

ÜZÜMLERDE VE ŞARAPLARDA RESVERATROL OLUŞUMU

THE OCCURRENCE OF RESVERATROL IN GRAPES AND WINES

Feryal KARADENİZ

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, ANKARA

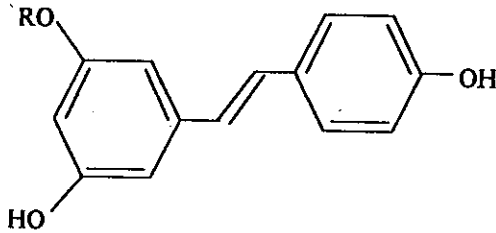
ÖZET: Resveratrol, üzüm bağlarında, küf enfeksiyonuna karşı oluşturulan bir fitoaleksindir. Bazı hastalıklara karşı koruyucu özelliği olması nedeniyle, üzüm ve şaraplardaki resveratrole karşı ilgi giderek artmaktadır. Trombosit toplanmasını ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu engellemekte, triaçilgliserol düzeyini azaltmakta ve karaciğeri lipit peroksidasyonundan korumaktadır. Yetiştirme yöreni, varyete, yetiştirme tekniği üzüm ve şaraplardaki resveratrol konsantrasyonunu etkilemektedir.

ABSTRACT: Resveratrol is a phytoalexin produced by grapevines in response to fungal infection. There has been a great interest in the presence of resveratrol in grapes and wine for its protective effect against some disease. It inhibits platelet aggregation and the oxidation of low-density lipoprotein (LDL) oxidation, it reduces the levels of triacylglycerol, and it protects the liver from lipid peroxidation. Geographical origin, variety, growing methods affect resveratrol concentration in grapes and wines.

GİRİŞ

Resveratrol *Vitis* cinsinde belirlenen ikincil bir metabolittir. İlk olarak 1976 yılında üzüm yapraklarında ve daha sonra ise üzüm tanelerinde saptanmıştır. Yer fıstığı ve çam gibi daha bir çok bitki türünde de bulunduğu bildirilmektedir (WATERHOUSE ve LAMUELA-RAVENTOS, 1994). Biyotik ya da abiyotik stresten sonra üzüm taneleri ve yaprakları tarafından sentezlenen (PEZET ve ark., 1994) resveratrol; küf enfeksiyonuna ve özellikle de gri küf oluşumuna neden olan *Botrytis cinerea*'ya karşı sentezlenen bir fitoaleksindir. Ayrıca UV-radyasyon da resveratrol oluşumuna neden olan etkenlerdendir (JEANDET ve ark., 1991). Fitoaleksinler düşük molekül ağırlıklı kimyasallar olup, mikroorganizmaları inhibe etmekte ve ayrıca oluşumları bitkinin mikroorganizma ile teması sonucu hızlanmaktadır (SIEMANN ve CREASY, 1992).

Resveratrol (*trans*-3,4',5-trihidroksistilben) ve resveratrol'ün glikoziti olan piceid (3,4',5-trihidroksistilben-3-β mono-D-glukozit)'in kimyasal formülü Şekil 1'de görülmektedir. Bir çok biyolojik test sonucunda, bu bileşiklerin özellikle kalp hastalığı oranını azalttığı bildirilmektedir. Trombosit toplanmasını engellediği (KIMURA ve ark., 1985), düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu önlediği (FRANKEL ve ark., 1993), triaçilgliserol düzeyini düşürdüğü ve karaciğeri lipit peroksidasyonundan koruduğu, LAMUELA-RAVENTOS ve ark. (1995) tarafından aktarılmaktadır (SHAN ve ark., 1990). Kırmızı şarabın sağlık üzerine olumlu etkisinin flavonoidlerle birlikte resveratrol'den kaynaklandığı bildirilmektedir (FRANKEL ve ark., 1993).



R = H, resveratrol (*trans*-3,4',5-trihidroksistilben)

R = Glukoz, piceid (3,4',5-trihidroksistilben-3-β-mono-D-glukozit)

Şekil 1. Resveratrol ve piceid'in kimyasal formülü (WATERHOUSE ve LAMUELA-RAVENTOS, 1994)

Ülkemizde sivri uçlu çoban deneği olarak adlandırılan *Polygonum cuspidatum* (Knot weed) bitkisinin kökünün toz haline getirilip kurutulmasıyla elde edilen ve "kojo-kon" olarak adlandırılan ilaç, Çin ve Japonya'da uzun yıllardır halk arasında hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Damar tıkanıklığı, cilt iltihabı, bel soğukluğu, alerjik ve iltihaplı diğer bir çok hastalığın tedavisinde kullanılan bu ilacın etken madde-

sinin resveratrol olduğu bildirilmektedir (PEZET ve CUENAT, 1996; GOLDBERG ve ark., 1996; OKUDA ve YOKOTSUKA, 1996).

