

HALLAÇ TÜRK F, AŞCI Ö., BABALIK Z. ve GÖKTÜRK BAYDAR, N., 2009. Kırmızı üzüm suyu ile sirkenin fenolik bileşik içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Türkiye 7. Bağcılık Sempozyumu, Cilt II., 247-253, Manisa.

Türkiye 7. Bağcılık Sempozyumu,
2009, (2): 247-253

Kırmızı Üzüm Suyu ile Sirkenin Fenolik Bileşik İçerikleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Filiz HALLAÇ TÜRK Özlem AŞCI Zehra BABALIK Nilgün GÖKTÜRK BAYDAR

ÖZ

Bu araştırmada kırmızı üzüm suyu ve sirkenin fenolik bileşik içeriği ve antioksidan özellikleri değerlendirilmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde miktarları Folin Ciocalteu yöntemi, fenolik kompozisyonları da HPLC ile belirlenmiştir. Antioksidan aktiviteleri ise DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) antiradikal aktivite ve demir bağlama yeteneklerinin belirlenmesi metotları ile tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı kırmızı üzüm suyu ve sirkede sırasıyla 708,17 mg/l ve 198,19 mg/l olarak bulunmuştur. Sadece toplam fenolik madde miktarı değil, aynı zamanda antioksidan aktivite bakımından da kırmızı üzüm suyu sirkeye göre daha yüksek değerler göstermiştir. Ayrıca kateşin ve klorojenik asidin kırmızı üzüm suyunda, gallik asit ve kateşinin de sirkede en fazla bulunan fenolik bileşikler olduğu tespit edilmiştir.

Sunulan bu araştırma sonucunda, kırmızı üzüm suyu ve sirkenin iyi birer antioksidan kaynağı olarak beslenmede yer alabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: üzüm suyu, sirke, fenolik bileşikler, antioksidan aktivite.

DETERMINATION OF PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF RED GRAPE JUICE AND VINEGAR

ABSTRACT

In this study, red grape juice and vinegar were assayed for their antioxidant properties and phenolic compositions. Total phenolic contents of the samples were determined by the Folin Ciocalteu method and compositions of the phenolics were separated by HPLC. Antioxidant activities of the samples were evaluated using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) antiradical activity and reducing power methods. Total phenolic contents of red grape juice and vinegar were found as 708,17 mg/l and 198,19 mg/l, respectively. Not only total phenolic content but also antioxidant activities of red grape juice showed high values than those of vinegar. It was also determined that catechin and chlorogenic acid were the major phenolics in the red grape juice. In vinegar, major phenolics were gallic acid and catechin.

In the result of the present study, it was indicated that red grape juice and vinegar can be used as an ingredient in dietary supplements as a good antioxidant source.

Keywords: grape juice, vinegar, phenolic compounds, antioxidant activity.

GİRİŞ

Üzüm ve üzüm ürünleri şekerler, mineral maddeler, organik asitler, azotlu bileşikler, aroma maddeleri, enzimler ve vitaminler yönünden oldukça zengindirler (Fidan ve Yavaş, 1986; Aras, 2006). Son yıllarda yapılan araştırmalar bu ürünlerin fenolik madde içeriklerinin

HALLAÇ TÜRK F, AŞCI Ö., BABALIK Z. ve GÖKTÜRK BAYDAR, N., 2009. Kırmızı üzüm suyu ile sirkenin fenolik bileşik içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Türkiye 7. Bağcılık Sempozyumu, Cilt II., 247-253, Manisa.

de oldukça yüksek olduğunu göstermektedir (Lu ve Foo, 2001). Fenolik bileşikler meyve ve sebzelerin tat, aroma, renk gibi meyve özellikleri üzerinde direkt etkileri olan sekonder metabolitlerdir. Bunun yanında antioksidan özellikleri nedeniyle insan sağlığı üzerinde de son derece olumlu etkilerde bulunmaktadır. Günlük hayatta etkisi altında kaldığımız; radyasyon, gazlar, ağır metaller, herbisit ve pestisitler gibi çevre kirletici faktörlerin vücut hücreleriyle etkileşime girmesi ile serbest radikaller oluşmaktadır. Artan bu radikaller; DNA, protein, karbonhidrat ve lipitlerde zararlanmaya neden olarak başta kanser, kalp hastalıkları ve diyabet olmak üzere birçok hastalığın oluşmasına sebep olmaktadır. Antioksidan maddeler ise bu serbest radikalleri tutarak ya da etkisiz hale getirerek oksidasyonun neden olduğu zararlanmaları hücresel bazda engellemekte ve dejeneratif hastalıkların oluşumunu önlemektedirler (Tosun ve ark., 2002; Vattem ve ark., 2005). Bütün bu özelliklerinden dolayı fenolik bileşikler, son yıllarda üzerinde yoğun olarak durulan bileşiklerden biri konumuna gelmiştir.

