

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI ÜZÜM ÇEŞİTLERİNİN OLGUNLAŞMA SÜRECİNDE POLİFENOL
İÇERİKLERİ İLE ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Sevim ATEŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

MALATYA

OCAK-2015

Tezin Başığı: **Farklı Üzüm Çeşitlerinin Olgunlaşma Sürecinde Polifenol İçerikleri ile Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi**

Tezi Hazırlayan: **Sevim ATEŞ**

Sınav Tarihi:21.01.2015

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Anabilim Dalında “Yüksek Lisans Tezi” olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

Prof. Dr. Bayram Murat ASMA

.....

İnönü Üniversitesi Ziraat Fakültesi

Yrd. Doç. Dr. Serap TİTRETİR

.....

İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Selim ERDOĞAN

.....

İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Alaattin ESEN

Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum " **Farklı Üzüm Çeşitlerinin Olgunlaşma Sürecinde Polifenol İçerikleri ile Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi** " başlıklı bu çalışmanın, bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın, tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım tüm kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakça yönetimine uygun biçimde gösterilenlerden olduğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Sevim ATEŞ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Farklı Üzüm Çeşitlerinin Olgunlaşma Sürecinde Polifenol İçerikleri ile Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi

Sevim ATEŞ

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

xi+100

2015

Danışman: Doç. Dr. Selim ERDOĞAN

Bu çalışmada, Malatya ilimizde yaygın olarak üretilen Kureyş ve Tahannebi üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerinin çiçeklenmeden hemen sonra başlanıp, olgunlaşana kadar 7 farklı zamanda örnekler toplanmıştır. Çalışma kapsamında, toplam fenolik madde, antioksidan kapasiteyi belirlemek için DPPH radikal süpürme ve indirgeme gücü testleri Spektrofotometrik yöntemle ve bireysel fenolik madde içerikleri değişimi ise HPLC yöntemleri kullanılarak saptanmıştır.

Analiz bulguları sonucunda, DPPH radikal süpürme kapasitesi, toplam fenolik madde içeriği ve indirgeme gücü en yüksek olan hasat; Tahannebi üzüm çeşiti için, THN-1, THN-2 ve THN-3 olurken, Kureyş üzüm çeşitinde KRŞ-1 olduğu gözlenmiştir. Özellikle KRŞ-1 - KRŞ-5 hasat dönemlerinde, THN-1 – THN-5 arasındaki değerlere göre yaklaşık 2-4 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Her iki üzüm çeşiti için de 7. Hasat döneminde toplanmış örneklerin en düşük içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Her iki çeşitte de toplam 19 fenolik bileşik belirlenmiş olup, Kureyş çeşitinin daha yüksek miktarlarda fenolik bileşik içerdiği belirlenmiştir. Üzüm örneklerindeki en fazla bulunan organik asitin kaftarik asit olduğu tespit edilmiştir. Her iki çeşitte; Klorojenik, Naringin, Ellagik asit, (+)-Kateşin, (-)-Epikateşin, EpiKateşingallat, 4-H.benzoik asit, Neoklorojenik asitin yüksek miktarlarda bulunduğu saptanmıştır. Bütün bu veriler ışığında tahannebi üzüm çeşitinin ilk hasat döneminden olgun olana kadar geçen sürede DPPH radikal süpürücü etki gösteren özelliği %71.6, indirgeme gücü %85 ve toplam fenolik madde içeriği %88 oranında azalma gösterirken, KRŞ üzüm çeşiti için bu oranlar sırasıyla %94, %96 ve %95.9 olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, her iki üzüm çeşitinin ham örneklerinin çok yüksek düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve fenolik bileşen açısından zengin bir içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak, üzümlerin olgunlaşma sürecinde; tüm fenolik bileşenler ve antioksidan aktivite değerlerinin önemli azalmalarla sonuçlandığı belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Üzüm, Tahannebi, Kureyş, Olgunlaşma Periyodu, Polifenol bileşikler, Antioksidan aktivite, Ekstraksiyon, Sıvı Kromatografisi.

ABSTRACT

Master of Science Thesis

Determination of Polyphenol Content and Antioxidant Capacity in the maturation process of Different Grape Varieties

Sevim ATEŞ

İnönü University
Institute of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

xi + 100 pages

2015

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Selim ERDOĞAN,

In this study, Malatya province widely produced Kureyş and Tahannebi grape fruits cultivars (*Vitis vinifera* L.) samples were collected from 7 different time from immediately after grape flowering started time to maturity. In the study, for determine the antioxidant capacity; total phenolics, DPPH radical scavenging and reducing power tests spectrophotometric method and the exchange of individual phenolic content was determined using HPLC methods. The analysis findings, DPPH radical scavenging capacity, total phenolic content and reducing power; the highest level harvesting for Tahannebi grape fruit, while the THN-1, THN-2 and THN-3, it was observed that KRS-1 for Kureyş grapes. Especially, The values in THN-1-THN-5 harvest period was determined to be about 2-4 times more in the KRS-1 - KRS-5 harvest period. For both grape varieties of the samples collected during the 7thharvesting were found to have the lowest level content.

In both varieties was identified a total of 19 kinds of phenolic compounds and Kureyş grape fruit were determined to contain higher amounts of phenolic compounds. The most abundant organic acids in the grape fruit samples was determined as caftarik acid. Both grape fruit varieties; Chlorogenic, Naringin, Ellagic acid, (+) - catechin, (-) - epicatechin, epikateşingallat, 4-H.benzoik acid and Neoklorogenik acid has been found in high amounts.

All these data in light, DPPH radical scavenging 71.6%, reducing power 85% and total phenolic content 88% showed a decrease of Tahannebi grape fruit in time period until ripe of the 1thharvest, these rates for Kureyş grape varieties was determined respectively, 94%, % 96 and 95.9%. As a result, it was found that the crude sample of both varieties, which have very high antioxidant activity and have a rich content of phenolic components. However, the grapes are during ripening process; in the all phenolic compounds and antioxidant activity value was determined to result in a significant reduction

Key words: Garape varieties, Phenolic Compounds, Antioxidant Activity Tahannebi, Kureyş, Maturity Period, Extraction, Liquid Chromatography

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca, araştırmamın planlanmasında ve yürütülmesinde, engin bilgi ve deneyimi ile yardım ve önerilerini hiçbir zaman esirgemeyen, saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Selim ERDOĞAN'a, sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında laboratuvarlarını bize açan ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Burhan ATEŞ'e, Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU'na ve Arş. Grv. Nurullah DEMİR'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında yardımlarını gördüğüm Biyokimya Araştırma Laboratuvarı çalışma arkadaşlarım Merve Gökşin KARAASLAN ve Sevgi BALCIOĞLU'na teşekkür ederim.

Araştırmalarım süresince her konuda yardım ve destek gördüğüm, özellikle numunelerin temininde yardımcı olan Kayısı Araştırma İstasyonu'nda görev yapan ve aynı zamanda çalışma arkadaşım olan Yılmaz UĞUR'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her konuda yanımda olan, yardım ve desteklerini esirgemeyen aileme ve eşim Kenan ATEŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmayı gerçekleştirmemde 2013/38 nolu ve "Farklı Üzüm Çeşitlerinin Olgunlaşma Sürecinde Polifenol İçerikleri ile Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi" başlıklı proje ile finansal destek sunan, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	1
2.1. Üzüm Meyvesinin Özellikleri.....	1
2.2. Türkiye’de Üzüm Üretimi	5
2.3. Üzümde Farklı Olgunlaşma Dönemlerinde Numune Almanın Önemi.....	6
2.4. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	8
2.5. Doğal Antioksidanlar	10
2.5.1. C Vitamini	10
2.5.2. E Vitamini.....	11
2.5.3 Karotenoidler.....	12
2.5.4 Fenolik Bileşikler ve Polifenoller	13
2.5.4.1 Polifenoller	13
2.5.4.2. Fenolik Bileşikler.....	15
2.5.4.2.1. Flavonoidler	15
2.5.4.2.2. Resveratrol.....	18
2.5.4.2.3. Fitosteroller.....	19
2.5.4.2.4. Fenolik Asitler	19
2.5.4.2.5. Fenolik Polimerler (Tanenler)	20
2.5.4.3 Fenolik Bileşiklerin Riskleri	20
2.5.4.4 Beslenmemizde Polifenoller ve İnsan Sağlığındaki Rolü.....	21
2.5.4.5 Fenolik Maddelerin Antimikrobiyal Etkisi.....	25
2.6 Üzümde Fenolik Bileşikler.....	25
2.7. Meyvelerden Fenolik Türlerin Ekstraksiyonu.....	26
2.8. Elektron Aktarımına Dayalı Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri	28

2.8.1.	CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity; Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi	28
2.8.2.	TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite)/ABTS Yöntemi	30
2.8.3	FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power; Demir(III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü) Yöntemi	31
2.8.4.	Folin Ciocalteu Yöntemi	31
2.8.5.	DPPH Yöntemi	32
3.	KAYNAK ÖZETLERİ.....	33
4.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	40
4.1	Materyal.....	40
4.1.1	Üzüm Çeşitleri ve Örneklerinin Temini.....	40
4.1.2.	Kullanılan Araç ve Gereçler.....	43
4.1.3.	Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları.....	45
4.2	Yöntem.....	47
4.2.1.	Örnek Hazırlama.....	47
4.2.1.1.	Hızlandırılmış Ekstraksiyon Cihazıyla Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu....	46
4.2.1.2.	Örneklerdeki % Nem Oranlarının Belirlenmesi.....	48
4.2.1.3	Üzüm Örneklerinin Liyofilizasyonu (Dondurarak Kurutma).....	48
4.2.2	Fenolik Bileşiklerin HPLC Yöntemi ile Belirlenmesi.....	48
4.2.3.	İn Vitro Antioksidan Testler.....	49
4.2.3.1.	DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini.....	49
4.2.3.2.	İndirgeme Gücü Yöntemi.....	49
4.2.3.3.	Toplam Fenolik Maddelerin Analizi.....	50
5.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	51
5.1.	Üzümlerin % Nem Oranları.....	51
5. 2.	Üzüm Meyvesi Çeşitlerine Ait Ekstraktların İn Vitro Radikal Süpürme Düzeyleri	51
5.2.1.	Üzüm Meyve Çeşitlerine Ait Ekstraktların DPPH Radikal Süpürme Düzeyleri	51
5.2.2.	Üzüm Meyvesi Çeşitlerine Ait Ekstraktların İndirgeme Gücü Düzeyleri.....	53
5.2.3.	Üzüm Meyvesi Çeşitlerine Ait Ekstraktların Toplam Fenolik Madde İçeriği...	56
5.3.	Tahannebi ve Kureyş Üzüm Meyve Ekstraktlarına Ait Polifenol Düzeyleri.....	58
6.	SONUÇ VE TARTIŞMA.....	75

7.	KAYNAKLAR.....	85
	ÖZGEÇMİŞ.....	100

ŞEKİLLER LİSTESİ

		Sayfa
Şekil 2.1	Üzüm meyve çeşitleri.....	2
Şekil 2.2	C vitamininin kimyasal yapısı.....	11
Şekil 2.3	α -tokoferol'ün kimyasal yapısı.....	11
Şekil 2.4	β -karoten, likopen ve lutein'in kimyasal yapıları.....	12
Şekil 2.5	Meyvelerde yaygın bulunan bazı fenolik bileşikler.....	24
Şekil 2.6	Cu(II)-Nc, (B) Cu(I)-Nc komplekslerinin spektrumları(A).....	29
Şekil 2.7	ABTS.+ radikal kationunun absorpsiyon spektrumu	30
Şekil 4.1	Üzüm örneklerinin analize hazırlanmasında kullanılan örnek hazırlama şeması.....	42
Şekil 4.2	Üzüm çeşitleri A, Tahannebi; B, Kureyş.....	43
Şekil 4.3	ASE –200 Hızlandırılmış solvent ekstraktörü.....	44
Şekil 4.4	ASE 200 Hızlandırılmış solvent ekstraktörü ve ekstraksiyon aparatları	44
Şekil 4.5	ASE 200 Solvent ekstraktöründe ekstraksiyon işlemi için çözgen ve gaz akış şeması	45
Şekil 4.6	Polifenollerin ekstraksiyonda optimum parametreler için işlem basamakları	47
Şekil 4.7.	Toplam polifenol analizi için yapılan işlem basamakları.....	50
Şekil 5.1	Tahannebi üzüm meyve çeşitine ait mg trolox/g kuru madde miktarlarına göre DPPH radikal süpürücü düzeyleri.....	52
Şekil 5.2	Kureyş üzüm meyve çeşitine ait mg trolox/g kuru madde miktarlarına göre DPPH radikal süpürücü düzeyleri.....	55
Şekil 5.3	Tahannebi üzüm meyve çeşitine ait mg trolox/g kuru madde miktarlarına göre İndirgeme gücü düzeyleri.....	55
Şekil 5.4	Kureyş üzüm meyve çeşitine ait mg trolox/g kuru madde miktarlarına göre İndirgeme gücü düzeyleri.....	54
Şekil 5.5	Tahannebi üzüm meyve çeşitine ait mg gallik asit/g kuru madde miktarlarına göre toplam fenolik madde düzeyleri.....	57
Şekil 5.6	Kureyş üzüm meyve çeşitine ait mg gallik asit/g kuru madde miktarlarına göre toplam fenolik madde düzeyleri.....	58
Şekil 5.7	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat	58

	dönemlerindeki Gallik asit düzeyleri.....	
Şekil 5.8	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki prokateşik asit düzeyleri.....	59
Şekil 5.9	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki 4-Hidroksi benzoik asit düzeyleri.....	59
Şekil 5.10	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Neoklorojenik asit düzeyleri.....	60
Şekil 5.11	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki (+)-Kateşin düzeyleri.....	60
Şekil 5.12	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Vanilik asit düzeyleri.....	61
Şekil 5.13	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Prosiyanidin-B2 düzeyleri.....	61
Şekil 5.14	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Şirinjik asit düzeyleri.....	62
Şekil 5.15	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki (-)-Epikateşin düzeyleri.....	62
Şekil 5.16	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Epikateşin gallat düzeyleri.....	63
Şekil 5.17	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki kaftarik asit düzeyleri.....	63
Şekil 5.18	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Klorojenik asit düzeyleri.....	64
Şekil 5.19	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki t-kafeik asit düzeyleri.....	64
Şekil 5.20	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki p-koumarik asit düzeyleri.....	65
Şekil 5.21	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Elagik asit düzeyleri.....	65
Şekil 5.22	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Rutin düzeyleri.....	66
Şekil 5.23	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Myrisetin düzeyleri.....	66

Şekil 5.24	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Naringin düzeyleri.....	67
Şekil 5.25	Kureyş ve Tahannebi üzüm meyve çeşitlerinin farklı hasat dönemlerindeki Epigallo kateşin gallat düzeyleri.....	67
Şekil 5.26	280 nm dalgaboyundaki polifenol standartları için HPLC kromatogramları	70
Şekil 5.27	320 nm dalgaboyundaki polifenol standartları için HPLC kromatogramları.....	70
Şekil 5.28	360 nm dalgaboyundaki polifenol standartları için HPLC kromatogramları.....	71
Şekil 5.29	K1 üzüm numunesinin 280 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları.....	71
Şekil 5.30	K1 üzüm numunesinin 320 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları.....	72
Şekil 5.31	K1 üzüm numunesinin 360 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları.....	72
Şekil 5.32	T1 üzüm numunesinin 280 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları.....	73
Şekil 5.33	T1 üzüm numunesinin 320 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları.....	73
Şekil 5.34	T1 üzüm numunesinin 360 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları.....	74

ÇİZELGELER LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Polifenollerin genel sınıflandırılması.....	14
Çizelge 4.1 Hasat yapılan kayısı çeşitleri ve hasat tarihleri.....	40
Çizelge 4.2 Belirlenen hasat dönemlerindeki üzüm özellikleri.....	41
Çizelge 4.3. Alınan üzüm çeşitleri ve kodlaması.....	42
Çizelge 4.4 Kullanılan polifenol standartları.....	46
Çizelge 5.1 Üzüm çeşitlerinin % nem oranları.....	51
Çizelge 5.2 Üzüm çeşitlerinin DPPH radikal süpürme gücü düzeyleri.....	52
Çizelge 5.3 Üzüm çeşitlerinin indirgeme gücü düzeyleri.....	54
Çizelge 5.4 Üzüm çeşitlerinin toplam fenolik madde düzeyleri.....	56
Çizelge 5.5 Tahannebi Üzüm Çeşidi Hasat Dönemleri ve Fenolik Bileşiklerin Düzeyleri.....	68
Çizelge 5.6 Kureyş Üzüm Çeşidi Hasat Dönemleri ve Fenolik Bileşiklerin Düzeyleri.....	69

SİMGELER VE KISALTMALAR

DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
TEAC	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Aktivite
CUPRAC	Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
FCR	Folin Ciocalteu ayırıcı
FRAP	Demir(III) İyonu İndirgeme Antioksidan Gücü
ABTS	2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
DAD	Diode Array Dedector
RNS	Reaktif azot türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
GSH	Glutasyon
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
TBHQ	Tert-Butylhydroquinone
GC	Gaz Kromatografisi
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
CE	Kapiler Elektforez
SÇKM	Suda Çözünür Katı Madde
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
TA	Toplam asitlik
TP	Toplam fenolik

1.GİRİŞ

Farklı değerlendirme yöntemlerinin oluşu, iklim ve toprak istekleri yönünden çok seçici olmayışı, çok yıllık olması ve çoğalma yöntemlerinin kolay oluşu gibi etkenlerin etkisi ile Dünya'daki en yaygın kültür bitkilerinden biri asmadır. Ülkemiz ise sahip olduğu iklim özellikleri, coğrafik çeşitlilik ile üzüm yetiştiriciliğinde tür ve çeşit zenginliği nedeniyle önemli bir bağcılık merkezidir.

