham maddelerdir. Bitkiler âleminde 100.000 kadar ikincil üründen söz edilirken, bu sayının ancak yarısının kimyasal yapılarının tanımlanabildiği ve halen bilinmeyenlerle

birlikte, bitkilerin eşsiz bir kimyasal çeşitlilik sunarak yukarıda belirtilen sektörler için değerli ham madde kaynakları olduğu kabul edilmektedir. Günümüzde ilaç sektörüne konu olan kimyasalların %25'inin bitki kökenli ham maddelere dayandığı dikkate alındığında, doğal bitkisel kaynakların yüksek getirili ekonomik değerler olduğu açıkça ortaya çıkmaktadır [1, 4].

Bu çalışmada; önemli bir sofralık üzüm çeşidi olan Alphonse Lavallée çeşidinin 3 farklı (Efemçukuru-İzmir, Kalecik-Ankara, Merkez-Tekirdağ) bölgeden alınan örneklerinde toplam fenolik bileşik, antioksidan aktivite, toplam antosiyanin analizleri yapılmış ve asmalar farklı bölgelerde yetiştirildiğinde farklı ekolojik koşullara maruz kaldığından ikincil ürünlerinde meydana gelen miktar farklılıklarının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışma Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde 2011–2012 yıllarında yürütülmüştür. Materyal olarak Alphonse Lavallée (*Vitis vinifera* L.) çeşidine ait üzüm örnekleri Efemçukuru-İzmir (hasat tarihi: 21.09.2011, yükseklik: 750 m), Kalecik-Ankara (hasat tarihi: 14.09.2011, yükseklik: 729 m) ve Merkez-Tekirdağ (hasat tarihi: 19.09.2011, yükseklik: 123 m) bölgelerinden temin edilmiştir. Teknolojik olgunluk döneminde hasat edilen üzümler soğutucu kutulara koyulmuş, üzümler en geç bir gün sonra Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ulaştırılmışlardır. Tesadüfen seçilen 5 kg üzüm örneği, çekirdek ve kabuk dokularına ayrılıp kilitli poşetlere koyulmuş ve analiz işlemleri başlayana kadar –80°C'de dondurularak muhafaza edilmiştir.

Metot

Bitkisel materyalin liyofilizasyon işlemi

–80°C'de dondurulan bitkisel materyal dokuları 0.002 mbar basınç altında –87°C sıcaklıkta 72 saat liyofilize edilmiştir. Liyofilizasyon işlemi “Labconco” marka “Freezone 2.5 Liter” model liyofilizatör cihazı

ile gerçekleştirilmiştir. Liyofilizasyon işlemi sonucu çekirdek %30–40, kabuk %60–70 oranında su kaybetmiştir.

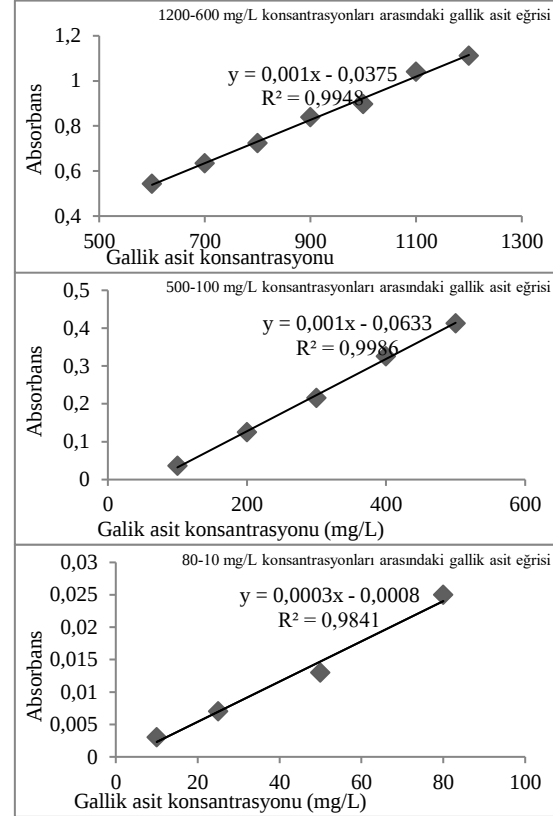
Toplam fenolik bileşik, toplam antosiyanin ve antioksidan aktivite analizleri için fenolik bileşiklerin ekstraksiyon yöntemi