Fenolik bileşiklerin miktarlarının belirlenmesine yönelik çalışmaların büyük çoğunluğunun tane, çekirdek, cibre ve şarap üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. (Shadidi ve Naczki, 1995; Soleas ve ark., 1997; Karakaya ve ark., 2001; Göktürk Baydar ve ark., 2005; Göktürk Baydar ve ark., 2006; Bisboaca ve Purcarea, 2008). Bu araştırma ile üzerinde çok fazla çalışma bulunmayan kırmızı üzüm suyu ve sirkenin, içermiş olduğu fenolik bileşiklerin ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Araştırmada materyal olarak katkı içermeyen sirke ve kırmızı üzüm suyu kullanılmıştır. Sirke Isparta'daki yerel üreticilerden, kırmızı üzüm suyu ise marketlerden karşılanmıştır. Sirke ve kırmızı üzüm suyu analizlere hazırlık olarak filtre edilmiş ve distile su ile seyreltilerek analizlerde kullanılmıştır.

Yöntem

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı spektrofotometrik olarak Folin-Ciocalteu kolorometrik metoda göre yapılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). Örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı gallik asitle hazırlanan standart kurveye göre gallik asit cinsinden mg/l olarak hesaplanmıştır. Analizler 5 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Fenolik bileşiklerin HPLC ile belirlenmesi

HPLC analizleri Shimadzu marka HPLC ile SCL-10Avp Sistem kontrolör, SIL-10AD vp otosampler, LC-10AD vp pompa, DGU-14a degazır, CTO-10 A vp kolon ısıtıcısı ve diode array detector (DAD) ile 278 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Kolon olarak Agilent Eclipse XDB-C18 (250 x 4,6 mm i.d. 5 µm) kullanılmıştır. Akış oranı 0,8 ml/dk, enjeksiyon hacmi 20 µL ve kolon sıcaklığı da 30°C olarak belirlenmiştir. Analizlerde kullanılan mobil faz ve gradient program daha önce Özkan ve Göktürk Baydar (2006) kullandığı yöntemle yapılmıştır. Analizlerden önce örnekler, standartlar ve mobil fazlar 0,45 µm'lik membran filtreden geçirilmişlerdir. Örnekler ferulik asit, gallik asit, kafeik asit, kateşin, kateşol, klorogenik asit, *p*-kumarik asit, *o*-kumarik asit, rutin, siringik asit ve vanilin bakımından incelemeye tabi tutulmuşlar ve sonuçlar, µg/l olarak hesaplanmıştır.

Antiradikal aktivitenin belirlenmesi

Örneklerin radikal bağlama aktiviteleri DPPH kullanılarak Shimada ve ark. (1992)'nin yöntemine göre belirlenmiştir. Analiz öncesinde örnekler 1:39 (örnek:su, h/h) oranında saf su ile seyreltilmişlerdir. Örneklerin ve kontrolün absorbans değerleri spektrofotometre ile 517

HALLAÇ TÜRK F, AŞCI Ö., BABALIK Z. ve GÖKTÜRK BAYDAR, N., 2009. Kırmızı üzüm suyu ile sirkenin fenolik bileşik içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Türkiye 7. Bağcılık Sempozyumu, Cilt II., 247-253, Manisa.

nm'de ölçülmüş ve elde edilen okuma değerleri aşağıdaki formüle yerleştirilerek % olarak antiradikal aktiviteleri bulunmuştur.