Resveratrol oluşumu küf enfeksiyonu ile ilgili olduğundan başlangıçtaki çalışmaların büyük çoğunluğu *Botrytis cinerea* üzerinde yoğunlaşmıştır (LAMUELA-RAVENTOS ve WATERHOUSE, 1993, JEANDET ve ark., 1995a, JEANDET ve ark., 1995b). Ancak son zamanlarda bu bileşiğin sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı, üzüm ve şaraptaki konsantrasyonları detaylı olarak araştırılmaya başlanmıştır.

Bu makalede, sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle gün geçtikçe popüler hale gelen ve fenolik bileşikler grubuna ait olan resveratrol ve resveratrol glikozit olan piceid ya da diğer adıyla polydatin'in üzümlerde ve şaraplardaki konsantrasyonları ve bunu etkileyen faktörler değerlendirilmektedir.

Üzümlerde Resveratrol

Üzümlerde resveratrol sentezinin özellikle kabuk kısmında yer aldığı, meyve etinde ya çok düşük konsantrasyonda bulunduğu ya da hiç olmadığı ifade edilmektedir. Bu durum, üzümlerin küflenmeye karşı dirençlerinin özellikle kabuk kısmında oluştuğunu göstermektedir (JEANDET ve ark., 1991).

16 beyaz üzüm varyetesinde ortalama resveratrol miktarı taze ağırlıkta kabukta 4.11 µg/g iken tanede 0.51 µg/g olarak belirlenmiştir. 17 farklı pembe ve kırmızı üzüm varyetesinde ise ortalama değerler kabukta ve tanede sırasıyla 3.93 µg/g ve 0.49 µg/g olarak saptanmıştır (OKUDA ve YOKOTSUKA, 1996). Bir başka çalışmada, kabuk kısmında resveratrol konsantrasyonu kuru ağırlıkta, Pinot noir, Syrah ve Concord üzümlerinde sırasıyla 41.1, 11.3, 9.3 µg/g olarak belirlenmiştir (WATERHOUSE ve LAMUELA-RAVENTOS, 1994). Gamay üzüm kabuklarında *trans*- ve *cis*- resveratrol konsantrasyonu ise taze ağırlıkta sırasıyla 6.83 ve 8.00 µg/g olarak saptanmıştır (PEZET ve CUENAT, 1996).

Kabuktaki piceid konsantrasyonu ise kuru ağırlıkta; pinot noir varyetesinde 7.1-187 µg/g arasında değişim göstermekteyken, Syrah'ta 2.8 µg/g olarak belirlenmiş ancak, Concord varyetesinde saptanmamıştır. Dolayısıyla bu glikozitin oluşumu ve yok olmasının bitkinin strese olma durumu ve resveratrolün biyosentezi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (WATERHOUSE ve LAMUELA-RAVENTOS, 1994).

Üzüm çekirdeğindeki resveratrol miktarı çok fazla araştırılmamıştır. Resveratrolün, *V. vinifera* ve *V. labrusca* üzüm tanelerinin meyve eti kısmında değil, yalnızca kabuk kısmında sentezlendiği bildirilmektedir. Bu üzüm türlerinin aksine, Muscadinia alt cinsine giren muscadine (*Vitis rotundifolia*) üzüm çekirdeklerinin yüksek konsantrasyonda resveratrol içerdiği belirlenmiştir. Siyah muscadine üzümlerinde toplam resveratrolün %76.6'sının tane kısmında (çekirdeksiz) ve %23.4'lük kısmının ise çekirdeklerde yer aldığı saptanmıştır (ECTOR ve ark., 1996). PEZET ve CUENAT (1996) tarafından gamay üzümlerinde yapılan çalışmada ise, üzüm tanelerinin çekirdeklerinde belirlenen *trans*-ve *cis*- resveratrol konsantrasyonunun taze ağırlıkta sırasıyla 3.93 ve 8.18 µg/g olduğu ifade edilmektedir.