Üzüm bileşiminde organik asit, mineraller, aroma maddeleri, şeker, enzim, vitamin ve fenolik bileşikler içerir [1]. Ayrıca üzümün yetiştigi iklim ve toprak yapısının, üzümün fenolik bileşik ve antosiyanin içerikleri üzerine önemli etkileri bulunmaktadır [2]. Üzümün içerdiği bileşenlerin tür ve miktar olarak zengin oluşu; üzüm meyvesini ve üzümde elde edilen ürünleri, beslenme, hastalıklardan korunma ve tedavi amaçlı olarak önemli kılmaktadır.

Üzümün aktif büyüme sürecinde bileşimindeki maddelerin konsantrasyonunda ve çeşitliliğinde önemli bir takım değişiklikler oluşmaktadır. Olgunlaşma sırasında asmanın organlarında biyokimyasal nitelikte birtakım değişiklikler meydana gelmektedir. Ayrıca asmada hastalıklara ve düşük sıcaklıklara dayanma gibi bazı stres faktörleri de fenolik bileşikler ve mineral maddelerin miktarlarının değişimi açısından önemlidir [3].

Üzümdeki bileşenlerin aktif büyüme dönemlerinde miktarlarının belirlenmesi, farmakolojik açıdan değerlendirilme faktörlerinin ortaya konulması bakımından önemlidir. Ayrıca üzümdeki fenolik bileşenlerin hangi gelişme döneminde ne oranda bulunduğunun bilinmesi gıda ve ilaç sektörüne sağlayacağı katkılar kadar, Malatya İlinde çok miktarlarda yetiştirilen üzümün farklı şekillerde ekonomiye kazandırılması açısından da önem arz etmektedir.

Bu çalışmada; Malatya ilimizde yaygın olarak üretilen Kureş ve Tahanneni çeşitlerinin çiçeklenmeden hasat zamanına kadar olgunlaşma safhasındaki fitokimyasal bileşiklerinin değişimi incelenmiştir. Üzüm çeşitlerinin olgunlaşma safhasındaki toplam fenolik madde içerikleri, radikal süpürücü düzeyleri, indirgeme gücü kapasitesiteleri spektrofotometrik yöntemle ve sıvı kromatografisi (HPLC) ile her bir fenolik bileşenin miktarının araştırılması hedeflenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Üzüm Meyvesinin Özellikleri

Üzüm(*Vitis vinifera* L.) botaniktecins adı *Vitis* olan odunsu, sarmal tırmanan geniş yapraklı ve yaprak döken bitkinin meyvesidir.Yaz mevsiminde küçük taneli ve salkımlı; rengi yeşilden mor ve siyaha kadar değişen bir meyvedir[4]. Dünyada meyve üretiminde en çok asma çeşidiçerentür *Vitisvinifera* L.'dir. Bu tür içerisinde 10.000'ninüzerinde çeşit mevcut olup dünyadaki üretimin %90'nından fazlasını oluşturmaktadır. Dünyada ilk kez asmanın bulunuşu MÖ6000-5000 yıllarına kadar dayanır. Anavatanı Anadolu'yu da içine alan Küçük Asyadenilen, Kafkasya'yı da kapsayan bölgedir. Anadolu 1200'den fazla asma çeşitinin anavatanıdır[5].



Şekil 2.1.Üzüm çeşitleri

Üzümde yoğun olarak bulunan glikoz ve fruktoz şekerleri difüzyon yoluyla doğrudan kana geçme özelliğinden dolayı özellikle bebek ve çocukların beslenmesinde önemlidir.İnsan sağlığı üzerinde önemli rolleri olan üzüm ve üzüm ürünleri, değişik tat ve besin değerlerinin yanında vitamin ve mineralce de zengin olmasından dolayı enerji kaynağı olarak kullanılır.Üzüm, güzellik iksiri, gerçek beyin besini ve zayıflama rejimlerinin ana ürünüdür. Kabuk ve çekirdekleri bağırsak metabolizmasını hızlandırır. Hücrelerde değişim sonucunda tümör oluşumuna izin verebilecek hücre için moleküller üzerine serbest radikallerin saldırısını bloke eder ve sonuçta kanser oluşumunu engeller. Alerji ve kireçlenmelerde iltihap oluşumunu engeller. İçerdiği bioflavonoidler sayesinde C vitamini aktivitesini arttırır [6].

Considine ve Considine (1982) ve Fidan ve Yavaş (1986)'ya göre üzümde bulunan mineral maddeler, asma tarafından topraktan alınarak, bitki ve meyveye geçer. Miktarları da belirli sınırlar içinde olmakla birlikte, üzümün çeşidi, olgunluk dereceleri,

toprağın cinsi, gübreleme ve iklim koşullarına göre değişebilmektedir. Genel olarak kurak iklim koşullarında ve kurak geçen yıllarda mineral madde miktarları daha düşüktür. Mineral maddelerin miktarları, toprak koşullarından etkilenirse de, bazı elementlerin durumunu atmosfer koşulları, bazılarını da bitki hastalıkları ve zararlılarına karşı kullanılan mücadele ilaçları etkilemektedir [7].Potasyum (K), kalsiyum(Ca), fosfor(P),sodyum(Na), demir(Fe), ve magnezyum (Mg) gibi mineraller asma tarafından topraktan alınır; meyveye taşınır.Özellikle üzüm ve pekmezde fazlaca bulunan demirin insan bünyesinin çok rahat bir şekilde kullanabildiği (+2) değerlikli demir formunda olması, demir emilimi açısından önemlidir.Üzümde başlıca tartarik asit, malik asit, sitrik asit, oksalik asit ve salisilik asit gibi organik asitler bulunmaktadır [8]. Üzümlerde başlıca iki asit isetoplam asitlerin % 70-90'ını oluşturan tartarik asit ve malik asittir. Üzümün yapısında bulunan azotlu maddelerden; glutamikasit, arginin, treonin ve prolin üzümdeki amino asitlerin % 85'ini oluştururlar. Vitamine de zengin olan taze üzüm incelendiğinde; başta inositol ve tiamin (B1) olmak üzere, pantotenik asit (B5), niasin, pridoksin (B6), biotin, folik asit ve az miktarda da riboflavin (B2) bulunur[9].

İklim ve toprak yapısı üzümün bileşimini, üzümün bileşimi de ürün kalitesini belirler. Üzümün bileşiminde bulunan organik asitler, şekerlerle birlikte ürüne özgü karakteristik tat ve kokunun oluşumuna katkıda bulunurlar. Üzümün olgunlaşma düzeyi, hasat zamanı, mikrobiyal bozulma düzeyi üzümdeki organik asit miktarıyla tespit edilebilmektedir[10].Ayrıca üzümün yetiştiği iklim ve toprak yapısının, üzümde elde edilen şarapların fenolik bileşik ve antosiyanin içerikleri üzerine önemli etkileri bulunmaktadır. Nitekim, bağın bulunduğu yerin yüksekliğıarttııkça antosiyanin miktarının arttığını, ancak profil olarak farklılık göstermediğini bildirmiştir [2].Anlı (2001), yapmış olduğu bir çalışmada Boğazkere, Öküzgözü ve Kalecik Karası asma çeşitlerinden üretilen kırmızı şarapların aminoasit profillerini çıkarmış ve örnekleri amino asit içerikleri bakımından birbirleriyle karşılaştırmıştır. Elde ettiği sonuçlara göre; çeşit, yıl ve yöre farklarının aminoasit içeriği üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu bildirmiştir [11].Fenolikbileşikler sadece üzümde değil asma çeşitlerinden farklı dönemlerde alınan yaprakörneklerinde de önemli oranda değişmektedir.Vitis labrusca(Isabella) ve Vitis vinifera L. türüne (Barış, Italia, Tekirdağ çekirdeksiz, Trakya ilkerenve Yalova İncisi) ait 6 asma çeşidine ait olgun yapraklarda fenolik bileşikler toplamfenolik madde, tannik asit ve mineral madde miktarlarındaki değişimler saptanmıştır [12].Bağ alanlarının bulunduğu yerin iklim özelliklerinden sıcaklık, nem, güneşlenme başta olmak üzere yer ve yön konuları fenolik bileşikler ve antioksidan

maddeler ilediğer fitokimyasal maddelerin sentezlenmesini etkileyen önemli etkenlerdir.Kliewer (1970) ve Kliewer ve Lider (1970) üzümdeki organik asit içeriği üzerine sıcaklık ve ışığın etkisini belirlemek için yaptığı çalışmada, düşük sıcaklıklarda yetişen üzümde yüksek sıcaklıklarda yetişen üzümlere göre olgunlaşma süresince toplam asit ve malatların daha fazla oranda üretildiğini bildirmektedir [13].Üzümde olgunluk ve olgunluğu oluşturan tüm bileşenlerüzerinde çok önemli etkiye sahip bu faktörler dikkate alınarak son yıllarda ülkemizde farklı ekolojilerde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin fitokimyasal özelliklerinin belirlenmesine yönelik bazı çalışmaların yapıldığı görülmektedir [14-17].

Genel olarak üzüm bileşimde;

Sıvı fazda ve şırada:

- Şekerler
- Organik asitler

Katı fazda (kabuk ve çekirdek bileşenleri)

- Renksiz fenol bileşikleri (çöp, kabuk ve çekirdeklere)
- Pektik maddeler
- Renkli fenol bileşikleri (kabuklarda)
- Aroma maddeleri

Hem sıvı hem de katı fazda bulunanlar

- Azotlu maddeler
- Enzimler
- Vitaminler
- Mineraller,

bulunmaktadır.

Ayrıcaüzüm aminoasit ve antioksidan içeriği sebebiyle sağlıklı ve dengeli beslenmede mutlaka alınması gereken bir gıdadır.Üzüm ve üzüm ürünlerinin besin değeri ve kimyasal bileşimi taze olması ya da işleme sonucu dönüştüğü ürüne göre değişmektedir.Bağışıklık sistemini kuvvetlendirmede, böbrek ve karaciğer işlevini artırmada, karaciğer hastalıkları ve kansızlığın tedavisinde etkili olabilmektedir. Aynı

zamanda kanın temizlenmesini, vücut yağlarının erimesini, vücutta biriken zararlı maddelerin atılmasını sağlar. Ayrıca yağlı bileşiklerin kılcal damarlarda birikmesini önlemede ve kanı sulandırarak kalp damar sistemini korumada da faydalı bir gıdadır.

Üzümdeki bileşenlerin biyolojik aktivitesinden dolayı halk arasında ilaç olarak kullanılması çok eski tarihlere dayanmaktadır. Üzümün yaprakları hemostatik özelliklerinden dolayı ishal, kanama, varis, hemoroit, inflamatuvar bozukluk, ağrı, hepatit, kan çıbanı gibi hastalıkların tedavi etmek için Anadolu'da yüzyıllarca kullanılmıştır [18]. Üzüm yaprağının suyu göz rahatsızlıklarında antiseptik olarak kullanılmıştır [19]. Bunun yanında, son zamanlarda yaprakları antioksidan takviyeli diyetlerde kullanılmaktadır [20].

Son dönemlerde yapılan çalışmalar, üzüm çekirdeğinin kanıtlanmış en kuvvetli antioksidan olduğunu ortaya koymuştur. Üzüm çekirdeğinin kalp damar sertliğini önlediği; hipertansiyon, kalp krizi ve felç olasılığını düşürdüğü tespit edilmiştir. Bunun yanında üzüm çekirdeğinin sürekli bilgisayar başındaki kişilerin göz sağlığını da koruduğu bildirilmiştir.

Son yıllarda analiz tekniklerindeki gelişmelere paralel olarak üzüm ve üzümde elde edilen ürünlerin bileşiminde sağlık açısından çok yararlı ve bazı rahatsızlıkları engelleyebilen yeni maddelerin bulunduğu tespit edilmiştir. Bunlardan en önemlisi de güçlü bir antioksidan olan fenol bileşikleridir. Üzüm bol miktardaki fenolik içeriğinin %46-69'unu çekirdek, %12-50'sini kabuk ve %8 ya da daha azını ise etli kısmında bulundurur [21]. Çeşitli çalışmalar üzümün içerdiği antioksidan bileşiklerin fenolik asitler, stilbenler (resveratrol), flavonoidler (kateşin, epikateşin, kaempferol, quercetin, mirisetin) ve antosiyaninlerden oluştuğunu ortaya koymuştur [22,23]. Bu bileşiklerden en fazla bulunanın ise kateşin olduğu Singleton [24] tarafından bildirilmiştir ve yine bu flavonoidin üzümün en çok çekirdek ve kabuk kısmında bulunduğu tespit edilmiştir [25]. Cheynier ve Rigaud [26] ile Wulf ve Nagel [27] yaptıkları araştırmalarında beyaz ve kırmızı üzümlerde flavonollerin sadece kabuk kısımlarında bulunduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde resveratrolün de üzümün kabuk kısmında bol miktarda bulunduğu gösterilmiştir [28].

2.2. Türkiye’de Üzüm Üretimi

Üzüm dünyanın birçok alanında yetiştirilmekte olan bir meyvedir. Ülkemiz ise sahip olduğu iklim özellikleri, coğrafik çeşitlilik ile üzüm yetiştiriciliğinde tür ve çeşit zenginliği nedeniyle önemli bir bağcılık merkezidir. Ülkemizde 2012 yılı üzüm üretimi 4.185.126 ton ile toplam meyve üretiminde % 23’lük bir paya sahiptir. 2013 yılında ise üzüm üretimi 4.011.409 ton ve toplam meyve üretiminde % 23,2’lik paya sahiptir[29].

Üzüm genel olarak sofralık, kurutmalık ve şaraplık olmak üzere değerlendirilmektedir. Ancak, ülkemizde geleneksel tüketim şekilleri de oldukça yaygın olup, üzümünden, pekmez, sirke, köfter, sucuk ve pestil gibi çok farklı ürünler de elde edilmektedir. Bu ürünler daha çok üzümün şırası kullanılarak yapılmaktadır. Son yıllarda doğal ürünlere karşı ilginin giderek artması sonucu, üzümün sırasından elde edilen bu ürünlerin gerek iç tüketimde, gerekse yurtdışı satışlarında önemli gelişmeler göstermesi beklenmektedir. Ülkemizde üretim miktarının fazla olmasından dolayı üretim yapılan üzümün yaklaşık olarak %42’si kurutmalık, %35’i sofralık, %18’i pekmez, pestil, köfter, sucuk gibi geleneksel ürünler; %5’i de şaraplık olarak değerlendirilmektedir[29].

2.3. Üzümde Farklı Olgunlaşma Dönemlerinde Numune Almanın Önemi

Üzüm çeşitlerinin aktif büyüme dönemi içerisinde bileşimlerindeki fenolik bileşiklerle mineral madde değişimlerinin belirlenmesi, yaprakların fonksiyonel gıda üretimi ile farmakolojik açıdan değerlendirilme faktörlerinin ortaya konulması bakımından önemlidir. Ayrıca asmada hastalıklara ve düşük sıcaklıklara dayanma gibi bazı stres faktörleri ile fenolik bileşikler ve mineral maddeler arasındaki ilişkilerin belirlenmesi de en az gıda ve ilaç sektörüne sağlayabileceği katkılar kadar önem taşımaktadır. Olgunlaşma sırasında asmanın organlarında biyokimyasal nitelikte birtakım değişiklikler meydana gelmektedir. Üzümlerin olgunlaşması, üzüm sırasında bulunan şeker-asit miktarı ve bu iki maddenin birbirine oranı ile lezzet durumu da dikkate alınarak açıklanmaktadır [3].

Tane gelişimi başlangıcında kuru madde miktarı yok denecek kadar az, genel asit miktarı çok yüksek iken tane gelişimine paralel olarak asitlik azalırken, kuru madde miktarında artış meydana gelmektedir. Sofralık ve şaraplık üzümlerin kuru madde ve asit miktarlarından faydalanılarak bulunan olgunluk indisiyardımlarıyla çeşitlerin hasat zamanı saptanmaktadır [30].

Üzüm çeşitlerinde kimyasal özelliklerden; toplam fenolik bileşikler ve antosiyanin içerikleri ile antioksidan kapasiteleri ve diğer fitokimyasal özellikler, üzüm çeşitlerine, üzüm tanelerinin çekirdek, kabuk gibi kısımlarına, çeşitlerin yetiştirildiği iklim ve toprak koşullarına, olgunlaşma seviyesine, kültürel uygulamalar ile ürün miktarına göre değişebilmektedir.

Bitkilerin büyüme ve gelişme safhalarında çok sayıda fitokimyasal değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimler içerisinde, fenolik bileşikler ile antosiyanin ve antioksidan maddeler üzüm ve üzümünden üretilen şarap gibi ürünlerin kaliteleri üzerinde doğrudan etkileri dolayısıyla büyük önem taşımaktadırlar. Ülkemizde de bağcılığın gelişebilmesi ve üretimde belirlenen kalite hedeflerine ulaşılabilmesi için; dünyadaki diğer örneklerinde olduğu gibi, farklı ekolojilerde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin fitokimyasal özelliklerinin belirlenmesi gerekmektedir[31-34].

Üzümün olgunlaşması sırasında üzüm tanelerinde meyve tutma aşamasından tam olgunluğa geçene kadar geçen süreçte büyüme dışında birtakım gelişme evreleri bulunmaktadır[28]. Tanelerdeki değişimler devamlı olup, farklı dönemlerde farklı oranlarda seyretmektedir. Olgunlaşma evrelerinin sınıflandırmada ana unsurlar olarak tanelerdeki şeker artışı (değişimi) ve meyve dokularındaki değişim dikkate alınmaktadır.

Yeşil büyüme evresi, tanenin belirginleşmesinden ben düşme aşamasına kadar geçen 50-60 günlük süreyi kapsar ve bu evrede, tanede şeker birikimi görülmez. Bu evrede şeker miktarı şıranın litresinde 10-20 gramı geçmez. Aslında sentezlenen şeker taneye kadar taşınır, ancak hücrelerin büyümesinde kullanılır[35].