Antiradikal aktivite(%)=100x[(kontrolün absorbansı/örneğin absorbansı)/ kontrolün absorbansı]

Analizler 5 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Demir bağlama yeteneklerinin belirlenmesi

Örneklerin demir bağlama yetenekleri Oyaizu (1986)'nın yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Analiz öncesinde örnekler 1:39 (örnek:su, h/h) oranında saf su ile seyreltilmişlerdir. Örneklerin ve kontrolün absorbans değerleri spektrofotometre ile 700 nm'de ölçülmüştür. Okunan absorbans değerinin yüksek olması, örneklerin demir bağlama yeteneklerinin de yüksek olduğunu gösterdiğinden, değerlendirme bu kriter esas alınarak yapılmıştır. Analizler 5 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Sunulan bu araştırma ile sirke ve kırmızı üzüm suyunun fenolik madde miktarları ile antioksidan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Antioksidan etkilerin belirlenmesinde DPPH ve demir bağlama yeteneğinin belirlenmesi yöntemleri kullanılmıştır.

Örneklerin toplam fenolik madde miktarları, antiradikal aktiviteleri (DPPH) ve demir bağlama yeteneklerine ilişkin elde edilen bulgular Çizelge 1'de sunulmuştur.

Çizelge 1. Örneklerin toplam fenolik madde miktarları, antiradikal aktiviteleri ve demir bağlama yetenekleri

ÖRNEK	TOPLAM FENOLİK MADDE (mg/l)	DPPH (%)	DEMİR BAĞLAMA YETENEĞİ (ABSORBANS)
Kırmızı üzüm suyu	708,17±34,47	89,10±0,10	2,52±0,04
Sirke	198,19±7,54	41,01±1,22	1,30±0,02

Çizelge 1'in incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, kırmızı üzüm suyunun toplam fenolik madde miktarı, antiradikal aktivitesi ve demir bağlama yeteneğinin sirkeye göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Kırmızı üzüm suyunun toplam fenolik madde içeriği 708,17 mg/l olarak belirlenirken, sirkede bu değer 198,19 mg/l olarak tespit edilmiştir. Bu konuda daha önce yapılan çalışmalarda da kırmızı üzüm suyunun fenolik madde içeriğinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Burak ve Çimen, 1999; Pinheiro ve ark., 2009). Yıldız (2007), kırmızı üzüm suyunda fenolik bileşiklerin beyaz üzüm suyuna göre çok daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Bitsch ve ark. (2004) ise Lemberger üzüm çeşidine ait üzüm suyunda toplam fenolik madde içeriğini 330,3 mg/400 ml olarak belirlerken; Davalos ve ark. (2005)'da konsantre ve sıkılmış farklı kırmızı üzüm sularında toplam fenolik madde miktarını 705-1177 mg/l arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bosanek ve ark. (1996) ise üzüm sularında toplam fenolik madde miktarının 254 ile 2246mg/l arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Sirkenin fenolik madde içeriğinin belirlenmesi konusunda yapılan çalışmalarda ise Aras (2006), sirkede 233,05 mg /l toplam fenolik madde bulunduğunu belirlerken; Alonso ve ark. (2004) ise sirkenin toplam fenolik madde içeriğinin, kullanılan üzüm çeşitlerine ve üretici firmalara göre değişmekle birlikte 200-1000 mg/l arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Üzüm suyu ve sirkenin antiradikal aktiviteleri incelendiğinde, kırmızı üzüm suyunun antiradikal aktivitesi % 89,10; sirkeninki de % 41,01 olarak bulunmuştur (Çizelge 1). Kırmızı üzüm suyunun antiradikal aktivitesinin belirlenmesine yönelik yapılan araştırmalar son derece

HALLAÇ TÜRK F, AŞÇI Ö., BABALIK Z. ve GÖKTÜRK BAYDAR, N., 2009. Kırmızı üzüm suyu ile sirkenin fenolik bileşik içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Türkiye 7. Bağcılık Sempozyumu, Cilt II., 247-253, Manisa.

sınırlı olup; bu sınırlı çalışmalardan birinde, Kulisic Bilusic ve ark. (2009), kırmızı üzüm suyunda antiradikal aktivitenin, bu çalışmada elde edilen sonuca benzer şekilde % 92,0 olduğunu tespit etmişlerdir. Seeram ve ark. (2008)'da üzüm suyunun antiradikal aktivitesini % 28,2 olarak belirlemişlerdir. Bu sonuçlardan, antiradikal aktivitenin de tıpkı toplam fenolik madde miktarında olduğu gibi çeşitlere ve üretim tekniğine göre değiştiği anlaşılmaktadır.