Üzüm tanelerinin resveratrol içeriği yeşil aşamadan tam olgunluk aşamasına geçiş süresince gittikçe azalmakta ve olgun meyvede neredeyse tamamen yok olmaktadır. Yani, üzüm tanelerinin gelişim aşaması ile, üzüm kabuğundaki resveratrol arasında negatif bir korelasyon bulunmaktadır. Olgunlaşma sırasında resveratrol konsantrasyonundaki azalma; tanelerin olgunlaşma düzeylerinin bir ölçütü olan meyvenin şeker konsantrasyonu ile üzüm kabuğundaki resveratrol miktarı arasındaki negatif korelasyon ($r = -0.857$) ile de belirlenmiştir (JEANDET ve ark., 1991).

Şaraplarda resveratrol ve prosesin resveratrol üzerine etkisi

Japonya'nın farklı bölgelerinden temin edilen üzümlerden yapılan şaraplarda resveratrol konsantrasyonu 1-244 µg/L arasında değişmekte olup, en fazla resveratrol kırmızı şaraplarda bulunmaktadır (ortalama 157 µg/L) (Çizelge 1). Resveratrol konsantrasyonu kırmızı şaraplarda beyaz şaraplara kıyasla yaklaşık 6 kat daha fazladır (OKUDA ve YOKOTSUKA, 1996).

Çizelge 1. Japonyanın Farklı Bölgelerinden Temin Edilen Üzümlerden Üretilen Şaraplarda Resveratrol Konsantrasyonu (OKUDA ve YOKOTSUKA, 1996)

	Resveratrol ($\mu\text{g/L}$)		
	Minimum	Maksimum	Ortalama
Beyaz şarap (n = 10)	1 \pm 1	80 \pm 36	27
Kırmızı şarap (n = 9)	24 \pm 12	244 \pm 48	157
Pembe şarap (n=2)	3 \pm 0	6 \pm 5	5

Hasat zamanında hastalığa karşı oluşturulan direnç incelendiğinde; yalnızca *Bortytis* gelişimi ele alınırsa, beklenenin aksine orta düzeyde ya da yüksek düzeyde *Bortytis* ile enfekte olan bağlarda resveratrol içeriği daha düşük bulunmuştur. Yani, az miktarda hastalığın bulunduğu yıllar, şaraplarda maksimum resveratrol miktarı ile sonuçlanmaktadır.

Bunun nedeni, *Bortytis* ile enfekte olan üzümlerdeki resveratrolün *Bortytis*'in ekzoselüler enzimleri (örneğin; lakkaz benzeri stilben oksidaz) tarafından degradasyona uğramasıdır. Cibrede de aktif olan bu enzim elde edilen şaraptaki resveratrol miktarını azaltabilmektedir. Buna karşın, daha düşük miktarda *Bortytis* ile enfekte olmuş bağlarda, daha yüksek resveratrol içeriği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Bortytis* enfeksiyonu, yüksek miktarda resveratrol içeren şarap üretimi için gereklidir. Ancak, hasattan önce aşırı miktarda *Bortytis* gelişiminin, şaraptaki resveratrol miktarını azaltabileceği bildirilmektedir (JEANDET ve ark., 1995b.) Toplam *cis*- ve *trans*-resveratrol miktarı *Bortytis* den %40 ve %80 oranında etkilenen üzümlerden elde edilen şaraplarda en az iken (sırasıyla 2.02 \pm 0.5 ve 1.01 \pm 0.15 mg/L) sağlıklı üzümlerden ve *Bortytis*'ten yalnızca %10 düzeyinde etkilenen üzümlerden üretilen şaraplarda daha fazla miktarda (sırasıyla 2.71 \pm 0.24 ve 3.88 \pm 0.1 mg/L) belirlenmiştir (JEANDET ve ark., 1995a). Yine, *Bortytis* ile enfekte olmuş ve geç hasat edilen iki üzüm çeşidinden üretilen şaraplarda resveratrol içeriği beklenenin aksine Sautemes varyetesinde çok düşük miktarda ve Chardonnay'da ise hiç belirlenmemiştir. Ancak, daha önceden de belirtildiği gibi üzümlerin olgunlaştıkça resveratrol üretme kapasiteleri azalmaktadır. Dolayısıyla bu kadar geç bir dönemde hasat edilen üzümlerde çok fazla enfekte olan kısımlarda dahi, resveratrol oluşturma kapasitesi yok denecek kadar azdır (LAMUELA-RAVENTOS ve WATERHOUSE, 1993).