Ben düşme evresi çok kısadır. Büyüme hormonlarındaki azalma ile başlar. Bu evrede renk değişmeye başlar, üzümler yeşil renklerini kaybeder. Beyaz üzüm çeşitlerinde tanede saydam ve sarı bir renk belirirken, kırmızı ve siyah çeşitlerinde pembe renk oluşmaya başlar. Bu sırada üzüm tanelerine yoğun bir şeker akışı başlar. Şeker miktarı 10 gramdan 100 grama kadar çıkar, buna paralel olarak organik asit miktarında da azalma gözlenir[36].

Olgunluk evresi; ben düşme evresinden sonra 35-40 günlük bir süreyi kapsar. Gelişmesi sona eren hücrelerde şeker birikimi artar ve bunun sonucu hücreler büyür. Asitlerin azalması devam eder. Bir süre şeker artışının durması üzümün olgunluğa eriştiğini göstermektedir. Bu aşamada meyvede şeker miktarı en yüksek düzeye ulaşır [36].

Son evre, aşırı olgunluk; bağbozumu geciktirildiğinde yani üzümler bir süre daha asmada bırakıldığı zaman aşırı olgunluk evresi başlar. Bitki salkım arasındaki madde alımı sona erdiğinden, iklim koşulları da elverişli olursa, üzümler yavaş yavaş su kaybetmeye başlar. Pulp kısmındaki hücrelerde konsantrasyon artar. Yaprak/meyve oranı yüksek ise üzümlerin şeker seviyesi de yüksek olur. Bir gram meyve başına 10 cm² yaprak yeterli bir oran olup, yeterli seviyede şeker içerir [36].

2.4. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Radyasyon, virüsler, ultraviyole ışınları, sigara dumanı ve hücre metabolizmasının toksik ürünleri, egzersiz, ateşli hastalıklar, çoklu doymamış yağ asitleri içeren diyetler, serbest radikal oluşturan kaynakların bir bölümüdür [37]. Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı sistemde serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalist olarak görev yapmaktadırlar. Demir oksidatif reaksiyonları teşvik etmede daha etkili bir metal iken, Bakır katalizli reaksiyonlar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır [38]. Hayvanlar ve insanlarda fizyolojik ve patolojik koşullarda oluşan reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species, ROS), reaktif azot türleri (reactive nitrogen species, RNS) ve reaktif klor türleri (reactive chlorine species) organizmadaki başlıca serbest radikallerdir.

Reaktif oksijen türleri;

- (1) süperoksit anyonu (O₂⁻),
- (2) hidrojen peroksit (H₂O₂),
- (3) peroksil radikali (ROO[•]),
- (4) hidroksil radikali (OH[•]),
- (5) singlet oksijen (1O₂),

Reaktif azot türleri;

- (1) Azot oksit (NO)
- (2) Azot dioksit (•NO₂)
- (3) Peroksinitrit (ONOO⁻),

Reaktif klor türü;

- (1) Hipoklorik asit (HOCl)'dir [39,40].

Prooksidanlar;lipitlerde, proteinlerde ve nükleik asitlerde oksidatif hasara neden olan ve bunun sonucunda çeşitli patolojik olaylara sebep olan toksik maddelerdir. Prooksidan terimi reaktif türler için kullanılan bir terimdir[41]. Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Vitamin C, E, A, betakaroten, metallotionin, poliaminler, melatonin, NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat),adenozin, koenzim Q-10, urat, ubikuinol, polifenoller,flavonoidler, fitoöstrojenler, sistein, homosistein, taurin,metionin, s-adenozil-L-metionin, resveratrol, nitroksidler,GSH (glutasyon), glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksid dismutaz,tiodoksin redüktaz, nitrikoksid sintaz, hem oksijenaz-Lve eozinofil peroksidaz bu gruba girer [42-44].

Zincirleme reaksiyon teorisine göre, oksijen ile otokside olabilen madde, önce enerji emilmesi ile etkinleştirilerek oksijenle ve bu şekilde meydana gelen etkinleşmiş peroksid molekülleri enerjilerini maddenin yükseltgenebilen başka moleküllerine aktarmakta ve bu suretle otoksidasyon devam etmektedir. Antioksidanlar bu zincirleme reaksiyonu koparıcı rolü oynamaktadırlar. Yani bunlar aktivasyon enerjisini kabul ederler, fakat bu enerjiyi başka moleküllere aktaramazlar. Bu şekilde bir antioksidan molekülünün araya girmesi ile otokside olabilen maddenin birçok molekülü yükseltgenmekten kurtulurlar, yani yükseltgenme yavaşlatılmış olur.

Antioksidanların etki mekanizması hakkında, zincirleme reaksiyon teorisinden başka teoriler de vardır. Bunlardan biri seçimli yükseltgenme teorisidir. Katılan madde, korumak istediği maddeden önce oksijeni tutarak onu bundan koruyabilir. Meyve sularına katılan izoaskorbik asidin bu şekilde askorbik asiti koruduğu sanılmakta olup, bunun hepsi yükseltgeninceye kadar hiç askorbik asit yükseltgenmemektedir [45].

Antioksidan terimi ise Halliwell ve Gutteridge tarafından da şöyle açıklanmaktadır. Antioksidanlar, yükseltgenebilecek maddeye kıyasla daha düşük derişimde bulunduğunda, bu yükseltgenebilecek maddenin oksidasyonunu önemli derecede geciktiren ya da engelleyen maddelerdir[46]. Prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik yani reaktif türlerin, organizmada var olan veya gıdayla alınan antioksidanlarla dengelenememesi durumu oksidatif stres adı verilen hasara yol açar. Böyle bir hasar DNA, yağlar, proteinler, karbonhidratlar gibi biyolojik molekülleri etkileyebilir. Bu nedenle oksidatif stres, mutasyonların meydana gelmesi, kanser oluşması, membran hasarı, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve parçalanması,

karbonhidrat hasarı gibi durumlarla ilişkili olabilmektedir[39-46]. Antioksidanlar, serbest radikalleri nötürleyerek vücudun onlardan etkilenmemesini sağlarlar [37].

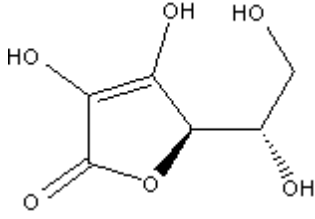
Antioksidan işlevli besinlerden E vitamini, C vitamini ve β -karoten doğrudan serbest radikalleri yok edebilir. Bunlar hücre membranlarında bulunan ve yağda çözünen antioksidanların en önemlileridir. Hücreyi lipid peroksidasyonuna karşı korur. E vitamini; peroksit radikali ve hidroksil radikali gibi oksijen radikallerle, süperoksit radikali ile doğrudan etkileşebilir. Ayrıca doğrudan singlet oksijen ile de reaksiyona girebilir. C vitamini (askorbik asit) suda çözünür ve singlet oksijenin yanı sıra serbest radikalleri de söndürebilir. β -karoten ise A vitamininin öncüsüdür. Bütün bitkilerde bulunan bir pigment olan β -karoten'in doğada bilinen en etkili singlet oksijen söndürücüsü olduğunu ve antioksidan işlevi bulunduğunu gösteren çalışmalar literatürde yer almaktadır. A vitamini singlet oksijeni söndüremez ve serbest radikalleri süpürme yeteneği çok azdır [47].

Sebzeler ve meyveler, içerdikleri çeşitli antioksidanlar sayesinde, kanser, kalp-damar, beyin-damar rahatsızlıkları, gibi hastalıklara karşı koruma sağlarlar. Ayrıca yaşlanmayı geciktirici etkileri vardır. Meyveler ve sebzeler çok sayıda değişik antioksidan bileşenler içerirler. Bir sebze ya da meyvenin antioksidan kapasitesi çoğunlukla, C vitamini, E vitamini ve β -karoten dışındaki 5 bileşenlerden ileri gelir. Örneğin bazı flavonoidler, besinlerde güçlü antioksidan aktivite gösteren bileşenlerdendir [48].

2.5. Doğal Antioksidanlar

2.5.1. C Vitamini

Askorbik asit olarak da adlandırılan C vitamini (Şekil 2.2) suda çözünebilen önemli bir antioksidandır ve etkili bir reaktif oksijen türleri süpürücüsüdür[49]. Askorbik asit oksijen tutma özelliğine sahip olduğundan renk solması ve doğal kokularını kaybetme özelliği olan besinler için önemli bir antioksidan olarak yıllardır kullanılmaktadır. Çoğu hayvanlar ve bitkiler, kendi C vitaminlerini glikozdan üretebilirler. Bazı meyve yarasaları, hint domuzu ve insanlar C vitamini üretmediklerinden bunu besinlerden almak zorundadırlar[45,50]. Yeşil yapraklı sebzeler, portakal, limon, greyfurt gibi turunçgiller, taze biber, domates, çilek, kuşburnu, ananas, kivi, karnabahar, soğan, turp, Frenk üzümü ve şeftali C vitamini kaynağıdır[51,52].

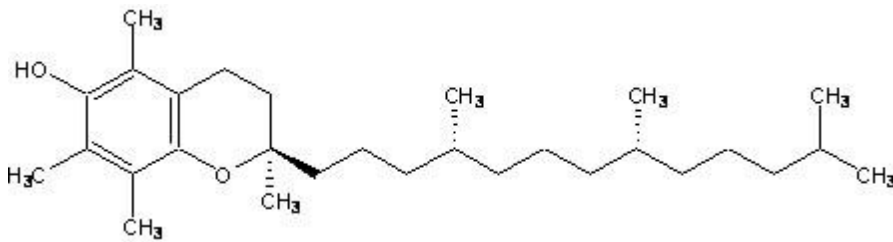


Şekil 2.2.C vitamininin kimyasal yapısı

2.5.2. E Vitamini

E vitamini yağda çözünen önemli bir antioksidandır ve özellikle hücre zarları ve lipoproteinlerde önemli antioksidan işlevler görmektedir. Epidemiyolojik ve sınırlı ara çalışmalar, E vitamininin kardiyovasküler hastalıkların, bazı kanserlerin ve diğer kronik hastalıkların riskini azalttığını belirlemektedir[51].

Şimdiye kadar doğada E vitamini etkisini gösteren sekiz bileşik bulunmuştur. Bu bileşikler α -, β -, γ - vb. tokoferoller diye de adlandırılır. Tokoferoller arasında en aktif olanı α -tokoferol (Şekil 2.3)'dür. Tokoferollerin en önemli özellikleri 6 numaralı karbon atomundaki -OH grubundan ileri gelen antioksidan etkileridir. A vitamininin ve doymamış yağ asitlerinin yükseltgenmesini önlemede çok etkilidirler. Ayrıca E vitamininin hücre zarındaki lipidlerde peroksitlerin oluşumunu kısmen inhibe ettiği de ileri sürülmektedir[53]. Tokoferoller ayrıca selenyum indirgen formda tutarak antioksidan kapasitesine katkıda bulunmaktadırlar[54]. Bitkisel yağlar, fındık, fıstık, ceviz gibi yağlı tohumlar, tam tahıllar, kurubaklagiller ve yeşil yapraklı sebzeler, yumurta, süt ve süt ürünleri önemli E vitamini kaynaklarıdır [51].

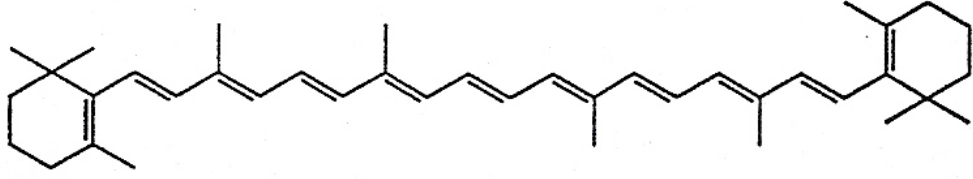


Şekil 2.3. α -tokoferol'ün kimyasal yapısı

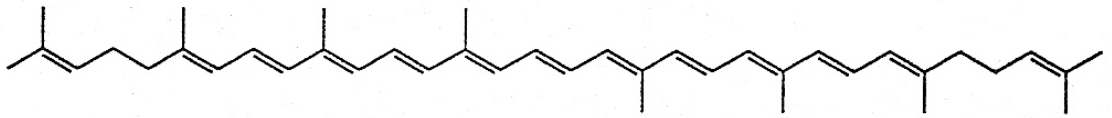
2.5.3 Karotenoidler

Karotenoid bitkilerde ve bazı diğ er fotosentetik mikroorganizmalarda (yosunlar, bazı mantarlar ve bazı bakterilerde) bulunan biyolojik pigmenttir. Altı yüzün üzerinde bilinen karotenoid vardır; ksantofiller ve karotenler olarak iki sınıfa ayrılır [55]. Doğ al pigmentler olan karotenoidler bitkilerde sentezlenir, sarıdan kırmızıya kadar renklendirme özellikleri vardır; yaklaşık olarak 100.000.000 renk tonunu verebilirler. Hayvansal dokulara yem olarak tüketildikleri takdirde taşınırlar. Fakat hayvanlar için de önemlidir [45]. Hidroksi, keto, epoksi, metoksi veya karboksilik asit grubu gibi en az bir oksijen grubu taşıyan oksijenlenmiş hidrokarbon türevleri olan ksantofillerdir [54].

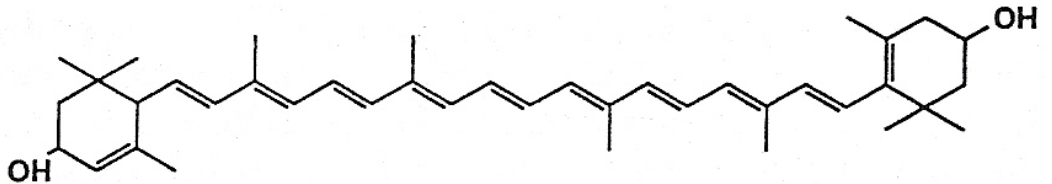
Likopen (ş ekil 2.4), β -karoten (ş ekil 2.4) ve α -karoten karotenler olarak adlandırılan; β -kriptoksantin, lutein (ş ekil 2.4) ve zeaksantin, ksantofiller olarak adlandırılan karotenoid sınıfına örnek olarak verilmektedir [56]. Yapılarındaki konjuge çift bağ lar, kimyasal, biyokimyasal ve fiziksel özelliklerini etkiler [54].



β -karoten



Likopen



Lutein

Ş ekil 2.4. β -karoten, likopen ve lutein'in kimyasal yapıları

Çoğu çiçek ve meyvelerin renkleri gibi birçok kuş, böcek ve deniz hayvanlarının renklerinden de sorumludurlar. Karotenoidlerin insan sağlığı üzerinde önemli etkileri vardır [56]. Yapıları gereği serbest radikalleri etkili bir şekilde bertaraf ederler ve bağışıklık sistemini güçlendirirler. Epidemiyolojik çalışmalarda; diyetinde ve kan plazmasında yüksek oranda beta-karoten bulunan kişilerde akciğer kanser riskinin anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur [50]. Öte yandan sigara kullananların yüksek dozda beta-karoten almasının kanser riskini artırdığı bulunmuştur. Karotenoidlerin yapısındaki konjuge çifte bağlar yüksek antioksidan aktivite göstermelerine yol açmaktadır[57,58]. Dolayısıyla karotenoidler biyolojik antioksidan gibi davranmaktadırlar[59]. Karotenoidlerin singlet oksijen türleri ve serbest radikalleri süpürücü etkisi vardır[57,58]. Karotenoidlerin karakteristiği olan konjuge çifte bağlar bazı koşullarda prooksidan aktivite de gösterebilmektedir. β -karoten fizyolojik koşullar altında, düşük oksijen basıncında serbest radikal süpürücü etkiye sahiptir ancak yüksek oksijen basıncında prooksidan etki göstermektedir.

2.5.4. Fenolik Bileşikler ve Polifenoller

2.5.4.1. Polifenoller

Polifenoller fonksiyonel gıdalar ve nutrasetikaller olarak bilinen tıbbi önemi ve etkileri kanıtlanmış olan biyokimyasal ve organik gıda ürünlerinin doğal yapısında bulunan bileşiklerdir. Fenolik bileşikler ve daha yaygın olarak kullanılan ismi ile polifenoller benzen halkası içeren maddelerdir. Fenoller en basit bileşikleri bir adet OH grubu içermektedirler. Fenolik asitler; meyvelerde sinamik asit, kafeik ve kumarik asitler ve ferulik asittir. En yaygın sinamik asit türevi kafeik asitin quinik asit ile yaptığı ester olan “klorogenik asittir”. Diğer bir grupta çok az bir miktarda benzoik asit ve en büyük grubu teşkil eden flavonoidlerdir. Antosiyanidinler, flavonlar ve flavonolar, flavanolar, kateşinler ve proantosiyanidinler (löykoantosiyanidinler), proantosiyanidinlerdir [60].

Polifenoller (hidroksi benzenler) özellikle iki ve daha çok fenol grupları içeren, insan ve hayvan diyetleri içerisinde yer alan bitkiler içerisindeki yapılardır (Çizelge 1.1). Bu maddeler vitaminler ve mineraller gibi geniş tabanlı diyet gruplarıdır. Polifenollerin sağlığa olumlu etkilerinden yararlanmak için hayat tarzı haline getirilen, ömür boyu

uygulanacak beslenme alışkanlıkları esas alınmalıdır. Önemli olan koruyucu, önlem alıcı veya önleyici beslenme alışkanlıklarıdır. Bu bileşiklerin bulunduğu meyveler birkaç kerelik yeme ile ilaç etkisi veya tedavi edici etki yaratmayacaktır [61].

Günümüzde sekiz bindenfazla polifenol türevli madde tespit edilmiştir. En basit fenollerden en karmaşık yapı olantaniinlere kadar bu maddeler bitki yapılarında bulunmaktadır[62]. Son zamanlardaki çalışmalarında polifenollerin kanser ve geriatrik bozuklukların önlenmesinde önemli rol oynadıkları belirlenmiştir. Antioksidan polifenollerin oksidatif stresi (reaktif oksijen ile meydana gelen stres) azaltmalarından dolayı kardiyovasküler hastalık ve kanser risklerini de azalttığına dair bulgular vardır. Bu bileşiklerin Alzheimer hastalığının başlangıcını da geciktirdiği gösterilmiştir[63].