Fenolik bileşiklerin çekirdek ve kabuk dokularından ekstraksiyonu Waterhouse'a göre modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Liyofilizasyon sonrası ezilerek toz haline getirilen örneklerden 0.5'er gr çekirdek ve kabuk örnekleri tartılarak santrifüj tüplerine alınmıştır. Üzerlerine 10 mL metanol eklenerek 3 dakika homojenizatörde parçalanmış, sonrasında ise 10 dakika süre ile 3000 rpm'de santrifüj edilmişlerdir. Santrifüj edilen örneklerin süpernatant kısmı rotary balonlarına alınmış ve 40°C'lik rotary evaporatörde solvent uçurma işlemi gerçekleştirilmiştir. Son olarak ise ultrasonik banyoda %0.01'lik hidroklorik asitle alınan ekstraktların son hacmi 25 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar spektrofotometre analizlerinde kullanılmışlardır [7].

Toplam fenolik bileşik analizi

Alphonse Lavallée (*Vitis vinifera* L.) çeşidine ait çekirdek ve kabuklarda toplam fenolik bileşik analizleri Singleton ve Rossi'ye göre modifiye edilerek yapılmıştır. Metodun ilkesi fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin Ciocalteu ayracını indirgeyip kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyona dayanmaktadır. Reaksiyon sonucunda indirgenmiş ayracın oluşturduğu mavi rengin fotometrik olarak ölçülmesiyle, analizi yapılan örnekteki fenolik bileşiklerin toplam miktarları hesaplanmaktadır. Toplam fenolik bileşik analizi için önce %20'lik doymuş sodyum karbonat çözeltisi hazırlanmıştır. Analiz için cam tüplere 7.5 mL saf su koyulmuş, üzerine 100 µL ekstrakt eklenmiştir. Şahit için ekstrakt yerine 100 µL saf su kullanılmıştır. Daha sonra 500 µL Folin Ciocalteu (Sigma) ayracı eklenerek 3 dakika beklenmiş, 3 dakika sonunda hazırlanan sodyum karbonat çözeltisinden 1 mL eklenerek tüplerin son hacmi 10 mL'ye tamamlanmış ve tüpler vorteks cihazı yardımı ile karıştırıldıktan sonra karanlıkta 1 saat bekletilmişlerdir. Okumalar "Analitik Jena"

marka "Specord 200" model spektrofotometre cihazı ile 765 nm dalga boyunda yapılmıştır [6].



Şekil 1. Gallik asit standart eğrileri
Figure 1. Gallic acid standard curves

Sonuçların hesaplanması için 1200, 1100, 1000, 900, 800, 700, 600 mg/L ($R^2=0.9948$) konsantrasyonlarında, 500, 400, 300, 200, 100 mg/L ($R^2=0.9986$) konsantrasyonlarında ve 80, 50, 25, 10 mg/L ($R^2=0.9841$) konsantrasyonlarında gallik asit çözeltileri hazırlanmıştır. Örneklerle uygulanan spektrofotometrik uygulamalar gallik asit standartlarına da uygulanmış ve absorbans değerleri gallik asit konsantrasyonlarına karşı grafiğe alınmıştır. Elde edilen verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak, gallik asit standart eğrilerine ve bu eğrileri tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneklerin konsantrasyonlarına uygun R^2 denklemi seçilerek sonuçların doğruluğunu artırmak amaçlı her okuma uygun denklemde hesaplanmıştır. Standart eğrilerin denklemlerinden elde edilen değer seyreltme

faktörüyle çarpılarak çekirdek ve kabuklarda bulunan miktarlar mg/kg gallik asit biriminden kuru ağırlık (KA) olarak verilmiştir.