Şarabın olgunlaştırılmasının şaraptaki resveratrol konsantrasyonuna etkisi incelendiğinde, resveratrolün şarapta stabil olduğu görülmektedir. Nitekim, bazı olgun şaraplar, taze şaraplara nazaran daha yüksek konsantrasyonda resveratrol içermektedir. Örneğin; resveratrol konsantrasyonu, 1982 de üretilen şarapta 2.11mg/L iken, 1991 de üretilen şarapta 1.49 mg/L olarak saptanmıştır (JEANDET ve ark., 1995b). Resveratrol üretiminin üzüm varyetesine bağlı olduğu açıktır ve dolayısıyla bunların biyosentezi de genetik kontrol altındadır (LAMUELA-RAVENTOS ve ark., 1995). Aynı koşullarda yetiştirilmelerine ve aynı işlemlere tabi tutulmalarına rağmen, farklı varyetelerden üretilen şarapların resveratrol içeriklerinin farklı olduğu görülmektedir. Kırmızı üzümlerden üretilen şaraplar (Pinot noir), beyaz üzümlerden (Chardonnay blanc) üretilen şaraplara kıyasla yaklaşık 3 kat daha fazla resveratrol içermektedirler. Bu sonuç ise; küf enfeksiyonuna karşı resveratrol sentezleme üzerine varyete farklılığının önemini ortaya koymaktadır (JEANDET ve ark., 1995a). Siyah muscadine üzümleri, diğer muscadine üzümlerine kıyasla, çok az farkla olsa bile daha yüksek konsantrasyonda resveratrol içermektedir. Dolayısıyla, siyah muscadine üzümlerinden elde edilen şaraplar da diğer üzümlerden üretilen şaraplara kıyasla daha fazla resveratrol içermektedir (ECTOR ve ark., 1996).

Üzüm varyetesinin yanısıra, üzümlerin nasıl yetiştirildiği de şaraptaki resveratrol konsantrasyonu açısından önemlidir. Özellikle yetiştirme periyodundaki hava durumunun büyük rolü olduğu düşünülmektedir (SIEMAN ve CREASY, 1992). Dünyadaki diğer bölgelere kıyasla İspanyol şaraplarında belirlenen yüksek *trans*- resveratrol miktarı da, çevresel faktörlerin resveratrol miktarı üzerine etkili olduğunu göstermektedir (Çizelge 2). Genel olarak *trans/cis* oranının yüksek olması, resveratrolün *trans* formunda oluştuğu ve *cis* izomerinin ise *trans* izomerden izomerizasyon yolu ile oluştuğu şeklinde yorumlanmaktadır (LAMUELA-RAVENTOS ve ark., 1995).

Çizelge 2. İspanyol Kırmızı Şaraplarında Belirlenen Resveratrol ve Piceid İzomerleri (LAMUELA-RAVENTOS ve ark., 1995)

Şarap varyetesi	Örnek sayısı	Piceid (mg/L)			Resveratrol (mg/L)			Toplam
		<i>trans</i> -	<i>cis</i> -	<i>trans</i> -/ <i>cis</i> -	<i>trans</i> -	<i>cis</i> -	<i>trans</i> -/ <i>cis</i> -	
Pinot noir	2	2.46	0.68	3.62	5.13	1.12	4.58	9.39
Merlot	4	2.98	1.17	2.55	3.99	1.05	3.80	9.19
C. sauvignon	4	1.07	0.45	2.38	1.42	0.29	4.90	3.23
Tempranillo	6	1.13	0.69	1.64	1.33	0.28	4.75	3.43
Grenache	2	2.63	0.88	2.99	2.43	0.43	5.65	6.37
Ortalama	18	1.85	0.76	2.43	2.48	0.56	4.43	5.65

Trans-izomerleri UV ışık altında *cis*-formuna dönüşmektedir. Antikanser aktivite ile ilgili bir faktör olan kinaz inhibisyonu dışında *cis* formun fizyolojik aktivitesi daha önce çalışılmamış olmakla birlikte *trans* izomerden ayrı olarak belirlenmesi de önemlidir. Ayrıca, *Polygonum cuspidatum* ile ilgili olarak yapılan diğer çalışmalarda, resveratrol glikozitin (piceid) aktivitesinin aglikon aktivitesinden oldukça farklı olduğu gözlenmiştir. Ancak, insanlarda sindirim bölgesinde glikozidaz aktivitesi olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla sindirim sırasında resveratrol glikozitlerden aglikon açığa çıkması mümkündür (LAMUELA-RAVENTOS ve ark., 1995). Üzümlerde çok az miktarda belirlenebilen *cis*-resveratrol şaraplarda yüksek konsantrasyonlarda belirlenmiştir. Ancak, JEANDET ve ark. (1995a), şaraplarda resveratrolün *cis* izomerinin üzümlerin güneş ışığına maruz kalması sonucunda oluşmadığı görüşündedirler. Zira karanlıkta işlenen şaraplarda da *cis* izomeri yüksek miktarlarda mevcuttur (toplam resveratrolün %41 kadarı). Işıktan korunmaksızın hazırlanan şaraplarda ise *cis* izomeri toplam resveratrolün ancak %46 sını oluşturmaktadır.