Son yıllarda yeni türler olarak tanımlanan polifenollerin hayvan hücre sistemi içerisinde antioksidan, anti-inflammatör, anti-östrojenik, anti-mutajenik, antikanseröjenik etkilerinin olduğu belirlenmiştir[64]. Ayrıca bazı çalışmalarla da polifenol bileşiklerin, serbest radikallerin kaynağına ve konsantrasyonuna bağlı olarak hem antioksidan, hem de prooksidan olarak rol oynadığı, diyet fenoliklerinin belli şartlarda sitotoksik ve prooksidan özellikler sergilediği rapor edilmiştir[65]. Epidemiyolojik veriler; kardiyovasküler hastalıklar ve felç kalma sıklığı ile polifenolce zengin besinlerin (meyveler, sebzeler, kakao içeren çikolata vs.) ya da içeceklerin (üzüm suyu, çay vs.) tüketimi arasında negatif bir ilişkinin olduğunu göstermiştir.

Önemli oranda polifenol içeren bitkiler arasında kuş üzümü, böğürtlen, ahududu, çilek, baklagiller, yerba mate (Paraguay çayı), yer fıstığı, yeşil çay, asitsiz zeytin yağı, kakao, erik, armut, kiraz, nar, üzüm, elma, portakal gibi meyveler ile brokoli, lahanalar, maydanoz, soğan gibi sebzeler sayılabilir. Arı sütü, bal ve polen ile her türlü hububat da alternatif polifenol kaynağıdır.

Çizelge 2.1. Polifenollerin genel sınıflandırılması

Fenolik Asitler	C6-C1	Gallik asit, vanilik asit, siringik asit, tannik asit
Hidroksisinnamik Asit	C6-C3	Ferulik asit, <i>p</i> -kumarik asit, kafeik asit
Kumarin, İzokumarin	C6-C3	Ummelliferon, aeskuletin, skopoletin
Stilben	C6-C2-C3	Resveratrol
Flavonoid	C6-C3-C6	Apigenin, EGCG, genitein, kamferol, mirisetin, rutin, kuersetin

Biyolojik aktiviteleri olan polifenol yapıları içerisinde en önemli ve yaygın olan yapılar flavonoidlerdir. Flavonoidler bitkilerde renk verici pigmentlere sahiptirler. Bu gruptayaklaşık beş bin madde bulunmaktadır.

2.5.4.2. Fenolik Bileşikler

2.5.4.2.1. Flavonoidler

Flavonoidler antioksidan özellikleri olan yani vücuda zarar veren öğeleri etkisiz hale getiren bitkisel maddelerdir. Çeşitli flavonoid türleri bulunmaktadır. Kimyasal yapı ve şekillerinden kaynaklanan farklılıklar nedeniyle bu değişik türlerin vücuttaki etkileri de farklıdır. Flavonoidler aynı zamanda meyve ve çiçeklere renklerini veren, çevresel stres faktörlerine karşı bitkilerde koruma sağlayan maddelerdir

Aktif doğal antioksidanlar olan flavonoidlerin temel yapısını, bir flavan nükleusu oluşturur. Flavan nükleusu; 2 aromatik halkanın (A ve B) bir oksijen içeren pirone halkasıyla (C) birleşmesinden meydana gelir (Şekil 2.5).

Flavonoidler; glikozidazlar, izoprenoidler ve alifatik eterler içerir. Polariteye ve suda çözülebilen halkasal bir yapıya sahiptirler. C halkasındaki yapısal farklılıklar flavonoidleri 19 farklı gruba ayırır. Yapılan sınıflandırmalara göre flavonoidler kendi içerisinde 14 gruba ayrılır:

1. Antosiyaninler: Hidroksil-4-dihidro flavonoller
2. Antosiyanidler: Antosiyanidlerin glikozidleri
3. Flavonoller: 2-fenil-3-hidroksi-kromonlar
4. İsoflavonoller: 3-fenil-2-hidroksi-kromonlar
5. Flavonlar: 2-fenil-kromonlar
6. İsoflavonoller: 3-fenil-kromonlar
7. Flavanonlar: 2-fenil-3-dihidro-kromonlar, 2-fenil-flavanonlar
8. İsoflavonlar: 3-fenil-2-dihidro-kromonlar
9. Flavanollar: 2-fenil-3-hidro-3-hidroksi kromonlar (katesinler)
10. İsoflavanollar: 2-hidro-2-hidroksi-3-fenil-kromonlar
11. Flavanlar: 2-fenil-di-hidro-benzo gama piranlar
12. İsoflavanlar: 3-fenil-di-hidro gama benzo piranlar
13. Auronlar: Benzo-furonlar
14. Koumarinler: Benzo gama piron türevleri

Flavonoller (3-hidroksiflavon), flavonun 3 no'lu C atomuna bağlı bir hidroksil grubu taşırlar.. En önemli flavonoller kuersetin, glikozitlenmiş kuersetin (rutin), kamferol, mirisetin, izoramnetindir. Kuersetin, bitkilerin temel fenolik bileşenidir; elmada, soğanda, çayda ve lahanada bol miktarda bulunmaktadır [66,67].

Flavonoidlerin C halkasında bulunan C-4' deki karbonil grubunun mevcut olmaması halinde flavanol oluşur. Flavanoller flavonların indirgenmiş türevleridir. En önemlileri kateşin ve epikateşin'dir. Kateşin ve epikateşinin gallik asitle kombinasyonları sonucu 12 kateşin ve epikateşin gallatlar meydana gelir. Bu bileşikler çoğunlukla yeşil ve siyah çayda, kırmızı ve beyaz şarapta, şeftalide, elmada, alıç, maydanoz,soya fasulyesi, yer fıstığı, hardal, pirinç, susam, zeytin, patates, yulaf, zeytin gibi sık tüketilen besinlerde bulunmaktadır.Flavonoidler oksidatif hasara karşı etkili olmasından dolayı kanser, diabet ve kardiovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkileri vardır. Flavonoidlerin antioksidanaktivitelerinin hidroksil gruplarının pozisyonu ve sayısı ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Birçok flavonoid molekülünün en çok bilinen özelliklerinden biride serbest radikalleri tutma özelliğidir. Yüksek derecede reaktif olan bu serbest radikallerin çoğunluğu normal fizyolojik olaylar sırasında özellikle solunum zincirinde ve oksijenazlar ile katalizlenen oksidasyonlarda meydana gelir.Flavonoidlerin prooksidan özelliği bunların mitokondrial solunumu inhibe edici özelliğinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Flavonoidlerin insan ve hayvanlarda, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalardan sağlanan verilere göre antiviral, antialerjik, metal iyonu tutucusu, hipoglisemik, hipolipidemik, antiinflamatuvar ve antitümör aktivitelerinin olduğu saptanmıştır[68]. Flavonoidleri insan yaşamı süresince devamlı olarak tüketmektedir. Çünkü bubleşiklerin başlıca kaynakları olan sebzeler, meyveler ve bunların içecekleri vazgeçilemez besin gruplarıdır. Bazı aşırı durumlar hariç (yüksek miktarda intravenöz enjeksiyon gibi) onların önemli bir toksikolojik riski ya da etkisi yoktur. Bu moleküllerin en önemli fonksiyonlarından biri biyolojik olarak redükleyici olan (özellikle askorbik asit) moleküller üzerinde koruyucu etkileri olduğu düşünülmektedir.

Hücre ve dokularda çeşitli metabolik olaylarda görev alan birçok enzim, flavonoidler tarafından etkilenir. Bu enzimler; DNA (deoksibononükleik asit) sentetazlar, RNA (ribonükleik asit) polimerazlar, fosfatazlar, proteinfosforokinazlar, oksijenazlar ve amino asit oksidazlardır. Serbest radikallerin oluşumu yaşlanma ile artar ve bu artışa bağlı olarak, yaşlılarda karsinogenesiz olayı ile ilgili olarak hücre ölümleri ve tümör oluşumu gibi vakalarda artışlar meydana gelir. Ayrıca serbest radikaller, membran fonksiyonu, metabolizma ve gen ekspresyonu üzerinde etkili olarak hücrenin aktivitesi etkiler.

Flavonoidlerin serbest radikalleri süpürücü etkilerinden dolayı genellikle antikanserojen olandoğal ürünler olarak görülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, sebze ve meyve tüketimiyle insan kanserleri riski arasında zıt bir ilişki olduğunu göstermiştir. Wang ve ark., tarafından yapılan çalışma ile insan kanser hücrelerinde apigenin flavonoidinin tümör büyümesini engellediğini, hücre döngüsünü durdurduğunu ve apoptozise neden olduğunu bildirmiştir[69]. Hertog ve ark., yapmış oldukları çalışma ile flavonoidlerin oksidatif hasara karşı etkili olmasından dolayı kanser, diyabet ve kardiovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkileri olduğunu bildirmişlerdir[70]. Heim ve ark.'nın postmenopoz dönemdeki kadınlarda yaptıkları araştırma sonucunda yüksek miktarda flavonoid içeren besinlerin alınmasıyla kalp hastalığının ortaya çıkış riskinin % 38 oranında azaldığı belirtilmiştir[71]. Kanser önlenmesindeki diyetle ilgili çalışmalar da, göğüs ve kolon kanseri modellerinde flavonoidler sayesinde kanserin önlenebileceğini göstermiştir. Kanser oluşumunda rolü olan birçok metabolik yoldaki enzim aktiviteleri, flavonoidler tarafından etkilenir. Bu enzimlerin çoğu flavonoidler tarafından inhibe edilir.

Antosiyaninler; meyve, sebze ve bitkilere renk veren, suda çözünen doğal pigmentlerdir [72,73]. Renk vermelerinin dışında antosiyaninler sağlık

içinfaydalıdır.Sağlığa yararlı oluşları antioksidan özellikleri, kronik iltihap ve kardiyovasküler yüksek tansiyona olan etkileri, kanser önleyici olmaları ile ilgilidir[74]. Değişik antosiyaninlerin arasındaki farklılıklar; hidroksi gruplarının sayısı, moleküle bağlı şekerlerin yapısı ve sayısı, bu bağlanmanın konumuyla ve moleküldeki şekerlere bağlı alifatik ya da aromatik asitlerin yapıları ve sayılarıyla ilişkilidir[72]. Antosiyaninler sadece serbest radikal süpürücü değildirler. Demir, çinko, bakır gibi ağır metalleri bağlama yeteneğine de sahiptirler. Ayrıca glutatyon-S-transferaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimleri uyarıcıdır. Antosiyaninlerin C vitamini ve diğer flavonoidler üzerinde sinerjik etkileri de vardır. Genellikle glukoz, galaktoz, arabinoz, ramnoz, ksiloz, fruktoza bağlıdır [73]. Antosiyaninler polar çözücülerde çözülürler ve normalde bitki materyallerinden az miktarda hidroklorik asit ya da formik asit içeren metanol çözeltisiyle ekstrakte edilirler. Asit, çözeltinin pH değerini düşürür ve açillenmemiş antosiyanin pigmentlerinin bozulmasını engeller [72].

Üzümlerde kırmızı, mavi, mor ve siyah renkler antosiyanin pigmentlerinden kaynaklanır. Antosiyaninler çoğunlukla tane kabuğunda yer almaktadırlar. Üzümlerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinler; pelargonidin, siyanidin, delfinidin, peonidin, petunidin ve malvidindir [75].

2.5.4.2.2. Resveratrol

Resveratrol (trans-3,4',5-trihydroxystilbene), bitkilerin çoğunda bulunan birfenolik bileşiktir. Bitkilerin fungi patojenlerini inhibe eder, bitki-parazit etkileşimini düzenler [76]. Resveratrol sınırlı sayıda bitki tarafından (yaklaşık olarak 31 tür) sentezlenir. Normalde bitkilerde yüksek miktarlarda bulunmamaktadır, ancak stres durumlarında sentezi artırılmaktadır.

Gorham ve ark., resveratrolün östrojenik, anti-platelet ve anti-inflamatuar özellikler gibi çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik olayları kontrol ettiğini ortaya koymuşlardır[77]. Ayrıca resveratrolün karsinojen metabolizmasında, hücre proliferasyonunda, hücre döngüsünün düzenlenmesinde ve apoptoziste intraselüler sinyal molekülleri serisinin aktivitelerini ve ekspresyonunu modüle etmekte olduğunu bildirmişlerdir. Resveratrolün insan oral skuamöz karsinoma, promiyelositik lösemi, göğüs, prostat ve kolon kanseri hücrelerini içeren çeşitli insan kanser hücre serilerinin tümörlerini inhibe ettiği belirtilmiştir.

2.5.4.2.3. Fitosteroller

Fitosteroller triterpen familyasında bulunurlar. Triterpenler 100 farklı fitosterol ve 4000'den fazla diğer tip triterpenler içermektedir. Triterpenler bitki hücre zarının önemli yapısal bileşenleridir [78].

Genel olarak bitkisel sterol olarak adlandırılan fitosteroller yapı olarak kolesterole benzediklerinden, bağırsak emilimi için diyet ve safra kolesterolü ile yarışarak LDL (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein) kolesterol düzeylerinin düşürülmesini sağlarlar. Steroller; hücre zarı için çok gerekli bileşenlerdir ve hem hayvan hem de bitkiler tarafından üretilmektedir. Doğal olarak; bitkisel yağlar, yağlı tohumlar, bitki tohumları, tahıllar ve tanelerde bulunmaktadır. Bitkilerde en çok bulunan steroller; betasitosterol (%80 olmak üzere), stigmasterol, kampesterol ve ergosteroldür. Fitosteroller kolesterole benzer özelliklerde olduklarından kolesterole benzer şekilde emilmektedir. Fakat kolesterol gibi insan vücudunda sentezlenmez, kolesterolden (%60) daha az miktarda emilirler (%4.2-12.5) ve karaciğer tarafından atılmaları sağlanır [79]. Kan kolesterolünün yüksekliği kardiyovasküler hastalıklar için çok önemli bir risk faktörüdür. Kan kolesterolünün %10 düşürülmesiyle kişilerin yaşına bağlı olarak üzere bu risk faktörünün %19-54 azaldığı tahmin edilmektedir [80]. Bradford ve Awad, fitosterollerin antikanser etkileri hakkında şu ana kadar bilinen bilgileri özetledikleri çalışmalarında; göğüs, kolon, prostat kanserini içeren yaygın kanser türlerinde fitosterol içeren besinlerle beslenmenin tümör gelişimini önlemede, apoptozisin yeniden oluşumunda ve tümör metastazının engellemede etkili olduğunu bildirmişlerdir [81]. Günümüze kadar gerçekleştirilen geniş çaplı araştırmalar fitosterollerin insan sağlığı açısından çok önemli bileşikler olduklarını ortaya koymaktadır.

2.5.4.2.4. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik asit olmak üzere iki sınıftan oluşmaktadır [82].

Hidroksisinnamik asitler, fenil-propanoid türevleridir ve genellikle bitkisel gıdalarda bulunur [83]. Hidroksisinnamik asitler, bitkilerin fenolik metabolizmalarında merkezi rol oynayan ve fenil alaninin biyosentetik türevi olan fenolik bileşenlerdir. Bu

bileşikler aynı zamanda flavonoidlerin öncüsüdür ve bitkilerde hücre duvarının yapısına katılırlar [84]. Genellikle bu tür fenolik asitler bitkilerde esterleri halinde veya şekerlerle, organik asitlerle veya yağlarla birleşmiş halde bulunurlar [86]. Bu bileşenler meyve, sebze, çiçek, fındık, tohum ve şarap, çay, kahve ve zeytinyağı gibi bitki türevi ürünlerde bulunurlar[82,86]. Kafeik asit, p-kumarik asit ve kafeik asitin kuinik asit esteri olan klorojenik asit, elma, armut ve üzüm gibi meyvelerde ve bitkilerde en çok bulunan hidroksisinnamik asitlerdir[82].

Hidroksibenzoik asitler, yapılarındaki hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve sayılarına göre çeşitlilik kazanırlar. Bunlardan birkaçı; gallik, vanilik ve protokateşik asittir. Monohidroksibenzoatlar etkili hidroksil radikal süpürücülerdir; çünkü hidroksillenmeye ve hidroksil radikallerine yüksek reaktivite göstermeye meyillidirler. Fenolik halka ile karboksilat grubu arasına metilen grubu girmesiyle oluşan fenilasetik asitlerde orto ve meta hidroksi türevleri 1 mM'a yakın antioksidan aktivite gösterirler. Dihidroksi benzoik asit türevlerinin antioksidan aktiviteleri hidroksil gruplarının konumlarına bağlı olup, o-p konumlarında aktivite yüksek olurken m-p konumlarına sahip olanlarda aktivite düşmektedir [87].

2.5.4.2.5. Fenolik Polimerler (Tanenler)

Fenolik polimerler, yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Kondanse tanenler bu gruba girerler. Besin tanenleri denilince genellikle kateşin ve epikateşin polimerleri anlaşılmaktadır. Koyu renkli ve tadı buruk bileşiklerdir[82]. Prosiyanidinler; (kondanse tanenler) proantosiyanidin biyosentezinde, nükleofilik zincir sonlandırma birimi olarak flavan-3-oller (kateşinler) ve elektrofilik zincir genişletici birimi olarak flavan-3,4-diol/flavan-4-oller (lökoantosiyanidinler) önemli rol oynamaktadırlar[88].

2.5.4.3 Fenolik Bileşiklerin Riskleri

Meyve ve sebzelerde bulunan bazı vitaminler, mineraller, diyet posalar, polifenoller ve flavonoidler gibi birçok fitokimyasallar; bazı kanser çeşitleri, kardiyovasküler hastalıklar, katarakt, beyin hastalıkları ve bağışıklık sistemine karşı koruyucu rol oynayan öğelerdir[89,90]. Ancak fenolik bileşiklerin olumlu etkilerinin yanı sıra, fazla miktarlarda tüketimlerinin ise çeşitli zararları olduğu ve insan sağlığı

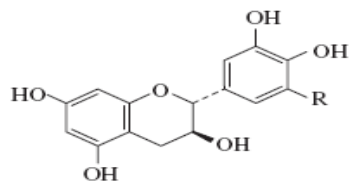
üzerine bazı riskler taşıdığı belirtilmiştir. Fenolik bileşiklerin riskleri arasında, flavonoidlerin tiroid peroksidaz aktivitesini düşürerek tiroid hormon fonksiyonlarını etkilediği ve guatr oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca polifenoller, Fe³⁺ iyonu ile şelat oluşturduğundan, bağırsaktaki non-heme Fe emilimini etkilemekte ve bireylerde anemi oluşturmaktadır. Bu nedenle çay, kahve, şarap gibi yüksek polifenol içeren sıvıların, besin ile tüketilmemesi tavsiye edilmektedir [91].