Toplam antosiyanin analizi

Alphonse Lavallée (*Vitis vinifera* L.)'ya ait kabuklarda toplam antosiyanin analizleri Giusti ve Wrolstad tarafından geliştirilen pH differansiyel metodu ile gerçekleştirilmiştir. Toplam antosiyanin miktarları üzümde baskın bulunan malvidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır. Metodun ilkesi antosiyaninlerin pH 1.0'de renkli formunun, pH 4.5'de ise renksiz formunun baskın olmasına dayanmaktadır. Buna göre ortam pH 1.0 ve pH 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır. Bu amaçla pH'sı 1.0 olan 0.025 M potasyum klorür tampon çözeltisi ve pH'sı 4.5 olan 0.4 M sodyum asetat tampon çözeltisi hazırlanmış ve elde edilen çözeltiler en fazla bir ay analizlerde kullanılmıştır. Antosiyaninlerin ölçümü ekstraktların tampon çözeltiler ile spektrofotometrenin linear sınırları (0.4–0.6) içerisinde kalacak şekilde seyreltilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Okumalar "Analytik Jena" marka "Specord 200" model spektrofotometre cihazı ile 520 ve 700 nm'de mikro küvetlerde yapılmış ve sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanarak kabuklarda mg/kg kuru ağırlık olarak verilmiştir [3].

$$\text{Toplam antosiyanin miktarı (mg/L)} = \frac{A \times MW \times SF \times 1000}{\varepsilon \times L}$$

A: Absorbans farkı (pH 1.0 ve 4.5 değerlerinde ölçülen absorbans farkı)

MW: Baz olarak alınacak antosiyaninin molekül ağırlığı

SF: Seyreltme faktörü

ε : Molar absorpsiyon katsayısı

L: Absorbans ölçüm küvetinin tabaka kalınlığı (cm)

Antioksidan aktivite analizi

Alphonse Lavallée (*Vitis vinifera* L.)'ya ait çekirdek ve kabuklarda antioksidan aktivite tayini TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Activity) yöntemi ile Re ve ark. (1999)'a göre gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilenbenzotiazolin-6-sulfonik asit) diammonium salt)'nin oksidasyonu

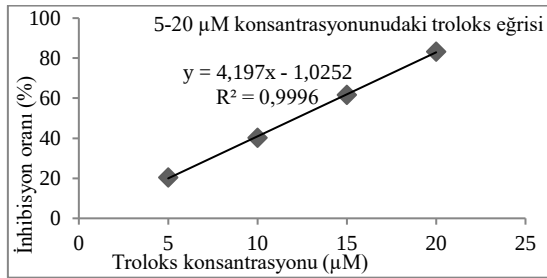
üretilen ABTS^{•+} radikal çözeltisi üzerine, antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu radikalın indirgenmesi temeline dayanmaktadır. Mavi/yeşil renkli ABTS^{•+} radikali 600–750 nm dalga boyunda kuvvetli bir absorpsiyon vermekte ve spektrofotometrede kolaylıkla belirlenebilmektedir. ABTS^{•+} radikali antioksidan bir bileşikle reaksiyona girdiğinde bu radikal, ABTS'nin renksiz formuna çevrilmiştir. Reaksiyon sonucu harcanan ABTS^{•+} miktarı ise troloks eşdeğeri olarak hesaplanmakta ve sonuç TEAC değeri (Trolox Equivalent Antioxidant Activity) olarak ifade edilmektedir. Bu amaçla 2.45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM'lık ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilenbenzotiazolin-6-sulfonik asit) diammonium salt) ≥ 98 -Sigma A1888) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, 20°C'ye ayarlı etüvde 12–16 saat arasında bekletilerek, ABTS^{•+} radikalının oluşması sağlanmıştır ve en fazla 2 gün analizlerde kullanılmıştır. ABTS ve ekstraktların seyreltilmesi amacıyla 0.1 M fosfat tamponu üzerine 8.77 g NaCl eklenerek 1 L'ye saf suyla tamamlanmış ve pH'sı 7.4 olan PBS (phosphate buffer saline) çözeltisi elde edilmiştir [5].

Örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin (PBS) aynı anda konulabildiği çift huzmeli (double beam) spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Absorbans ölçümleri 734 nm'de 1.5 mL hacimde 1 cm ışık yolu uzunluğunda tek kullanımlık mikro küvetlerde yapılmıştır. Analize başlamadan önce ABTS^{•+} radikal çözeltisinden 1 mL alınarak 734 nm'de absorbans değeri 0.700 ± 0.02 olacak şekilde yaklaşık 90–100 mL PBS ile seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ABTS^{•+} radikal çözeltisinden 1 mL mikro küvete alınmış, PBS çözeltisine karşı okuma yapmak üzere spektrofotometreye yerleştirilmiş ve başlangıç absorbans değeri belirlenmiştir. Daha sonra küvet içeriği 1 mL olacak şekilde, mikro küvete eklenen 990 μ L radikal çözeltisi üzerine örnekten 10 μ L eklenir eklenmez kronometre çalıştırılmıştır. Ekstraktlarında bulunan antioksidan bileşikler, radikal çözeltisinin rengini gittikçe açarak 6 dakikalık süreçte absorbans değerleri zamana bağlı olarak düşmüştür. 6. dakika sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı

(inhibisyon oranı) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Inhibisyon oranı (\%)} = \frac{\text{Başlangıç absorbens değeri} - \text{Son absorbens değeri}}{\text{Başlangıç absorbens değeri}}$$

10 µL örnek alınarak yapılan bu işlemler en az 3 kez tekrarlanmış ve inhibisyon oranları hesaplanarak bunların ortalaması alınmıştır. Daha sonra, örnek hacmi değiştirilerek 20 ve 30 µL hacimlerde aynı işlemler tekrarlanmıştır. Her defasında kuvvet içeriği 1 mL olacak şekilde farklı miktarlarda radikal çözeltisi eklenmiştir. 20 ve 30 µL örnek hacimlerine karşı, sırasıyla 980 ve 970 µL radikal çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek hacimlerine (10, 20 ve 30 µL) karşı bir grafiğe aktarılmış ve bu verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır.



Şekil 2. Troloks standart eğrisi
Figure 2. Trolox standard curve

Analize başlamadan önce 2.5 mM troloks stok çözeltisinden 10 mL'lik 4 ölçü balonuna sırasıyla 2, 4, 6 ve 8 mL alınıp balonlar PBS çözeltisi ile hacme tamamlanarak, standart çözeltiler elde edilmiştir. Bu çözeltilerden 10'ar µL alınıp, mikro kuvvetler içindeki 1'er mL radikal çözeltisine eklediğinde, sırasıyla 5, 10, 15 ve 20 µM konsantrasyonlarda troloks içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Örnekler üzerine uygulanan spektrofotometrik uygulamalar troloks (R-(+)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid %98-Aldrich 391913) standartlarına da uygulanmış, ortalama inhibisyon değerleri hesaplanarak troloks konsantrasyonuna karşı grafiğe işlenmiştir. Elde edilen verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak, troloks standart eğrisine ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Sonuçlar

TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity-troloks eşdeğer antioksidan aktivite) değeri olarak ifade edilmiştir. Bu değer, örneğe ait yüzde inhibisyon eğrisinin eğiminin, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanmasıyla elde edilmiştir. Elde edilen eğim değeri, seyreltme faktörü ile de çarpılarak örneklerin antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Sonuçlar çekirdek ve kabuklarda µmol trolox/g kuru ağırlık cinsinden verilmiştir. Troloks standardına ait standart eğri Şekil 2'de verilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar ANOVA ile değerlendirilmiş ve önemli bulunan farklılıklar için Duncan testi yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Toplam Fenolik Bileşik Analiz Sonuçları

Alphonse Lavallée çeşidinin alındığı üç bölge içerisinde çekirdek (83250 mg/kg KA) Efemçukuru-İzmir ve kabuk (47275 mg/kg KA) Merkez-Tekirdağ'da en yüksek toplam fenolik bileşik içerikleri belirlenmiştir.

Toplam Antosiyanin Analiz Sonuçları

Üç farklı bölgeden alınan Alphonse Lavallée çeşidinde en yüksek toplam antosiyanin değeri Merkez-Tekirdağ (23583 mg/kg KA) bölgesine aittir (Çizelge 2).

Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

Üç farklı bölgeden alınan Alphonse Lavallée çeşidinde antioksidan aktivite değerleri arasında en yüksek olanlar çekirdekte sırasıyla 723.7 µmol/g troloks KA ve 713.7 µmol/g troloks KA değerleri ile Efemçukuru-İzmir ve Kalecik-Ankara, kabukta ise 4846.0 µmol/g troloks KA değeri ile Merkez-Tekirdağ bölgesidir (Çizelge 3).