Dünyada farklı üretim alanlarından temin edilen yaklaşık 700 ticari şarapta, resveratrolün izomerleri ve ayrıca glikozitleri (polydatin) belirlenmiştir. En yüksek konsantrasyonda polydatin, Fransa'nın Midi ve Rhone vadilerinden, Kanada, İtalya, İspanya, Portekiz ve Güney Afrika'dan temin edilen şaraplarda belirlenmiştir. Belirtilen son 3 bölgede polydatin konsantrasyonu serbest resveratrol konsantrasyonundan daha fazladır, yani bu bölgelerden temin edilen tüm şarap örneklerinde *trans*-resveratrol en düşük konsantrasyonu göstermiştir. Bunun nedeni, ılık iklimlerde yetişen üzümlerde yüksek şeker konsantrasyonunun, resveratrol glikozilasyonunu teşvik etmesidir. Dokuz bölgede, *cis*-polydatin konsantrasyonu *trans*-polydatinden daha yüksek iken, beş bölgede ise bunun tam tersi bir durum söz konusudur. Ancak, analiz edilen örneklerin tümünde *trans*-resveratrol konsantrasyonu *cis*-resveratrol'den daha fazladır. Bölgeye göre resveratrol ve polydatin izomerlerinin değişimi Çizelge 3'de görülmektedir (GOLDBERG ve ark., 1996).

Çizelge 3. Cabernet Sauvignon Üzümlerinden Elde Edilen Ticari Kırmızı Şaraplarda Bölgeye Göre Polydatin ve Resveratrol İzomerleri (GOLDBERG ve ark., 1996)

		Polydatin (µmol/L)			Resveratrol (µmol/L)			Oran*
		<i>cis</i>	<i>trans</i>	Toplam	<i>cis</i>	<i>trans</i>	Toplam	
Kaliforniya	(n = 28)	1.2 ± 0.4	1.4 ± 0.4	2.6 ± 0.7	1.1 ± 0.6	3.2 ± 0.8	4.3 ± 0.9	0.61 ± 0.14
Avustralya	(n = 15)	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.3	2.0 ± 0.4	3.0 ± 0.7	5.7 ± 1.0	8.7 ± 1.4	0.24 ± 0.06
G. Amerika	(n = 12)	4.9 ± 1.2	3.4 ± 1.0	8.3 ± 1.6	2.1 ± 0.6	4.2 ± 0.8	6.3 ± 1.3	1.21 ± 0.28
Kanada	(n = 12)	7.1 ± 1.4	4.5 ± 1.5	11.6 ± 2.1	7.4 ± 1.5	10.8 ± 1.6	18.2 ± 3.0	0.65 ± 0.19

* toplam polydatin'in toplam resveratrole oranı

Farklı bölgelerden temin edilen Cabernet Sauvignon şaraplarında en yüksek polydatin konsantrasyonu sırasıyla Kanada, Güney Amerika, Kaliforniya ve Avustralya bölgelerinden temin edilen örneklerde belirlenmiştir (Çizelge 3). LAMUELA-RAVENTOS ve WATERHOUSE (1993)'ün sonuçlarına göre ise, kuzey bölgelerden te-

min edilen Pinot noir en yüksek resveratrol içeriğine sahipken (maksimum 0.6 mg/L), Zinfandel ve Cabernet sauvignon orta düzeyde (0.1 mg/L veya daha az) resveratrol içermektedir.

GOLDBERG ve ark. (1996) tarafından ayrıca bir kaç bölgeden temin edilen şaraplarda türün etkisi de araştırılmıştır. Kaliforniya, Avustralya, Güney Amerika ve Kanada'dan temin edilen şaraplar arasında en yüksek polydatin konsantrasyonu sırasıyla Zinfandel, Shiraz, Merlot ve Pinot noir türlerinde belirlenmiştir. Kaliforniya'dan temin edilen kırmızı şaraplardaki resveratrol ve polydatin konsantrasyonlarındaki değişim ise Çizelge 4'de görülmektedir.