Flavonoidlerin günlük ortalama tüketiminin, ortalama kişi başına 50 mg'dan 1 g'a kadar değiştiği tahmin edilmektedir.

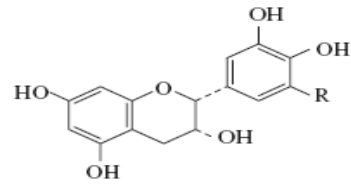
2.5.4.4. Beslenmemizde Polifenoller ve İnsan Sağlığındaki Rolü

İnsan sağlığı ve beslenme arasındaki ilişkinin incelenmesiyle, besinler insana beslenme için gerekliliğinin yanında; birçok önemli hastalığı engelleyen veya geciktiren fizyolojik faydaları dâbulunmuştur. Bu tür besinler; doğal antioksidanlar, lifli yapılar gibi fitokimyasallardan oluşmaktadır. Özellikle meyve ve sebzelerde bulunan fitokimyasallar, insan vücudundaki “serbest radikaller” ile birleşerek, hücreleri zararlı radikallerin etkilerinden korumaktadırlar. Meyveler ve meyve sularının büyük bir kısmı sudur. Buna karşın mineraller ve vitaminler yönünden zengindirler. Sadece içerdikleri vitamin türü ve miktarı bakımından farklılık gösterirler. Çeşitli meyveler, organizmanın büyümesi ve yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan karbohidratlar, proteinler, aminoasitler, lifler, yağlar, vitamin ve mineraller gibi birçok besin öğelerini içermektedir. Meyve ve sebzelerde genellikle çok az miktarda bulunan, fakat bunların işlenmesinde değişik sorunlara neden olabilen önemli maddeler grubundan birisi ikincil metabolitler olarak bilinen fenolik maddelerdir. Fenolik maddelerin bir kısmı bu ürünlerin lezzeti üzerine etkilidir. Ayrıca fenolik maddelerin bir kısmı renkli olduklarından, meyve sebzelerin renkleri üzerine de etkilidir. Birçok fenolik madde, fenoloksidaz enzimleriyle enzimatik renk esmerleşmelerine neden olan önemli bir maddedir. Bu alanda yapılan çalışmalar, meyve ve sebzelerle beslenen insanların kalp hastalıkları, akciğer, bağırsak, mide kanserleri, diyabet ve yaşlanma ile oluşan hastalıklara yakalanmaları riskini azalttığını göstermektedir. Meyve ve sebze tüketimi kansere karşı korunmada oldukça etkilidir. Sebze ve meyve tüketimi düşük olanlarda kanser riski, sebze ve meyve tüketimi iyi olanlara göre iki kat daha fazladır. Meyve tüketimi, özellikle akciğer, ösefagus, ağız boşluğu, pankreas, mide, kolon, rektum, mesane ve larinks kanserlerine karşı koruyucudur [92-94].

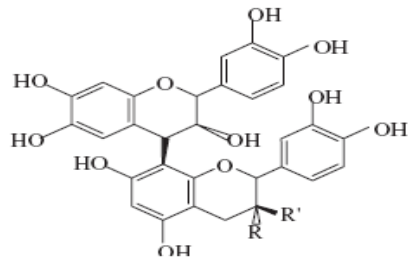
Fenolik maddeler meyvelerde çok miktarda bulunurlar. İkincil metabolitler olan fenolikler, biyolojik açıdan oldukça aktif yapılardır. Fenolik madde en az bir aromatik halkası bulunan ve bu aromatik halkalara farklı konumlarda bağlı hidroksil grupları içeren; ester ve glikozitleri formunda fonksiyonel yapıları da içerebilen bileşiklerdir. Bitki ürünlerinde çokça polifenol bulunmakla beraber; tayin edilebilen polifenoller sayıca çok azdır. Bunların büyük bir çoğunluğu insan beslenmesinde besin zincirine katılmaktadır[92].



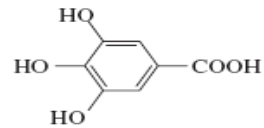
R = H: (+) -Katesin
R = OH: (+) -Gallokatesin



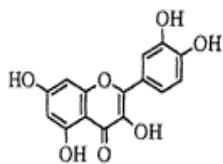
R = H: (-) -Epikatesin
R = OH: (-) -Epigallokatesin



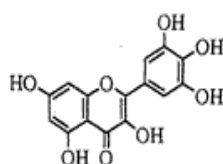
Prosiyanidin B1: R'=OH, R=H



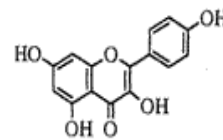
Gallik asit



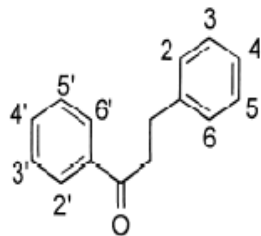
Quercetin



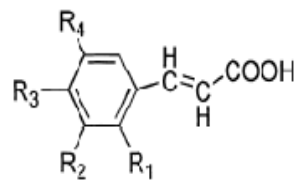
Myricetin



Kaempferol



Phloridzin 4'=6'=4=OH, 2'=O-glukoz

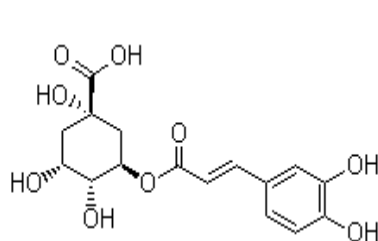


Cinnamic Acids

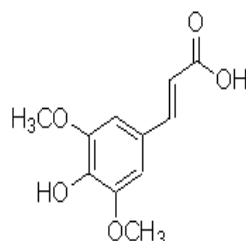
Ferulik asit R₁=R₂=H, R₃=OH, R₄=OCH₃

p-coumarik asit R₁=R₂=R₄=H, R₃=OH

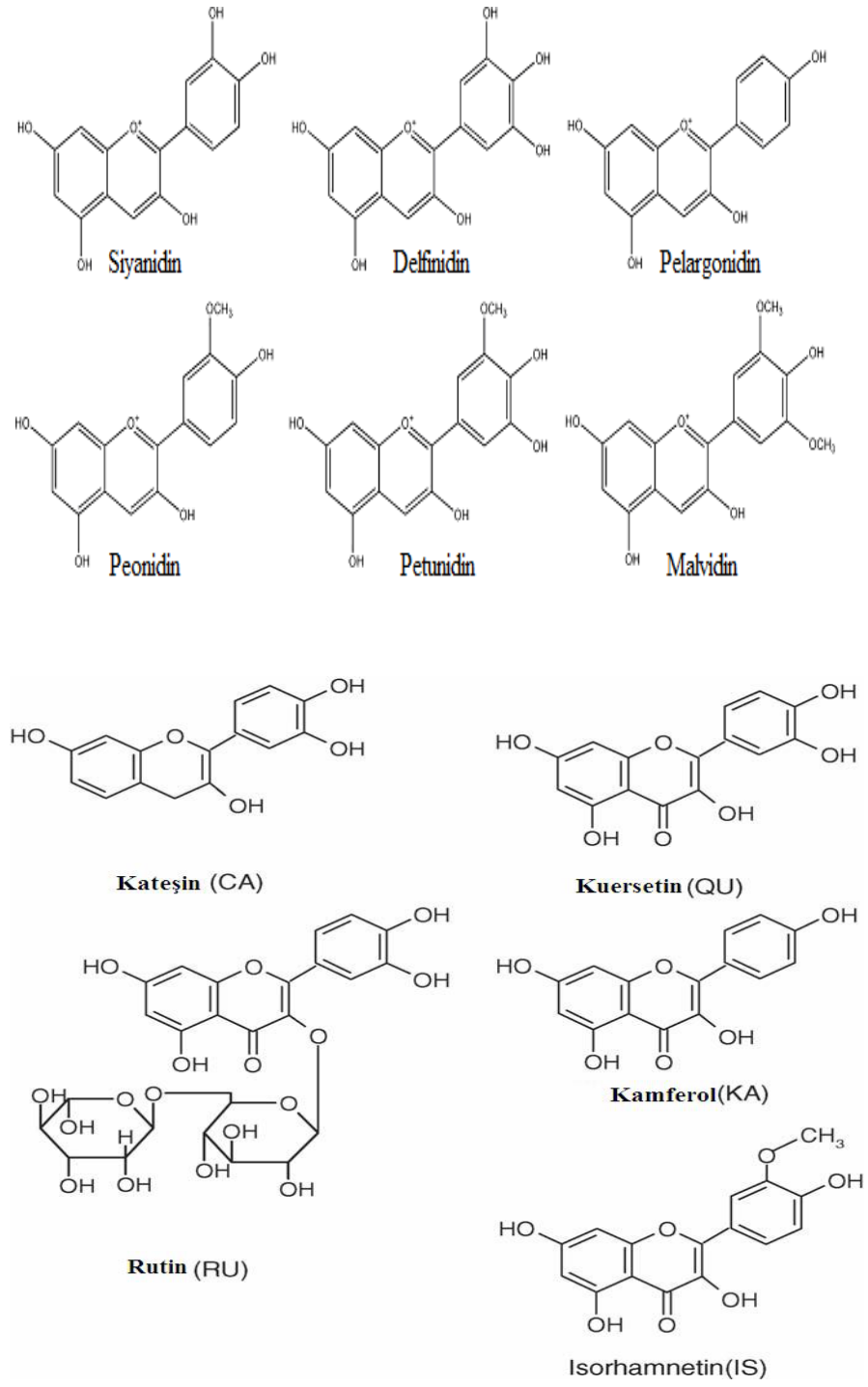
Kafeik asit R₁=R₂=H, R₃=R₄=OH



Klorojenik asit



Sinapik asit



Şekil2.5. Meyvelerde yaygın bulunan bazı fenolik bileşikler.

2.5.4.5 Fenolik Maddelerin Antimikrobiyal Etkisi

Fenolik maddelerin çoğu bitkinin canlı hücrelerinde glikozit ve ester şeklinde oluşmaktadır. Bu maddeler, yüksek yapılı polimerler oluşturabilme özelliklerinden fungitoksik etkiye sahiptirler. Bitkinin hastalıklara karşı dayanıklılığında görev alırlar [92-98]. Gallik asit, p-hidroksibenzoik asit gibi fenolikler, Clostridium botulinum'un A ve B tiplerinin sporlarına karşı etkili olduğu belirtilmiştir. Hidroksisinemat'ların uygun koşullarda küflere ve Saccharomyces cerevisiae, Pseudomonas fluorescens gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)'ın, Aspergillus parasiticus gelişimini ve aflatoksin üretimini tamamen durdurduğu tespit edilmiştir. BHA aynı zamanda Staphylococcus aureus, E.coli ve Salmonella typhimurium ile Pseudomonas fluorescens ve Pseudomonas fragi gibi psikrotropik bakterilere karşı antimikrobiyal etki göstermektedir. Ayrıca BHA'nın Bacillus cereus, Bacillus subtilis ve Bacillus megaterium'a karşı bakteriostatik etki gösterdiği belirtilmiştir. Fenolik maddelerin bu aktiviteyi hücre enzimlerini inaktive ederek gerçekleştirdikleri bulunmuştur. Klorofil a'nın parçalanma ürünü olan klorofilid a'nın Bacillus subtilis, E. Coli, Pseudomonas fluorescens' in gelişimlerini inhibe ettiği görülmüştür [92,99-102].

2.6. Üzümde Fenolik Bileşikler

Üzüm yapısındaki yüksek miktardaki fenolik bileşikler ve antosiyaninler sayesinde doğal bir antioksidan kaynağı olarak kabul edilmektedir [103]. Antioksidan moleküller, erken yaşlanma ve kansere neden olan serbest radikaller olarak bilinen molekülleri etkisiz hale getirmektedir [104]. Bu moleküller, okside olabilen bileşiklerin oksidasyonunu önleyerek vücutta antibakteriyel, antikansorejen ve kalpdamar hastalıkları riskini azaltıcı etki gösterirler.

Meyve ve sebzelerde, çayda, tüm tahıl tanelerinde bulunan fenolik bileşikler, fitik asit, askorbik asit, tokoferol gibi doğal olarak bulunurlar ve sağlık açısından önemli bir yere sahip antioksidan bileşiklerdir [105]. Bu bileşikler üzümde renk oluşumunu sağlamaktadır. Beyaz ve sarı üzüm çeşitlerinde olgunlaşma ile klorofilin yerini ksantofil, kırmızı ve siyah üzüm çeşitlerinde ise antosiyaninler almaktadır. Fenolik bileşikler hücre suyunda glikozit, tane kabuğunda ise daha çok monoglikozit

formundabulunmaktadır. Beyaz üzümlerde kırmızı üzümlere göre tanen miktarı daha fazla bulunmakta olup bu bileşiklerin şarapların kalitesi üzerinde etki ettiği bildirilmektedir[105].

Üzüm diğer meyve türleri içerisinde önemli bir antioksidan kaynağı olarak kabul görmektedir[103]. Üzümde bulunan başlıca fenolik bileşikler flavonoid, antosiyanin ve flavonoller olarak adlandırılmaktadır [88,107]. İnsan sağlığı bakımından önemli olan üzümde yer alan bu maddelerin üzüm çeşidine yetiştirildiği iklim ve toprak koşullarına, olgunlaşma seviyelerine, kültürel uygulamalara ve hasat sonrası işlemlere göre değiştiği bildirilmektedir[2,12,108-118].

Asmada (*Vitis vinifera* and *Vitis lubrusca*); özellikle siyah renkli meyvelere sahip üzümlerde yüksek oranda flavonoid ve hidroksisinnamatlar bulunmaktadır. Antioksidatif aktivite, toplam fenolik madde konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak değişmektedir. Taze üzümlerde ve üzüm sularında polifenolik maddeler glikozitler olarak bulunmaktadır. Ayrıca üzüm ekstraktlarının lesitin lipozomlarında, hem hidroperoksit hem de heksanal oluşumunu önledikleri bildirilmiştir [86,92].

2.7. Meyvelerden Fenolik Türlerin Ekstraksiyonu

Son dönemlerde gıdalar ve hastalık etkileriile ilgili yapılan epidemiolojik çalışmalar hem kalitatif ve hem de kantitatif olarak yapılmış, ancak kantitasyon ve ekstraksiyon aşamaları çeşitlilik gösterdiği için tamamlanamamıştır. Fenoliklerin belirlenmelerinde analitik stratejiler ve kavramsal farklılıklar; örneğe, analite ve problemin doğasına bağlıdır. Fenolik maddelerin çözünürlüğü, fenoliklerin bitkilerdeki kimyasal doğasıyla ilgilidir. Bitki materyalleri fenolik asitleri, fenolpropanoitleri, antosiyaninler, taninler ve diğer bileşenlerden farklı miktarlarda içerir. Fenolik maddeler bitkilerin diğer bileşenleri olan protein ve karbonhidratlarla etkileşim içinde olabilir. Bu etkileşimler kompleks ve çözülmemeyen reaksiyonlara yol açabilir. Bu yüzden tüm bitki polifenollerinin ekstraksiyonu için uygun bir ekstraksiyon şeması oluşturmak zordur. Polifenoller bitki dokularına homojen olarak dağılmamıştır. Bu nedenle bitkilerin numune olarak hazırlanıp analize hazır hale gelmeleri sırasında fenolik madde kaybı da oluşabilir. Numunelerden fenoliklerin ekstraksiyonu için örneklerin toplanması, ön işlemler ve örnek çeşitlerinin geniş bir aralık için depolanmasını içeren ekstraksiyon aşamalarıönemli işlem basamaklarıdır. Örnek matrislerinden türlerin ayrıştırılmaları için en uygun işlem çözgen ekstraksiyonudur.

Fenoliklerin bitki materyallerinden ekstraksiyonu için çeşitli çözücüler ve bunların çeşitli kombinasyonları veya bu çözenlerin su ile belli oranda karıştırılmasıyla oluşturulan çözeltiler kullanılmaktadır. Son yıllarda türlendirme çalışmalarında sıkça kullanılan örnek hazırlama basamakları; homojenizasyon, filtrasyon/santrifüj, destilasyon, çözen ve soxhlet ekstraksiyonu, SPE, katı faz mikroenjeksiyon, basınç altında sıvı veya sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon, membran ekstraksiyonu, katıfaz mikro ekstraksiyon ve hızlandırılmış çözen ekstraksiyonu gibi yeni tekniklerdir [92,119-122]. Bu tekniklerden sıvı ekstraksiyonu daha yaygın kullanılmaktadır. Sıvı ekstraksiyonunu sıvı örneklere uygulanabildiği gibi, dondurarak veya hava ile kurutulmuş örneklere de çeşitli çözenlerle uygulanabilir. Fenoliklerin bitki materyallerinden ekstraksiyonu için genellikle çözen olarak metanol, etanol, propanol, aseton, etil asetat, dimetil formamit ve bunların çeşitli kombinasyonları veya bu çözenlerin su ile belli oranda karıştırılmasıyla oluşturulan çözeltiler kullanılmaktadır. Su miktarının da %30-100 arasında ilavesinin yapıldığı çalışmalarda, maksimum fenolik ekstraksiyon için en uygun organik çözen bileşiminin minimum %70 olması gerektiği ve geri kalanın su ile ekstrakte edilmesi gerektiği gözlenmiştir [92].