Bu çalışmada olduğu gibi, liyofilize edilmiş bitkisel materyal ile gerçekleştirilen araştırmalar sayıca azdır. Araştırma sonuçları liyofilize örnek ile çalışılmış olan Yılmaz ve Toledo, Bozan ve arkadaşları ile Xu ve ark.'nın çalışmaları ile uyumludur [2, 8, 9].

Yılmaz ve Toledo tarafından yapılan çalışmada ekstraksiyon sırasında kullanılan farklı solvent tiplerinin Muscadine, Merlot ve Chardonnay üzüm çeşitlerinde toplam fenolik içerikleri üzerindeki etkisine bakılmış ve

sonuçta bu içerikler Muscadine çeşidinin çekirdeklerinde 32.13 mg GAE/g KA, Merlot çeşidinin çekirdeklerinde 38.45 mg GAE/g KA ve Chardonnay çekirdeklerinde ise 52.67 mg GAE/g KA olarak bulunmuştur. Merlot ve Chardonnay üzüm çeşitlerinin kabuklarında ise bu değerler sırasıyla 14.99 mg GAE/g KA ve 20.30 mg GAE/g KA olarak bulunmuştur. Yapılan tez çalışmasında Merlot çeşidi çekirdeklerinde bölgelere göre değişmekle birlikte 55850–89250 mg GAE/kg KA değerleri arasında bulunmuştur. Kabukta ise; yine bölgelere göre değişmekle birlikte 16825–27925 mg GAE/kg KA arasında değerler bulunmuştur [9].

2008 yılında Merlot, Cabernet Sauvignon, Cinsault, Papaz Karası, Ada Karası, Hamburg Misketi, Alphonse Lavallée, Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik Karası üzüm çeşitlerinin liyofilize edilmiş çekirdeklerinde gerçekleştirilen fenolik bileşik analiz sonuçlarına göre en yüksek toplam fenolik bileşik 154.6 mg GAE/g olarak Papaz Karası çeşidinde belirlenmiştir. Tez çalışmasındaki çeşitler Merlot, Cabernet Sauvignon, Hamburg Misketi, Alphonse Lavallée, Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik Karası çekirdeklerinde ise bu değer sırasıyla 105.7 mg GAE/g, 103.7 mg GAE/g, 104.4 mg GAE/g, 105.3 mg GAE/g, 139.4 mg GAE/g, 94.2 mg GAE/g ve 136.2 mg GAE/g olarak belirlenmiştir [2]. Çizelgelere bakıldığında çalışmada bulunan değerlerin kaynaktaki değerlere yakın olduğu görülmektedir.

Çizelge 1. Farklı bölgelerden alınan Alphonse Lavallée üzümüne ait kabuk ve çekirdeklerin toplam fenolik bileşik içerikleri (mg/kg KA)^z

Table 1. Total phenolic compound contents of skin and seeds of Alphonse Lavallée grape from different regions (mg/kg DW)^z

Bölgeler Regions	Toplam fenolik bileşik içeriği (mg/kg KA) Total phenolic compound content	
	Kabuk / Skin	Çekirdek / Seeds
Efemçukuru–İzmir	18650±25c	83250±500a
Kalecik–Ankara	35300±1025b	72950±1500b
Merkez–Tekirdağ	47275±650a	63900±1150c

^zP<0.05: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark Duncan testine göre önemlidir.

^zDifferences between the means indicated by different letters in same column is important at 5% level

Çizelge 2. Farklı bölgelerden alınan Alphonse Lavallée üzümüne ait kabuklardaki toplam antosiyanin değerleri (mg/kg KA)^z

Table 2. Total anthocyanin values in the skin of Alphonse Lavallée grape from different regions (mg/kg DW)^z

Bölgeler Regions	Toplam antosiyanin (mg/kg KA) Total anthocyanin
Efemçukuru–İzmir	7635±105.750c
Kalecik–Ankara	14206±0.0b
Merkez–Tekirdağ	23583±10.134a

^zP<0.05: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark Duncan testine göre önemlidir.