Polydatin konsantrasyonu en yüksek olan tür Zinfandel iken, resveratrol içeriği en yüksek olan tür Pinot noir'dir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Kaliforniya'da Yetiştirilen Üzümlerden Üretilen Ticari Kırmızı Şaraplarda Çeşide Göre Polydatin ve Resveratrol İzomerleri (GOLDBERG ve ark., 1996)

Çeşit	Polydatin (µmol/L)			Resveratrol (µmol/L)			Oran*
	cis	trans	Toplam	cis	trans	Toplam	
C.sauvignon (n = 28)	1.2 ± 0.4	1.4 ± 0.4	2.6 ± 0.7	1.1 ± 0.6	3.2 ± 0.8	4.3 ± 0.9	0.61 ± 0.14
Zinfandel (n = 14)	3.6 ± 0.6	4.8 ± 0.8	8.4 ± 0.9	1.9 ± 0.3	5.5 ± 0.9	7.4 ± 0.9	1.14 ± 0.18
Merlot (n = 16)	2.5 ± 0.5	1.7 ± 0.3	4.2 ± 0.6	4.7 ± 0.5	8.8 ± 1.3	13.5 ± 1.8	0.32 ± 0.09
Pinot noir (n = 14)	2.6 ± 0.6	1.8 ± 0.4	4.4 ± 0.6	12.2 ± 1.2	16.0 ± 1.2	28.2 ± 2.0	0.15 ± 0.04

* toplam polydatin'in toplam resveratrole oranı.

Şarap fermentasyonunun da, resveratrol miktarı üzerine etkisi araştırılmıştır. Kabuklar olmaksızın yapılan fermentasyonda resveratrol konsantrasyonunda her hangi bir artış belirlenmemiş, kabuklar ile yapılan fermentasyonda ise resveratrol miktarı artmıştır. Kabuktan ekstrakte olarak şaraba geçen resveratrol miktarı üzüm varyetesine ve kabuk ile temas süresine göre farklılık göstermektedir. Fermentasyon koşullarına göre şaraba geçecek resveratrol miktarı değişim göstereceğinden, üzüm kabuğundaki resveratrol konsantrasyonu, bölge ve varyete farklılıklarını şaraba kıyasla daha iyi yansıtmaktadır (OKUDA ve YOKOTSUKA, 1996).

Şarap ve meyve suyu üretiminde, renk maddelerinin ekstraksiyonu ve stabilitesini sağlamak, verimi artırmak ve ayrıca durultma amacıyla kullanılan pektolitik enzimler; şarap üretiminde *trans*-resveratrol konsantrasyonunda artışa neden olmuştur. Ancak, toplam monomerik antosiyanin ve *trans*-resveratrol arasında ters bir ilişki belirlenmiştir. Yani monomerik antosiyanin konsantrasyonu en düşük olan grup, en yüksek konsantrasyonda *trans*-resveratrol içermektedir. Piceid'in üzüm kabuğunda mevcut olduğu bildirilmektedir. Dolayısıyla, β- glukozidaz hem piceid'den, *trans*-resveratrolü serbest bırakmakta ve hemde antosiyaninlerden glukozu ayırarak antosiyaninlerin labil forma dönüşmesine neden olmakta ve sonra labil antosiyaninler degrade olmaktadır. Pektolitik enzimlerin esteraz aktivitesi gösterdiği kafeoil tartarik (kaftarik) asidin, tartarik ve kafeik aside ayrışmasıyla da görülmektedir. Enzim etkisi sonunda, serbest *trans*-resveratrol miktarı ile kaftarik ve kafeik asit oranının logaritması arasında da doğrusal bir ilişki belirlenmiştir. Fazla miktarda esteraz aktivitesi içeren enzim preparatları, en fazla miktarda *trans*-resveratrol açığa çıkmasına neden olmuşlardır (WIGHTMAN ve ark., 1997).

Maserasyon işlemi, beklendiği gibi şarapta resveratrol konsantrasyonunun artışı ile sonuçlanmaktadır. Maserasyon işleminden dolayı resveratrol artışı, beyaz şaraplarda yaklaşık 10 kat civarında iken kırmızı şaraplarda yaklaşık 13 kat dolayındadır. Resveratrol başlıca kabuk kısmında yoğunlaştığından ve meyve etinde ya çok az miktarda ya da hiç bulunmadığında üzüm kabuğu ile uzun süre temasta bulunan fermentasyon prosesinde, presleme işleminden önce kabukla fermente edilmeyenlere kıyasla resveratrolün daha fazla bulunması olağandır (JEANDET ve ark., 1995a).