Çözenlerin ardışık olarak örneklere uygulanmasıyla artan polariteleri göz önüne alınarak yapılan ekstraksiyon işleminde etkili olabilir. Bitki materyallerinden fenoliklerin ekstraksiyonu için, uygun çözen karışımları kullanılmalıdır. Bu işlemler sonrasında, klorofil, yağ, terpenler ve parafin yapıları bileşikler gibi istenmeyen fenolikler ve fenolik olmayan bileşiklerin uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Doğal antioksidanların dezavantajlarından birisi de, özellikle ışık, yüksek sıcaklık ve kurutulmaya maruz kaldıklarında oksijene karşı düşük direnç göstermeleridir. Çoğu ekstraksiyon işlemlerinde ortama stabilizatör olarak kullanılan ve antioksidant madde olan; BHA, TBHQ(Tert-Butylhydroquinone) ve askorbik asittir [92,123].

Fenolik maddeler; ışık, O₂, pH ve sıcaklığın olumsuz etkilerine karşı hızlı ve güvenilir metotlarla ekstrakte edilmesi zorunludur. Polifenollerin ekstraksiyonunda seçilen çözenler ve örnek miktarı arasındaki oran da önemlidir. Klasik çözücü ekstraksiyonunda, pahalı organik çözücülerin fazla miktarda kullanılması, ekstrakt içinde çözücü kalması, ekstraksiyon süresinin uzun olması ve bu süreçte maddenin ışık ve O₂ ile etkileşimi önlenemediğinden, otooksidasyon tepkimelerinin gözlenmesi nedeniyle alternatif bir yöntem gerekmektedir. Polifenoller meyvelerde genellikle glikozitleri formunda buldukları için kullanılan farklı çözücü ve karışımları yanında

belli oranlarda asit eklenmesi de gerekir. Bunun amacı, glikozitleri ve esterleri şeklinde bulunan fenolik bileşikleri serbest hale geçirmek ve bunların analizine olanak sağlamasıdır. Bu işleme hidroliz denir [124]. Fenoliklerin analizinde uygulanan hidroliz basamağı ile kromatografik ölçümlerde interferans etkisi minimize edilmektedir. Fenolik maddelerin HPLC ile analizlerinde; en önemli sorunlardan biri çok fazla miktardaki şeker ve pektin bileşenlerinin bu fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu güçleştirmesidir. Özellikle de kükürtlü bileşiklerde SO₂ ve şekerin indirgeyici özelliğinden dolayı, analiz aşamasında oldukça önemli girişimler oluşmaktadır [123,125]. Hidroliz aşamasının amacı glikozitleri ve esterleri şeklinde bulunan fenolik bileşikleri, serbest hale geçirerek ölçümünü sağlamaktır [92,126-127].

Bitki materyalleri çok farklı miktarda tanin, antosiyanidin, fenilpropanoid, fenolik asit bileşenlerini içermektedir. Bu fenolik bileşenlerin diğer bitki materyalleri olan karbonhidratlar ve proteinlerle karşılıklı etkileşme ihtimalleri de vardır [128,129]. Bu etkileşim tek başına çözünmeyen kompleks yapıların oluşumuna öncülük edebilir. Meyvede bulunan polifenollerin tayini bize gıda kalitesi, antioksidant özellikler ve potansiyel sağlık yararları hakkında önemli bilgiler vermektedir. [130-132].

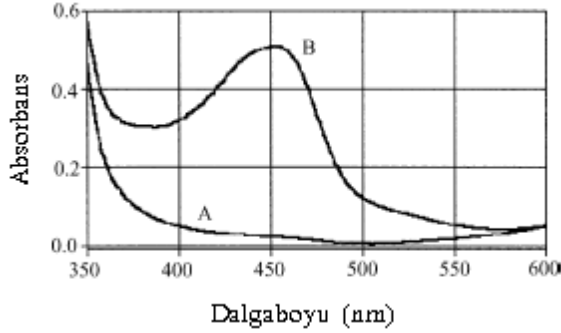
Örnek matriksinden fenoliklerin ekstraksiyonu, geri kazanımını içeren genel bir analitik strateji; ayırma, tanımlama ve ölçüm basamaklarını içerir. Fenolik bileşenlerin ayrılması ve belirlenmesi işleminde genellikle GC, HPLC, TLC, CE ve spektrofotometrik yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Spektrofotometrik metotlarda yapılan analizlerin en önemli dezavantajı bileşenler için seçici bir özelliğinin olmamasıdır. Polifenollerin analizi, son yıllarda özellikle de ters faz sıvı kromatografisi bir sistemde, C18-C8 kolonlarla ve çeşitli mobil fazlarla sağlanmaktadır. Dedeksiyon işlemi ise UV ve DAD dedektörler kullanılarak tayin edilmektedir [92].

2.8. Elektron Aktarımına Dayalı Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

2.8.1. CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity; Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi

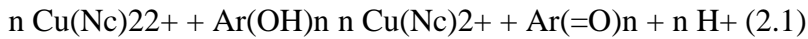
Apak ve arkadaşlarının, geliştirdiği bu yöntemde, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm de maksimum absorbans veren bakır(I)-neocuproin [Cu(I)-Nc] kelatine (Şekil 2.6) indirgenmeyeceğinden yararlanarak antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır [133]. Bu özellikten yola çıkarak geliştirilen antioksidan kapasite

yöntemine, bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi denilmiştir ve kısaca CUPRAC metodu olarak adlandırılmıştır.



Şekil 2.6. (A) Cu(II)-Nc, (B) Cu(I)-Nc komplekslerinin spektrumları

Yöntem; sulu Cu(II) klorür çözeltisi, alkolde hazırlanmış neokuproin çözeltisi ve sulu amonyum asetat (pH 7 tamponu) çözeltilerinin karıştırılmasından sonra, üzerine tayin edilecek herhangi bir antioksidan çözeltisinin ilave edilmesi ve bunu takip eden 30 dakika sonunda, içerisinde antioksidan bulunmayan referansa karşı 450 nm’de absorbanslarının ölçülmesine dayanır (CUPRACN). Askorbik asit, gallik asit ve kuersetin için renk oluşumu hızlı olurken naringin, naringenin gibi yavaş reaksiyona giren antioksidanlar için 50 °C’ de 20 dakika inkübasyon işlemi (CUPRACI) uygulanmaktadır. Flavonoid glikozidlerine son çözeltilde 1.2 M HCl içeren % 50 metanol ile hidroliz işlemi uygulanarak, maksimum indirgeme güçlerini daha fazla gösterdikleri aglikon haline dönüşmeleri sağlanarak yöntem uygulanmıştır.



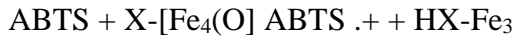
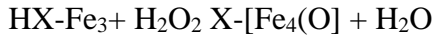
Yöntem, hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara uygulanabilir.

2.8.2. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite)/ABTS Yöntemi

Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite olarak ifade edilen TEAC/ABTS yöntemi, ilk olarak Miller ve arkadaşları, tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem; 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS) kromojen radikal katyonunun absorbansının, antioksidanlar tarafından inhibisyonuna dayanmaktadır[134,135]. Antioksidanlar varlığında ABTS.+ radikal katyonunun (şekil2.7) absorbansında belirli bir süre içindeki azalmadan yararlanarak toplam antioksidan kapasite troloks cinsinden bulunur. Bu nedenle bu yönteme “troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi” (ABTS/TEAC) adı verilir.

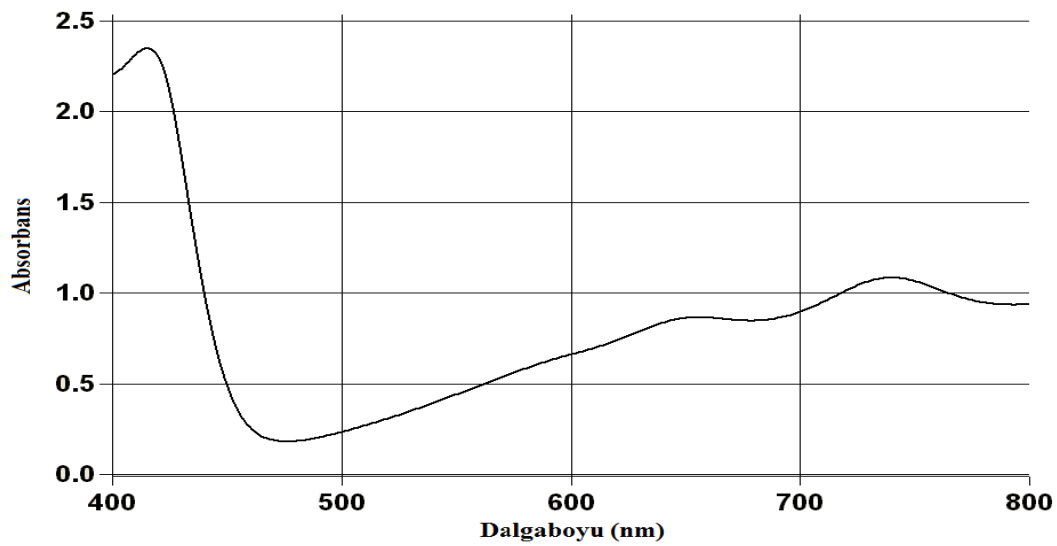
660, 734 ve 820 nm’de maksimum veren ABTS.+ radikal katyonu, metmiyoglobinin H₂O₂ ile aktivasyonu ile üretilen ferrilmiyoglobin radikal türlerinin ABTS ile etkileşiminden meydana gelmektedir.

ABTS .+ katyon radikalini oluşturmak için, ABTS; miyoglobin ve H₂O₂ ile inkübe edilir [140].



(HX-Fe₃= miyoglobin; X-[Fe₄(O)]=ferrilmiyoglobin)

Orijinal TEAC denemesinin bağıl standart sapma değerleri, gün içi denemeler için %0,54–1,59; günler arası denemeler için %3,6–6,1 olarak bulunmuştur [135].



Şekil2.7. ABTS.+ radikal katyonunun absorpsiyon spektrumu

Re ve arkadaşları[137] tarafından modifiye edilmiş ve geliştirilmiş TEAC yönteminde potasyum persülfatla ABTS'in oksidasyonu sonucu üretilen ABTS.+ radikal katyonları kullanılır. Üretilen bu ABTS radikalleri oda sıcaklığında karanlıkta beklediği zaman 22 gün kararlıdır. Geliştirilen bu yöntem, hem lipofilik hem de hidrofilik sistemlerde kullanılabilir.

Cano ve arkadaşları [138] tarafından hidrofilik antioksidan aktivitesini ölçmek için ABTS/H₂O₂/HRP (horseradish peroxidase) enzimatik sistemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde ABTS radikal katyonu (ABTS.+) enzimatik olarak oluşturulur ve antioksidan veya örnek çözelti bu reaksiyon ortamına ilave edilir. Sonuçlar ABTS.+ radikal katyonunun yok olması yani absorbansının düşüşü ile elde edilir. Bu patentli metod kolay, hızlı ve kesindir. Bu yöntemin pek çok avantajları vardır.Çünkü istenmeyen pek çok reaksiyonu önler, yüksek sıcaklık gerektirmez ve geniş pH aralığında çalışabilir. Bu yöntem ayrıca, örneklerin kendi içsel peroksidaz aktivitesinden kaynaklanan girişimi önler. Aynı örnek içindeki hem lipofilik hem hidrofilik antioksidan aktivite, çözelti hazırlama ortamını değiştirerek bu metotla ölçülebilir [139, 140].

2.8.3 FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power; Demir(III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü) Yöntemi

Benzie ve Strain tarafından geliştirilen bu yöntemde demir(III)'in indirgenme kapasitesi yoluyla antioksidanların toplam miktar tayini yapılmaktadır[141]. Düşük pH'larda Fe(III)'ün, kısa adı TPTZ olan tripiridiltriazin ile reaksiyonu sonucu oluşan [Fe(III)-TPTZ] kompleksi antioksidanların etkisiyle Fe(II)-tripiridiltriazin [Fe(II)-TPTZ] kompleksine indirgenmektedir. Meydana gelen Fe(II)-TPTZ kompleksinin rengi koyu mavidir ve 593 nm'de maksimum absorbans vermektedir.

2.8.4. Folin Ciocalteu Yöntemi

Bu yöntem, Singleton ve arkadaşları tarafından toplam fenolik içeriği ölçmek için geliştirilmiştir[142,143]. Yöntemin temeli, fenolik bileşiklerin Folin Ciocalteu ayıracağı (FCR) ile sadece bazik ortamda reaksiyon vermesine dayanmaktadır. Toplam fenolik bileşenlerin tayin yöntemi olarak bilinen Folin-Ciocalteu ayıracağı (fosfomolibdik fosfotungstik asit) kullanılan bu yöntem, gerçekte örneğin indirgeme kapasitesini tayin

etmektedir. FC ayırıcı sadece fenolik bileşenlere özgü olmayıp, pek çok fenolik yapıda olmayan bileşenleri de yükseltgeme yeteneğine sahiptir.

Bu yöntemde, ard arda geri dönüşümlü bir veya iki elektronlu indirgeme reaksiyonları, P(MoW11O40)⁴⁻ olması muhtemel mavi türlerin oluşumunu sağlar.

2.8.5. DPPH Yöntemi

Sanchez ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu yöntem antioksidanların kararlı bir organik azot radikali olan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir[144]. Bu radikal hidrojen donörlerle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Kırmızı renkli DPPH radikali 515 nm’de maksimum absorpsiyon verir. DPPH çözeltisine antioksidanın ilave edilmesiyle absorbansta düşüş meydana gelir ve antioksidanların varlığıyla radikalın rengi kırmızıdan sarıya döner. Bu yöntem antioksidanların radikal süpürme kabiliyetlerini değerlendiren kolay ve geçerli bir yöntem olarak bilinmektedir.

3. KAYNAK ÖZETLERİ

Amerine ve Winkler, Kaliforniya'da yetistirilen Carignane, Flame Tokay, Sylvaner ve Thompson Seedless üzüm çeşitlerinde yaptıkları bir çalışmada, üzümlerin olgunlaşma döneminde, 100 tane ağırlığı, toplam asit, tartarik asit, malik asit ve sitrik asitlerdeki değişimler takip edilmiştir. Araştırmacılar olgunluğun başlangıcında üzümlerde fazla miktarda asit bulunduğunu, olgunlaşma sırasında asit miktarının giderek azaldığını, SÇKM (suda çözünen katı madde) ve pH'nın arttığını bildirmişlerdir. Soğuk bölgelerde yetistirilen üzümlerle kıyaslandığında, ılıman bölgelerde yetistirilen üzümlerde tartarik asit miktarının daha az olması gerektiği ve bunun olgunluğun başlangıcı ve hasat arasında geçen sürenin uzunluğundan kaynaklanabileceği kaydedilmektedir [145].

Kanner ve ark., yedi farklı sofralık (Miabell, Concord, Flame Seedless, Emperor, Thomson Seedless, Red Globe ve Red Malaga) ve yedi farklı şaraplık (Calzin, Petite Syrah, Merlot, Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Sauvignon Blanc ve Chardonnay) üzüm çeşitlerinde yaptıkları çalışmada, üzümleri optimum hasat olgunluğunda hasat ederek toplam fenolik bileşik miktarlarını analiz etmişlerdir. Fenolik bileşiklerin şaraplık üzümlerde 230-1236 mg/L arasında değiştiğini, Calzin ve Petite Syrah üzümlerinin en yüksek fenolik içeriğe sahip çeşitler olduğunu bildirmişlerdir [146].

Deryaoğlu'nun Bisson ve Ribéreau-Gayon'dan (1978) bildirdiğine göre, siyah üzümlerdeki fenol bileşikleri üzerine çeşit ve çevre koşullarının etkisi ile ilgili gerçekleştirdikleri çalışmada, iki aynı bölgede yetistirilen Cabernet Franc, Com, Merlot, Pinot Noir ve Gamay çeşitlerinin ele alınmışlardır. Siyah üzüm çeşitlerindeki fenol bileşikleri tipi ve miktarının çeşide göre değiştiğini, çevre koşullarının tanen ve antosiyan miktarlarında değişmelere neden olduğunu, ancak farklı bölgelerde yetistirilen aynı üzüm çeşitlerinin fenol bileşikleri yönünden özelliklerini koruduklarını açıklamışlardır [147].

Polat ve ark., Cardinal ve Tekirdağ Çekirdeksizi çeşitlerinin gelişme dönemi boyunca salkımdaki fenolik bileşiklerin değişimi ile ilgili araştırmaları sonucunda, toplam 40 fenolik bileşik tespit etmişlerdir. Sonuç olarak özellikle tanen içeriğinin sofralık ve şaraplık üzümlerde hasat kriteri olarak kullanılabilirliğini bildirmiştir [148].

Negro ve ark., kırmızı üzüm posasında (cibre) fenolik bileşikleri ve etanolik ekstrakt miktarı üzerine yaptıkları bir çalışmada sonucunda; üzüm posasının polifenol bileşikleri açısından zengin olduğu, yüksek antioksidan özelliği ile

bilinen proantosiyanidini en fazla miktarda içeren üzüm çekirdeğinin antioksidan aktivitesini bakımından en yüksek dağılıma sahip olduğu belirlenmiştir[149].

El ve ark., Türkiye’de sıklıkla tüketilen bazı meyvelerin toplam fenolik madde içeriklerini porsiyon bazında araştırmıştır. Bunların içinde siyah üzüm, beyaz üzüm, kuru beyaz üzüm ve üzüm pekmezinin toplam fenolik madde içeriğini sırasıyla, 2206 ± 612 mg/kg, 1580 ± 371 , 3994 ± 576 mg/kg, 4162 ± 576 mg/kg olarak bulunmuştur. Ayrıca yapılan çalışmada, toplam fenolik madde konsantrasyonu ile toplam antioksidan aktivite arasında iyi bir korelasyon bulunmuştur[150].