Kırmızı üzüm suyu ve sirkenin demir bağlama yeteneğine ilişkin değerler incelendiğinde ise, kırmızı üzüm suyunun absorbans değeri 2,52; sirkenin ise 1,30 olarak ölçülmüştür. Yüksek absorbans değeri yüksek demir bağlama kapasitesini gösterdiğinden; kırmızı üzüm suyunun, sirkeye göre daha yüksek bir demir bağlama aktivitesine sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Araştırmada ayrıca HPLC ile kırmızı üzüm suyu ile sirke de bulunan fenolik bileşikler ve bunların miktarları da belirlenmiş olup, elde edilen bulgular Çizelge 2'de sunulmuştur.

Çizelge 2. Kırmızı üzüm suyu ve sirkenin içermiş oldukları fenolik madde miktarları (µg/ml)

FENOLİK BİLEŞİKLER	ÖRNEKLER	
	Kırmızı üzüm suyu	Sirke
Ferulic acid	0,08± 0,00	nd
Gallik asit	0,75± 0,03	5,43± 0,10
Kafeik asit	0,31± 0,00	nd
Kateşin	2,94± 0,04	1,87± 0,03
Kateşol	0,84± 0,01	0,57±0,03
Klorojenik asit	2,76±0,08	nd
<i>o</i> -kumarik asit	0,08±0,00	nd
<i>p</i> -kumarik asit	0,05±0,00	0,03±0,00
Rutin	0,67±0,00	nd
Siringik asit	nd	0,54±0,01
Vanilin	nd	0,05±0,00

Çizelge 2 incelendiğinde, fenolik bileşik kompozisyonunun ve bunların miktarlarının kullanılan örneğe göre değişiklik gösterdiği anlaşılmaktadır. Siringik asit ve vanillin kırmızı üzüm suyunda belirlenemezken, ferulic asit, kafeik asit, klorojenik asit, *o*-kumarik asit ve rutin de sirke de tespit edilememiştir. Kırmızı üzüm suyunda en yüksek fenolik bileşik 2,94 µg/ml değeri ile kateşin olarak belirlenmiş ve bunu, yakın bir değerle (2,76 µg/ml) klorojenik asit takip etmiştir. Üzüm suyunda klorojenik asit miktarının yüksek olduğu daha önce Amakura ve ark. (2000) tarafından da belirtilmiştir. Sirke de ise en yüksek fenolik madde gallik asit (5,43 µg/ml) olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde Lopez ve ark. (2005) da sirke de yapmış oldukları çalışmalarında, gallik asit miktarını 2,5 mg/l olarak tespit etmişlerdir. Sirke de en yüksek ikinci fenolik madde kateşin (1,87 µg/ml) olarak belirlenmiştir. Araştırmamızdan elde edilen bulgumuza benzer şekilde, daha önce Cerezo ve ark. (2008)'nin yapmış oldukları çalışmada da sirke de kateşin miktarı 2,80 mg/l olarak tespit edilmiştir.

İnsan sağlığı üzerinde son derece önemli etkileri olduğu bilinen üzüm ve üzüm ürünlerinin doğal ve sağlıklı beslenme bilincinin giderek yaygınlaştığı günümüzde daha da büyük önem kazandığı görülmektedir. Bu araştırma sonuçlarından da kırmızı üzüm suyu ve sirkenin sahip oldukları fenolik madde içeriği ve buna bağlı olarak göstermiş oldukları antioksidan aktivite yönüyle, günlük beslenmede kullanılabilecek değerli birer gıda maddesi oldukları anlaşılmaktadır.

KAYNAKLAR

Alonso, A.M., Castro, R., Rodruguez, M.C., Guillen, D.A.,Barroso, G. 2004. Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from Sherry wines and correlation with their content in polyphenols. Food Research International 37 (4): 715-721.