Şaraptaki tanenleri ya da pigmentleri uzaklaştırmak amacıyla kullanılan reçinelerden Polyclar-AT denenildiğinde, resveratrol konsantrasyonunda önemli düzeyde azalmalar belirlenmiştir (SIEMAN ve CREAMY, 1992).

Parçalanmış üzüm tanelerinden elde edilen cibre, çekirdek ve kabuklarda maserasyon, alkol fermentasyonu ve ayrıca malolaktik fermentasyon sonrası şarapta resveratrol miktarlarının belirlendiği bir araştırmada, başlangıçta resveratrol yalnızca kabuk ve çekirdeklerde mevcut iken, maserasyon ve alkol fermentasyonu süresince (2-6 gün) şıradaki hem *cis*-hem de *trans*-resveratrol konsantrasyonu kademeli olarak artış göstermiştir. Aynı zaman içerisinde kabuktaki *trans*-resveratrol konsantrasyonunda bir azalma belirlenirken, *cis*-resveratrol konsantrasyonunda önemli bir değişim belirlenmemiştir. Bunun sonucunda *trans*-resveratrolün kabuktan ekstraksiyonunun *cis* formuna göre daha etkili olduğu görülmektedir. Başlangıçta 0.00 olan toplam resveratrol miktarı alkol fermentasyonu sonunda 2.17 mg/L'ye çıkmıştır. Maserasyon süresince, şıradaki toplam resveratrol miktarı ile etanol konsantrasyonu artışı arasında doğrusal bir korelasyon ($r = 0.9953$) belirlenmiştir. Altıncı günde kabukları ayrılmış yani alkol fermentasyonu sona ermiştir. Malolaktik fermentasyonun bitiminde (46. gün) ise toplam 9.10 mg/L resveratrol belirlenmiştir. Hem üzümde hem de şarapta belirlenen resveratrol glikozit, malolaktik fermentasyon sonrası şaraptaki resveratrol artışının kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Yani, malolaktik bakterilerin enzimatik aktivite göstermesi ile glikozit formundaki resveratrolün serbest resveratrol oluşumu söz konusudur (PEZET ve CUENAT, 1996).

Fermentasyon öncesi yapılan işlemler ve durultma işlemleri de şaraplardaki resveratrol miktarı üzerine etkilidir. Cibrenin hiperoksidasyonu ile elde edilen kırmızı şaraptaki *trans*-ve *cis* resveratrol miktarları kontrol grubundaki şaraplarla kıyaslandığında yaklaşık %50 azalmıştır. Bu azalma, toplam fenolik bileşiklerde ve kateşinlerde gözlemlenen azalmadan daha fazladır. Buna karşın, üzümler parçalanmadan önce askorbik asit ve SO₂ ile muamele edildiklerinde, şaraplardaki *trans*-resveratrol miktarı kontrol grubundakinden daha fazla bulunmuştur (CASTELLARI ve ark., 1998).

SONUÇ

Bir fitoaleksinin olan resveratrolün, trombosit toplanmasını ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu engellediği, triaçilgliserol düzeyini azalttığı ve karaciğeri lipid peroksidasyonundan koruduğu bildirilmektedir. Sağlık üzerine bu olumlu etkileri açısından, üzüm ve şaraplarda tanımlanan resveratrol son zamanlarda dikkat çekmektedir. Gerek üzüm ve gerekse şarap tüketiminin, diyetle alınacak resveratrol için önemli bir kaynak oluşturduğu düşünülmektedir.

Özellikle meyvenin kabuk kısmında sentezlenen resveratrol meyve etinde ya çok az ya da hiç bulunmamaktadır. *Vitis vinifera* ve *V. labrusca* üzümlerinin aksine *Vitis rotundifolia* üzüm çekirdekleri yüksek konsantrasyonda resveratrol içermektedir. Resveratrol oluşumu küf enfeksiyonu ile ilgilidir. Ancak, beklenenin aksine ileri düzeyde küf gelişimi daha düşük resveratrol oluşumuna neden olmaktadır. Küf ile enfeksiyon oranının yanısıra olgunlaşma düzeyi de resveratrol konsantrasyonunu etkilemektedir. Olgunlaşma ilerledikçe meyvedeki resveratrol içeriği azalmakta ve olgun meyvede hemen hemen tamamen yok olmaktadır.