Karadeniz ve ark., farklı meyve (elma, ayva, üzüm, armut ve nar) ve sebzelerin (patates, soğan, taze soğan, kırmızı turp ve kırmızı lahana) antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Ayrıca, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri de değerlendirmiştir. Meyveler arasında nar (%62.7) en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olup bunu ayva (%60.4), üzüm (%26.6), elma (%25.7) ve armut (%13.7) izlemektedir. Sebzelerin antioksidan aktivitesi %40.8 (kırmızı lahana) ile %12.5 (soğan) arasında değişmektedir. Meyvelerin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri sırasıyla 326-4306 mg kateşin kg^{-1} ve 282-2115 mg kateşin kg^{-1} arasındadır. Sebzelerde ise bu değerler sırasıyla 536-2166 mg kateşin kg^{-1} ve 153-842 mg kateşin kg^{-1} olarak belirlenmiştir. Meyve ($r^2 = 0.9307$, $P < 0.01$) ve sebzelerde ($r^2 = 0.9361$, $P < 0.05$) toplam fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri arasında yüksek ve önemli bir korelasyon belirlenmiştir. Bununla birlikte, sebzelerin antioksidan aktiviteleri ile flavonoid içerikleri arasındaki ilişki önemsiz iken meyvelerde bu ilişki önemlidir ($r^2 = 0.8316$, $P < 0.01$). Toplam fenolik içeriğinin meyve ve sebzelerin antioksidan aktivitelerine önemli katkıda bulunduğu gözlenmiştir[151].

Yıldırım ve ark., organik olarak yetiştiriciliği yapılan üzüm, üzüm suyu, şıra ve şarapların antioksidan aktivitesi ile ilgili yapılan bir çalışmada, en yüksek antioksidan aktivitesi ve toplam fenoller, cibre (% 82.30 ve 82.609), üzüm (% 68.91) ve şıradadır (2750 mg/L) olarak belirlenmiş olup bu özellik açısından en yüksek değerler Cabernet Sauvignon ve Merlot üzüm çeşitlerinde saptanmıştır[152].

Aras tarafından yapılan araştırma ile Öküzgözü, Kalecik Karası, Narince ve Emir yerli üzüm çeşitleri ile bu çeşitlerden elde edilen şaraplar, Sultani Çekirdeksiz ve Karadimrit üzüm çeşitlerinden elde edilen kuru üzümler ile üzüm suyu, pekmez ve şıradaki toplam karbonhidrat, protein, mineral madde ve fenolik bileşik içerikleri incelenmiştir. Araştırmada sonunda elde edilen verilerin; üzüm örneklerine ve çeşitlere göre değiştiği tespit edilmiştir. Toplam karbonhidrat miktarlarının 0.14-48.37 g/100g; protein

miktarının 0.07-9.95 g/100 g arasında değiştiği saptanmıştır. Toplam fenolik bileşikler katı örneklerde 1.45-3.55 mg/g, sıvı örneklerde ise 139.50-9823.24 mg/L arasında gerçekleşmiş olup araştırmada ayrıca fenolik bileşikler içerisinde yer alantoplam flavanoller ve antosiyanin miktarlarının da örneklere ve çeşitlere gredeğiştikleri belirlenmiştir[15].

Doshi ve ark., yaptıkları çalışmada Kishmis Chornyı zm çeşitinin tane, tane sapı, yaprak, yaprak sapı ve sürgünlerini olgunluğun değişik safhalarında fenolik bileşiklerin kompozisyonu ve antioksidant potansiyelini açısından incelemişlerdir. Olgunluğun başlangıcında tane ve tane sapında toplam flavonoidler, flavonoller, fenolikler, flavon-3-ols ve antiosidan aktivitesi yüksek oranda saptanmıştır. Olgunlaşmanın etkisi çeşitli fenolik bileşenlerinde ve FRAP değerinde ciddi bir düşüşle üzümlerde saptamıştır. Son yapılan iki hasatta şeker miktarında azalma ve antosiyaninde yükselme görülürken, fenolik bileşiklerin miktarı en az seviyeye indiği belirtilmiştir. FRAP değeri, tane sapı, yaprak, yaprak sapı ve sürgünde tane ye gresırasıyla 7.6-2.9-2.3 ve 1.5 kat daha fazla belirlenmiştir[153].

Orak, Tekirdağ'da yetiştirilen 16 üzüm çeşitinde antioksidan aktivitesi, toplam fenolik bileşik miktarı, antosiyanin, kabuk rengi, polifenoloksidaz aktivitesi seker ve asit miktarlarını belirlenmiş olup, en düşük antioksidan aktivitesi Tekirdağ ekirdeksiz çeşitinde (%87.58), en yüksek Mourvedre çeşitinde (%93.78); toplam fenolik içeriği aynı çeşitlerde sırası ile 817 ile 3062 g/mL GAE arasında değişmiştir. Toplam antosiyanin içeriği 40.3 ile 990.8 mg/L tane ağırlığı, toplam seker içeriği %13.29 ve 24.46 arasında değişmiştir. Antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik bileşik arasında kuvvetli bir korelasyon saptanmıştır[16].

Türk; Isabella, Barış, Italia, Tekirdağ Çekirdeksizi, Trakya İlkeren ve Yalova İncisi eşitlerinde Haziran, Temmuz ve Ağustos Aylarında iki yıl boyunca alınan olgun yapraklardaki toplam fenolik madde, fenolik bileşikler, tannik asit ve mineral madde miktarlarındaki değişmeleri incelemiştir. Araştırma sonucuna göre, incelenen tüm kriterlerin çeşit ve yaprakların alındığı aylara göre değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Yaprak rnekleindeki toplam fenolik madde miktarı kateşin eşdeğerisi olarak 3.84-14.02 mg/g arasında; tannik asit miktarı ise 0.34-1.84 mg/g arasında olduğu bildirilmiştir. Yaprak rneklelerinde fenolik bileşiklerden gallik asit, klorogenik asit, vanillin, p-kumarik asit, protokatesik asit, katesin, kafeik asit, ferulik asit, o-kumarik asit, rutin, hesperidin, kuersetin, luteolin ve kamferoln varlığı tespit edilmiştir. Fenolik asitlerden o-kumarik

asit, flavonoidlerden de katesin, kuersetin ve rutin yaprakörneklerinde en fazla bulunan fenolik bileşikler olarak belirlenmiştir[154].

Uzun ve ark., yaptıkları araştırmada Antalya yöresinden toplanan ve salkımoluşturan 4 farklı yabancı asma tipinin çekirdekleri kullanılmış ve içlerindeki toplamfenolik bileşik miktarı tespit edilerek bunların antioksidan aktiviteleri belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda üzümlerdeki fenolik bileşik miktarları ile antiradikal aktivitearasında önemli bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir ($r^2 = 0.6472$, $P < 0.001$) [155].

Yemiş ve ark., yaptıkları çalışmada, Türkiye’de yetiştiriciliği diğerlerine göre daha fazla yapılan 12 üzüm çeşidinin tohumlarından elde edilen ekstraktları toplam antioksidan aktivitelerini ve fenollerini incelemişlerdir. Çalışmadan elde edilensonuca göre; çekirdek ekstraktları stabilite ve enterferans çalışmalarından sonra antioksidan katkı maddesi olarak kullanılabilceği, bu çeşitlerin endüstriyel amaçları için antioksidan fenoliklerin önemli bir kaynağı olarak önerilebileceği rapor edilmiştir[156].

Yassa ve ark., çalışmalarında Shahani siyah üzüm meyvelerinin farklı kısımlarının antioksidant aktivitesini değerlendirmiştir. Üzüm tanelerinin sırası, posası ve çekirdeğinin antioksidant aktivitesi ve lipit peroksidasyonunu önleme aktivitesini incelemişlerdir. Üzüm çekirdeğinin çok yüksek, üzüm posasının orta düzeyde ve şıranın daha az aktivite gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Bu da üzüm çekirdeği ve posa ekstraktlarının başlıca lipit peroksidasyonu önlemesi antioksidant aktivitesini gösterir, bununla beraber şıranın serbest radikalleri söndürme aktiviteleri de antioksidant aktivitelerine dayandırılır. Vitamin E ve BHT değerlendirmede referans olarak kullanılmıştır[157].

Kelebek ve ark., bu yapılan çalışmada 1988-2008 yılları arasında yapılan araştırmalar toplanarak siyah üzüm çeşitlerinden Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik Karası üzümlerinin kırmızı şarap üretimi açısından bileşimi değerlendirilerek bu üzümlerden elde edilen şarapların kimyasal ve duyuşsal özellikleri belirlenmiştir. Sonuç olarak en yüksek salkım ağırlığı Öküzgözü (462 g) çeşidinde çıkarken fenol bileşikler bakımından 9850 mg/kg ile Boğazkere en yüksek değere sahip çıkmıştır[158].

Hallaç Türk ve ark., yapılan çalışmada katkı içermeyen kırmızı üzüm suyu ve sirkenin fenolik bileşik içeriği ve antioksidan özellikleri değerlendirilmiştir. Fenolik madde Folin Ciocalteu yöntemi ve fenolik kompozisyonları da HPLC ile belirlenen bu çalışma sonucunda toplam fenolik madde miktarı kırmızı üzüm suyu sirkede sırasıyla 708.17 mg/L ve 198.19 mg/L olarak bulunmuştur. Sonuç olarak kırmızı üzüm suyu ve sirkenin iyi birer antioksidan kaynağı olarak kullanılabilceği belirtilmiştir[110].

Hallaç Türk ve ark., yaptıkları bir çalışmada Sedirkent Karası üzüm çeşidine ait kabuk ve çekirdeklerin fenolik bileşik, antioksidan ve antiradikalaktivitelerine bakılmış ve sonuç olarak Sedirkent Karası üzüm çeşidinin toplam fenolik madde, fenolik bileşik ile antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin kabuk ve çekirdeklere göre değişmekle birlikte oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Çekirdeklerin kabuklara oranla da yüksek toplam fenolik madde, antioksidan ve antiradikal aktiviteye sahip olduklarının belirlendiği bu çalışmada çekirdeklerin toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri olarak 52.32 mg/g çekirdek, kabukların ise 1.89 mg/g kabuk olarak tespit edilmiştir[12].

Gök Tangolar ve ark., bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünün Adana ve Pozantı'daki Araştırma ve Uygulama Bağından hasat zamanı alınmış olan sofralık çeşitlerden Early Cardinal, Trakya İlkeren, Yalova İncisi, Razakı, Alphonse Lavallee, Hamburg Misketi, İskenderiye Misketi, (*V. Vinifera* L. Çeşitleri) ve Isabella (*V. labrusca* çeşidi); şaraplık çeşitlerden ise Kalecik Karası, Syrah, Chardonnay, Carignane ve Semillon (*V. vinifera* L. çeşitleri) çeşitleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmada çeşitlerin şıralarındaki organik asit, şekerler ve fenolik bileşik düzeyleri belirlenmiştir. Sonuç olarak toplam fenollerin 108.5 (Carignane) 482.0 (Trakya İlkeren) mg/L; flavonoidlerin 42.5 (Yalova İncisi) 171.5 (Shiraz) mg/L arasında değiştiği belirlenmiştir[159].

Özden ve Vardin, yaptıkları araştırma sonucunda Şanlıurfa koşullarında yetiştirilen bazı üzüm çeşitlerinin toplam antioksidan aktiviteleri ve bazı fitokimyasal özellikleri bakımından, Merlot, Chardonnay, Cabernet Sauvignon ve Syrah (*V. vinifera* L.) üzüm çeşitlerinin antosiyanin [TA] içerikleri sırasıyla 1144.9; 39.48; 723.3, ve 1011.6 mg/kg olarak bulunmuştur. Çeşitlerin toplam fenolik bileşik [TP] konsantrasyonları 1805 mg/kg ve 3170 mg/kg arasında değişim göstermiştir. En yüksek TP konsantrasyonu Chardonnay çeşidinde bulunurken, en düşük TP ise Syrah çeşidinde ölçülmüştür. Chardonnay çeşidinin en yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu bunu da (0.165 mg/mL) Merlot çeşidinin takip ettiği görülmüştür (0.204 mg/ml). Çeşitlerin antioksidan aktivitelerinin (AA), TP konsantrasyonları ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır. En yüksek çözünebilen katı maddeler, şıra randımanı, toplam şeker ve olgunluk indeksi Chardonnay çeşidinde ölçülürken, en düşük değerler Cabernet Sauvignon çeşidinden elde edilmiştir[160].

Jin ve ark., Kuzeybatı Çin'de yetiştiriciliği yapılan dokuz kırmızı renkli üzüm (*V. vinifera*) çeşidinin tane kabuğundaki fenolik bileşikler üzerine yaptıkları çalışma sonucunda; fenolik bileşiklerin tipi ve miktarının çeşitlere bağlı olarak farklılıklar

gösterdiği belirtilmiştir. Shiraz çeşidinin antosiyanin, flavonols, flavan-3-ols, stilbenes ve fenolik asitler bakımından yüksek değerler içerdiği ve yıldan yıla istatistiki açıdan önemli farklılık gösterdiği rapor edilmiştir[161].

Da Mota ve ark., yapılan çalışma ile tane kabuğu ve tohumlardaki; taneağırlığı, pH, asitlik, ve çözünebilir katı madde ile birlikte şeker, organik asit,antosiyanin ve fenolik konsantrasyonlar incelenmiş, Shiraz tanelerinin en yüksek ağırlığa sahip olduğu dolayısıyla daha yüksek verim verdiği tespit edilmiştir. Cabernet Franc daha düşük seviyede antosiyanin içeriğe sahip olmuş ve kg başına tane kabuğundaki fenolik bileşikler daha düşük seviyelerde gerçekleşmiştir. Tohumdaki fenolik bileşiklerin değerleri ise en yüksek düzeyde bulunmuştur. Bu özelliklerin yetiştirildikleri mevsimden etkilendiği saptanmıştır[162].

Cangi ve ark., Kazova (Tokat) yöresinde 2008 yılında yapılan araştırmasonucunda, bölgede yetişen şaraplık üzüm çeşitlerinin (Gewurtztraminer, Pinot Noir, Narince ve Shiraz) olgunlaşması sırasında tanedeki kimyasal değişmeler (Suda çözünebilir kuru madde-SÇKM, toplam asit, pH, toplam fenolik bileşikler, toplam antosiyanin ve antioksidan kapasitesi) incelenmiştir. Olgunlaşma sırasında şıradasÇKM, pH ve toplam fenolik bileşik miktarı artarken, toplam asit, toplam fenolik ve antioksidan kapasitesinde düşme saptanmıştır. Hasat döneminde SÇKM'nin %20.2 (Narince) ile %22.3 (Syrah); toplam asitliğin 5.90 g/L (Pinot Noir) ile 7.43 g/L (Narince) ve pH değerinin 3.27 (Pinot Noir) ile 4.20 (Shiraz) arasında değiştiği tespit edilmiştir[111].

Göktürk Baydar ve ark., yaptıkları araştırma ile Cabernet Sauvignon, Kalecik Karası ve Narince üzüm çeşitlerine ait üzüm çekirdeği ve kabuk ekstraktları ile şarapların antioksidan özellikleri ile fenolik bileşik içerikleri belirlenmiştir. Toplam fenolik içeriğinin çekirdek ekstraktlarında 522.49 ile 546.50 mg GAE/g; kabuk ekstraktlarında 22.73 ile 43.75 mg GAE/g ve şaraplarda 217.06 ile 1336.21 mg/L arasında değiştiği belirlenmiştir. Örneklerin radikal süpürme etkilerinin ve indirgemekapasiteleri üzüm çeşitlerine, üzümün kısımlarına ve şarabın tipine bağlı olarak değişiklik göstermiştir[12].

Malatya yöresinde yetiştirilen üzüm örnekleri ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar; üzüm meyve, kabuk ve çekirdeklerinde polifenol, şeker tayini, çekirdeklerinde yağ tayini, meyvenin toplam element içerikleri, antioksidan ve radikal süpürme kapasiteleri, siyah üzümlerde resveratrol ve anti kanser özelliği gibi analizleri bunlardan bazılarıdır.

Ancak bu çalışmalardan farklı olarak; her iki üzüm çeşidi için meyve bağlama halinden hasat edilene kadar geçen sürede yaklaşık iki haftalık aralıklarla 7 farklı

zamanda örnekler alındı. Bu şekilde yapılan örnekleme ile meyvenin büyüme evrelerinde elde edilen meyve ekstraktlarının; toplam antioksidan, radikal süpürme kapasitesi, toplam fenolik madde ve ekstraktlardaki herbir polifenol bileşenin nasıl değişiklik gösterdiği hakkında çalışma bulunmamaktadır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1 Materyal

4.1.1 Üzüm Çeşitleri ve Örneklerinin Temini

Bu çalışmada materyal olarak, Tahannebi ve Kureyş üzüm çeşitleri seçilmiştir. Tahannebi çeşidi, ince kabuklu ve beyaz renkli bir üzüm çeşididir. Fizyolojik olarak dişi çiçeklidir, bu yüzden tozlayıcı için başka bir çeşide ihtiyaç duyar. Karışık budanan bu çeşit omcaları kuvvetli ve orta verimlidir. (Anonim, 2013a).