- HALLAÇ TÜRK F, AŞCI Ö., BABALIK Z. ve GÖKTÜRK BAYDAR, N., 2009.** Kırmızı üzüm suyu ile sirkenin fenolik bileşik içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Türkiye 7. Bağcılık Sempozyumu, Cilt II., 247-253, Manisa.
- Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S., Tonogai, Y. 2000. Determination of phenolic acids in fruit juices by isocratic column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 891 (1): 183-188.
- Aras, Ö. 2006. Üzüm ve üzüm ürünlerinin toplam karbonhidrat, protein, mineral madde ve fenolik bileşik içeriklerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.Yüksek Lisans Tezi: 59s., Isparta.
- Bisboaca, S., Purcarea, C. 2008. Determination of antioxidant activity of the phenolic compounds from grape pomace. *Ecotoxicologie, Zootehnie si Tehnologii de Industrie Alimentara* 3 (7): 623-628
- Bitsch, R., Netzel, M., Frank, T., Strass, G., Bitsch, I. 2004. Bioavailability and biokinetics of anthocyanins from red grape juice and red wine. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5, 293-298.
- Bosanek, C.A., Silliman, K., Kirk, L.L., Frankel, E.N. 1996. Total phenolic content and antioxidant potential of commercial grape juice. *Journal of The American Dietetic Association* 96, 9-35.
- Burak, M., Çimen, Y. 1999. Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri*, 19 (5): 296–304.
- Cerezo, A.B., Tesfaye, W.J., Torija, M., Mateo, E., Garci Parrilla, M.C., Troncoso, A.M. 2008. The phenolic composition of red wine vinegar produced in barrels made from different woods. *Food Chemistry* 109 (3): 606-615.
- Davalos, A., Bartolome, B., Gomez Cordoves, C. 2005. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chemistry* 93 (2): 325- 330.
- Fidan, Y., Yavaş, İ. 1986. Üzümün insan beslenmesindeki değeri. *Gıda Sanayinin Sorunları ve Serbest Bölgenin Gıda Sanayine Etkileri Sempozyumu Bildiriler: 225-235, Ekim 15-17 1986, Adana.*
- Göktürk Baydar, N., Çetin, E.S., Hallaç, F. ve Babalık, Z. 2005. Üzümlerde fenolik madde içeriklerinin spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmesi. VI. Bağcılık Sempozyumu: 329-334, Eylül 19-23 2005, Tekirdağ.
- Göktürk Baydar, N., Sağdıç, O., Özkan, G., Çetin, E.S. 2006. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera L.*) seed extracts. *International Journal of Food Science and Technology* 41, 799–804.
- Karakaya, S., El, S.N., Taş, A.A. 2001. Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 52 (6): 501-508.
- Kulisić Bilusić, T., Schnabele, K., Schmoller, I., Dragović Uzelac, V., Krisko, A., Dejanović, B., Milos, M., Pifat, G. 2009. Antioxidant activity versus cytotoxic and nuclear factor kappa B regulatory activities on HT-29 cells by natural fruit juices. *European Food Research and Technology* 228, 417- 424.
- Lopez, F., Pescador, P., Güell, C., Morales, M.L., Garcia Parrilla, M.C., Troncoso, A.M. 2005. Industrial vinegar clarification by cross-flow microfiltration: effect on colour and polyphenol content. *Journal of Food Engineering* 68, 133-136.
- Lu, Y., Foo, L.Y. 2001. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry* 75 (2): 197-202.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition* 44, 307–315.
- Özkan, G., Göktürk Baydar, N. 2006. A direct RP-HPLC determination of phenolic compounds in Turkish red wines. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 19 (2): 229-234.
- Pinheiro, E.S., Da Costa, J.M.C., Clemente, E. 2009. Total phenolics and total anthocyanins found in grape from Benitaka cultivar (*Vitis vinifera L.*). *Journal of Food Technology* 7 (3): 78-83.

- HALLAÇ TÜRK F, AŞCI Ö., BABALIK Z. ve GÖKTÜRK BAYDAR, N., 2009.** Kırmızı üzüm suyu ile sirkenin fenolik bileşik içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Türkiye 7. Bağcılık Sempozyumu, Cilt II., 247-253, Manisa.
- Seeram, N.P., Aviram, M., Zhang, Y., Henning, S.M., Feng, L., Dreher, M., Heber, D. 2008. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 1415–1422.
- Shadidi, F., Naczk, M. 1995. Food phenolics: Sources, chemistry, effects, and applications. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company (USA), 331.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 945–948.
- Singleton, V.L., Rossi, J.R. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphothungstic acid. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.
- Soleas, G.J., Diamandis, E.P., Goldberg, D.M. 1997. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 11, 287–313.
- Tosun, İ., Yüksel, S., Karadeniz, B. 2002. Böğürtlenin antioksidan kapasitesi. Türkiye 7. Gıda Kongresi: 633–637, Mayıs 22-24 2002, Ankara.
- Vattem, D.A., Ghaedian R., Shetty K. 2005. Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment focus on cranberry. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 14 (2): 120–130.
- Yıldız, S.D. 2007. Enoant ve sağlık üzerine etkileri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 1, 65–70.