Resveratrol sentezi üzüm varyetesine göre önemli düzeyde değişim göstermektedir. Aynı koşullarda yetiştirilen ve aynı işlemlere tabi tutulan farklı varyetelerden hazırlanan şarapların resveratrol içerikleri farklıdır. Üzümün yetiştirildiği bölge de resveratrol konsantrasyonu açısından oldukça önemlidir. Dolayısıyla şaraplardaki resveratrol konsantrasyonunu etkileyen en önemli faktörler; işlenen üzümün varyetesi ve yetiştirildiği bölgedir. Bunlara ilaveten fermentasyon öncesi yapılan ön işlemler, fermentasyon koşulları, işlem yardımcıları (pektolitik enzim, reçine, SO₂ vb.) da şaraptaki resveratrol konsantrasyonu üzerine etkilidir.

KAYNAKLAR

- CASTELLARI, M.; SPINABELLI, U.; RİPONI, C.; AMATI, A. 1998. Influence of some technological practices on the quantity of resveratrol in wine. ZLUF. 206: 151-155.
- ECTOR, B.J.; MAGE, J.B.; HEGWOOD, C.P.; COIGN, M.J. 1996. Resveratrol concentration in Muscadine berries, juice pomace, purees, seeds and wines. Am. J. Enol. Vitic. 47(1): 57-62.
- FRANKEL, E.N.; KANNER, J.; GERMAN, J.B.; PARKS E.; KINSELLA, J.E. 1993. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. Lancet. 341: 454-457.

- GOLDBERG, D.M.; NG, E.; KARUMANCHIRI, A.; DIAMANDIS, E.P. and SOLEAS, G.J. 1996. Resveratrol glucosides are important components of commercial wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 47(4): 415-420.
- JEANDET, P.; BESSIS, R.; GAUTHERON, B. 1991. The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *Am. J. Enol. Vitic.* 42(1): 41-46.
- JEANDET, P.; BESSIS, R.; MAUME, B.F.; MEUNIER, P.; PEYRON, D.; TROLLAT, P. 1995a. Effect of enological practices on the resveratrol isomer content of wine. *J. Agric. Food Chem.* 43, 316-319.
- JEANDET, P.; BESSIS, R.; SBAGHI, M.; MEUNIER, P.; TROLLAT, P. 1995b. Resveratrol content of wines of different ages: relationship with fungal disease pressure in the vineyard. *Am. J. Enol. Vitic.* 46 (1): 1-4.
- KIMURA, Y.; OKUDA, H.; ARACHI, S. 1985. Effects of stilbene on arachidonate metabolism in leukocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* 834: 275-278.
- LAMUELA-RAVENTOS, R.M.; WATERHOUSE, A.L. 1993. Occurrence of resveratrol in selected California wines by a new HPLC method. *J. Agric. Food Chem.* 41(4): 521-523.
- LAMUELA-RAVENTOS, R.M.; ROMERO-PEREZ, A.I.; WATERHOUSE, A.L.; CARMEN DE LA TORRE-BORONAT, M. 1995. Direct HPLC analysis of *cis*- and *trans*-resveratrol and piceid isomers in Spanish red *Vitis vinifera* wines. *J. Agric Food Chem* 43(2): 281-283.
- OKUDA, T.; YOKOTSUKA, K. 1996. *Trans*-resveratrol concentration in berry skins and wines from grapes grown in Japan. *Am. J. Enol. Vitic.* 47(1): 93-99.
- PEZET, R.; PONT, A.; CUENAT, 1994. Method to determine resveratrol and pterostilbene in grape berries and wines using high-performance liquid chromatography and high sensitive fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A.* 663: 191-197.
- PEZET, R.; and CUENAT, PH. 1996. Resveratrol in wine: extraction from skin during fermentation and post fermentation standing of must from Gamay grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 47(3): 287-290.
- SHAN, C.; YANG, S.; HE H.; SHAO, S.; ZHANG, P. 1990. Influence of 3,4,5-trihydroxystilbene-3-D-monoglucoside on rabbit platelet aggregation and thromboxane B2 products on in vitro. *Zhongguo Yooli Xuebao.* 11: 524.
- SIEMAN, E.H.; CREAMY, L.L. 1992. Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 43(1): 49-51.
- WATERHOUSE, A.L.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. 1994. The occurrence of piceid, a stilbene glucoside, in grape berries. *Phytochemistry.* 37(2): 571-573.
- WIGHTMAN, J.D.; PRICE, S.F.; WATSON, B.T.; WROLSTAD, R.E. 1997. Some effects of processing enzymes on anthocyanins and phenolics in Pinot noir and Caberbet Sauvignon wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 48(1): 39-47.