^zDifferences between the means indicated by different letters in same column is important at 5% level

Çizelge 3. Farklı bölgelerden alınan Alphonse Lavallée üzüm çeşidinin kabuk ve çekirdeklerindeki antioksidan aktivite (µmol/g troloks KA)^z

Table 3. Antioxidant activity in skin and seeds of Alphonse Lavallée grape variety from different regions (µmol/g troloks DW)^z

Bölgeler Regions	Antioksidan aktivite (µmol/g troloks KA) Antioxidant activity	
	Kabuk	Çekirdek
Efemçukuru–İzmir	163.5±0.745c	723.7±15.722a
Kalecik–Ankara	3824.0±12.495b	713.7±1.656a
Merkez–Tekirdağ	4846.0±16.723a	601.4±0.10b

^zP<0.05: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark Duncan testine göre önemlidir.

^zDifferences between the means indicated by different letters in same column is important at 5% level

18 üzüm çeşidine ait liyofilize edilmiş kabuk ve çekirdeklerde gerçekleştirilen bir diğer çalışmada toplam fenolik bileşik içeriği çekirdekte en yüksek Cabernet Sauvignon çeşidinde 99.28 mg GAE/g KA, kabukta en yüksek Sangye çeşidinde 41.21 mg GAE/g KA; toplam antosiyanin en yüksek 235 mg/g KA; antioksidan aktivite çekirdekte en yüksek Cabernet Sauvignon çeşidinde 649.85 µmol TE/g KA, kabukta en yüksek Black Pearl çeşidinde 368.67 µmol TE/g KA olarak bulunmuştur [8].

SONUÇ

Son 20 yıldır özellikle insan sağlığı açısından yararlarının anlaşılması ile birlikte üzerindeki çalışmaların yoğunluk kazandığı fenolik bileşiklerin farklı dokulardaki

miktarları; yetiştirildiği bölge, yetiştiricilik koşulları, kültürel işlemler, iklim faktörleri, fenolik bileşiklerin belirlenmesi sırasında kullanılan ekstraksiyon yöntemleri gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Çalışma ile farklı bölgelerde ticari olarak yoğun bir şekilde yetiştiriciliği yapılan, doğrudan tüketim (sofralık) ya da şarap üretimine yönelik olarak üretilen Alphonse Lavallée çeşidinin çekirdek ve kabuklarının fenolik bileşikler, antioksidanlar ve antosiyaninler açısından oldukça zengin olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Bourgaud, F., A. Gravot, S. Milesi and E. Gontier, 2001. Production of Plant Secondary Metabolites: A Historical Perspective. *Plant Sci.* 161:839–851.
2. Bozan, B., G. Tosun and D. Özcan, 2008. Study of Polyphenol Content in the Seeds of Red Grape (*Vitis vinifera* L.) Varieties Cultivated in Turkey and Their Antiradical Activity. *Food Chemistry* 109(2008):426–430.
3. Giusti, M. and R. Wrolstad, 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV–Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, F1.2.1–F1.2.13
4. Oksman Caldentey, K.M. and D. Inzé, 2004. Plant Cell Factories in the Post–Genomic Era: New Ways to Produce Designer Secondary Metabolites. *Trends Plant Sci.* 9:433–440.
5. Re R., Pellegrini, N., A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice–Evans, 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Biol. Med.* 26: 1231–1237.
6. Singleton, V.L. and J.J.A. Rossi, 1965. Colorimetric of Total Phenolics with Phosphomolybdic–Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J. Enol Vitic* 16(3):144–158.
7. Waterhouse, A.L., 2005. Determination of Total Fenolics, in *Handbook of Food Analytical Chemistry*, (Ed. by Wrolstad R.E., Acree T.E., Decker E.A., Penner M.H., Reid D.S., Schwartz S.J., Shoemaker C.F., Smith D.M., Sporns P.) John Wiley & Sons Inc; New Jersey, p:463–470.
8. Xu, C., Y. Zhang, L. Cao and J. Lu, 2010. Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Different Grape Cultivars Grown in China. *Food Chemistry* 119(2010):1557–1565.
9. Yılmaz, Y. and Toledo, 2006. Oxygen Radical Absorbance Capacities of Grape/Wine Industry Byproducts and Effect of Solvent Type on Extraction of Grape Seed Polyphenols. *T. Journal of Food Composition and Analysis* 19:41–48.