Kureyş çeşidi ise yuvarlak taneli, ince kabuklu geç olgunlaşan üzüm çeşididir. Tatlı ve çekirdekleri küçüktür. Salkım yoğunluğu da fazla olan bir üzüm çeşididir. Yöremizde de yaygın olarak yetiştirilmesi ve ekonomik değerinin yüksek olması, meyve kalitesi (tat, SÇKM, görüntü..) ve sofralık olması açısından bu çeşitler seçilmiştir. Meyve örnekleri Çizelge 4.1’de belirtilen tarihlerde Malatya Kayısı Araştırma İstasyonu’nun yetiştirmiş olduğu asma kolleksiyon bahçesinden toplanmıştır. Örnekleme yapılırken; alınan numunelerin, analizi yapılacak olan çeşidin bütünü temsil edecek şekilde olmasına dikkat edilmiştir. Kolleksiyon bahçesinde 12 farklı üzüm çeşidi, her bir üzüm çeşidi için de 10 ağaç bulunmaktadır. Bu çalışmada Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin kendilerini temsil eden on ayrı ağaçtan uygun örnekleme yapılarak toplanmıştır. Örnekleme işlemi Temmuz ve Eylül ayları boyunca on günlük aralarla yapılmıştır. Çalışmada kullanılan üzüm örneklerinin hasat tarihleri ve üzüm çeşitleri Çizelge 4.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.1. Hasat yapılan üzüm çeşitleri ve örnek alma tarihleri

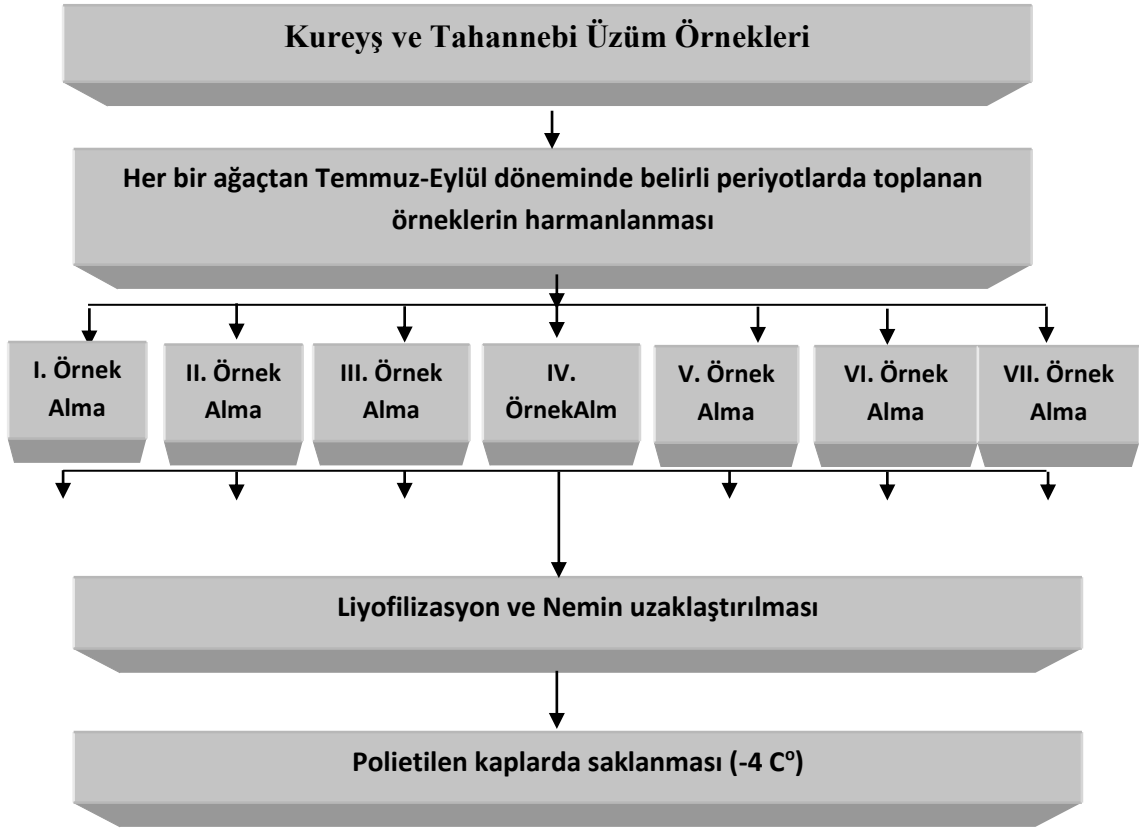
	I. Örnek Alma	II. Örnek Alma	III. Örnek Alma	IV. Örnek Alma	V. Örnek Alma	VI. Örnek Alma	VII. Örnek Alma
Kureyş	03.07.13	26.07.13	03.08.13	10.08.13	22.08.13	05.09.13	16.09.13
Tahannebi	03.07.13	26.07.13	03.08.13	10.08.13	22.08.13	05.09.13	16.09.13

Bütün çalışmalar süresince belirlenen örneklerin kullanılabilmesi için; örneklerin uygun şekilde saklanması gerekmektedir. Bu amaçla bütün örnekler liyofilize (dondurarak kurutma) edilmiş ve analiz için saklanmıştır.

Çizelge 4.2 Belirlenen hasat dönemlerindeki üzüm özellikleri

Örnek Alma Dönemleri	Üzüm Örnekleri
I. Örnek Alma	Üzüm meyvesinin mercimek büyüklüğündeki ilk meyve numunesi
II. Örnek Alma	İlk hasattan 20 gün sonra alınan üzüm numunesi
III. Örnek Alma	Üzüm meyvesinin birinci ayında alınan numune
IV. Örnek Alma	Tatlanmış ve sararmış olan üzüm numunesi
V. Örnek Alma	Tamamına yakını olgunlaşmış numune
VI. Örnek Alma	Tamamı olgunlaşmış ve dalından hasat edilebilecek üzüm numunesi
VII. Örnek Alma	Tamamı olgunlaşmış ve dalından hasat edilebilecek üzüm numunesi

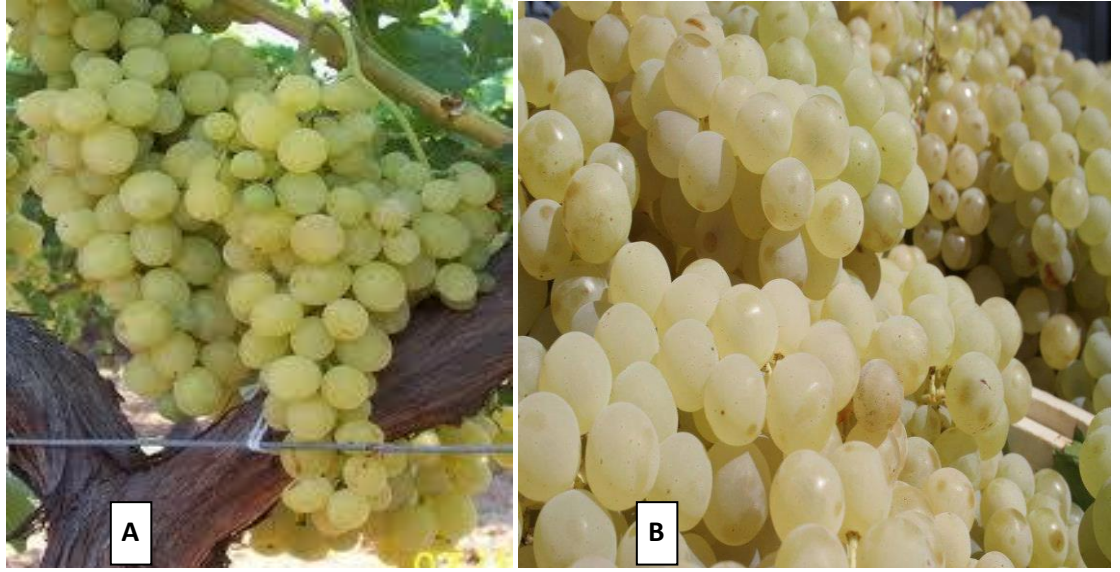
Örneklerde bulunan nemin; örneklerin saklanması ve analizlenmesi aşamasında sürekli sorun oluşturmaması için; örneklerin nemi uçurulmuştur. Liyofilizasyon işlemi için toplanan üzüm örnekleri, laboratuvar ortamına getirilip, soğuk saf su ile yıkanarak, üzerlerinde birikmiş olabilecek toprak, yaprak ve değişik kirliliklerden temizlenmiştir. Daha sonra içinden çekirdekleri çıkartılarak daha küçük parçacıklar halinde doğranmıştır. Analiz için kullanılacak tüm örnekler, liyofilize edildikten sonra paslanmaz çelikten imal edilmiş olan değirmende toz haline gelene kadar öğütülmüştür. Kurutulduktan sonra öğütülen tüm toz örnekler, polietilen kaplara alınarak numaralandırılmış ve sonra, -4 C°'de muhafaza edilmiştir. Ekstraksiyon işlemlerinden önce, bu örnekler için nem tayini 103°C'de 24 saat bekletilerek yapılmıştır. Analiz sonuçları, elde edilen bu nem miktarları dikkate alınarak hesaplanmıştır. Üzüm örnekleri farklı zaman periyotlarında toplanırken; yapılan örnekleme ve bu örneklerin saklanmasına kadar uygulanan işlemler Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1 Üzüm örneklerinin analize hazırlanmasında kullanılan örnek hazırlama şeması

Çizelge 4.3. Alınan üzüm çeşitleri ve kodlaması

Örnek AlmaDönemi	Örnek adı	Kısaltması
I. Örnek Alma	Tahannebi	THN-1
I. Örnek Alma	Kureş	KRŞ-1
II. Örnek Alma	Tahannebi	THN-2
II. Örnek Alma	Kureş	KRŞ-2
III. Örnek Alma	Tahannebi	THN-3
III. Örnek Alma	Kureş	KRŞ-3
IV. Örnek Alma	Tahannebi	THN-4
IV. Örnek Alma	Kureş	KRŞ-4
V. Örnek Alma	Tahannebi	THN-5
V. Örnek Alma	Kureş	KRŞ-5
VI. Örnek Alma	Tahannebi	THN-6
VI. Örnek Alma	Kureş	KRŞ-6
VII. Örnek Alma	Tahannebi	THN-7
VII. Örnek Alma	Kureş	KRŞ-7

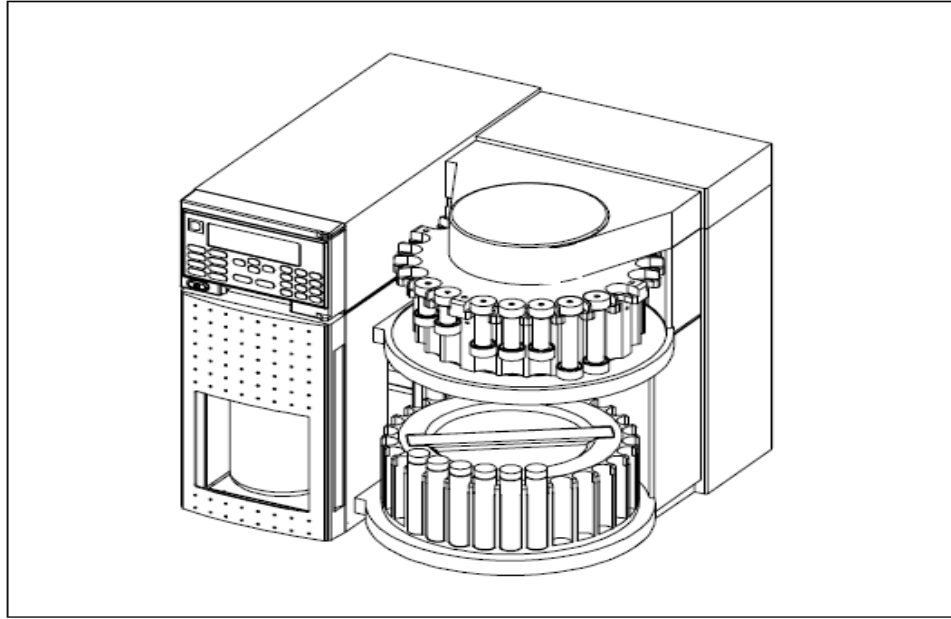


Şekil 4.2 Üzüm çeşitleri **A:** Tahannebi, **B:** Kureys

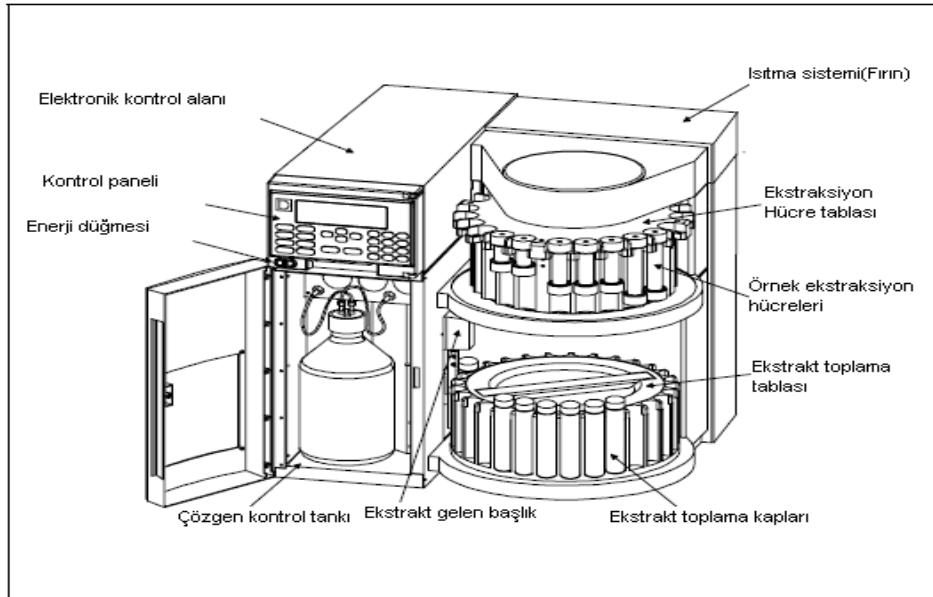
4.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmamızda kullanılan başlıca ekipmanlar; shimadzu hassas terazi, chromofilxtra 0,45 µm'luk filtre, etüv (NÜVE EN-500), liyofilizasyon cihazı (Armfield, England), değirmen (Waring-blender), terazi (Gec-Avery VA-304), mikropipet (Brand)(Volac), azot çözücü tuzaklı, vakumlu evaporatör, Shimadzu Model HPLC cihazı ve Shimadzu UV-1000 spektrofotometredir.

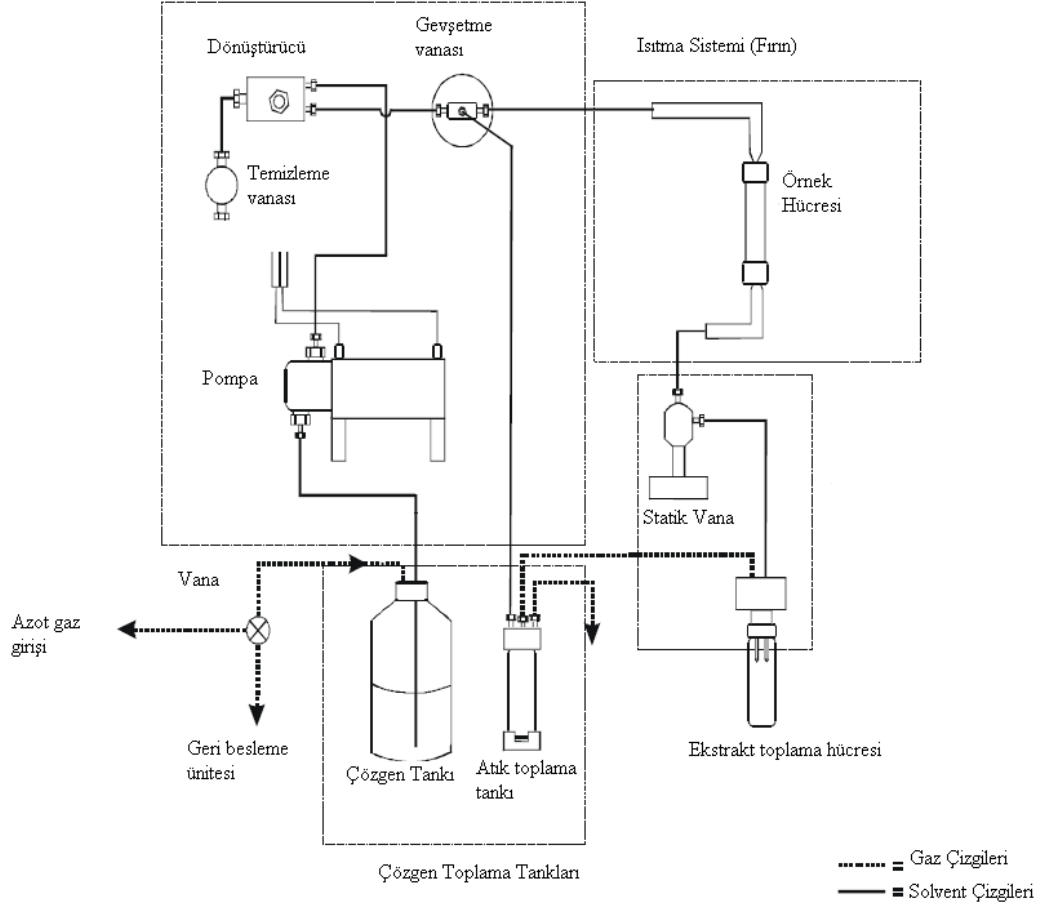
Üzüm örneklerinden polifenollerin ekstraksiyonu için ise Dionex ASE-200 Model hızlandırılmış ekstraksiyon cihazı kullanılmıştır. Cihazın genel gösterimi ve çalışma düzeni Şekil 4.3-4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.3 ASE –200 Hızlandırılmış solvent ekstraktörü



Şekil 4.4 ASE 200 Hızlandırılmış solvent ekstraktörü ve ekstraksiyon aparatları



Şekil 4.5 ASE 200 Solvent ekstraktöründe ekstraksiyon işlemi için çözen ve gaz akış şeması

Polifenollerin analizi için Shimadzu marka yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) sistemi kullanılmıştır.

4.1.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

Hidroklorik asit (HCl) çözeltisi

2N HCl Çözeltisi hazırlamak için; 10mL 12 M HCl 50 mL HPLC saflıkta H₂O içinde çözüldü. Hazırlanan bu çözelti türevlendirme sonrası oksidatif reaksiyonun durdurulması amacıyla kullanıldı.

Fosfat Tampon Çözeltisi

0.2 M fosfat tamponu için KH₂PO₄ den 10.87 g ve K₂HPO₄ den 3.53 g alınarak saf su ile 500 mL ye tamamlandı. (PK_{a2}:7.2)

DPPH çözeltisi

2.5 mg DPPH 100 mL' lik balon jöjeye aktarıldı ve %99.9'lik metanolle hacim çizgisine kadar tamamlandı.

Polifenol standartları

Kullanılan polifenol standartları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge4.4Kullanılan polifenol standartları

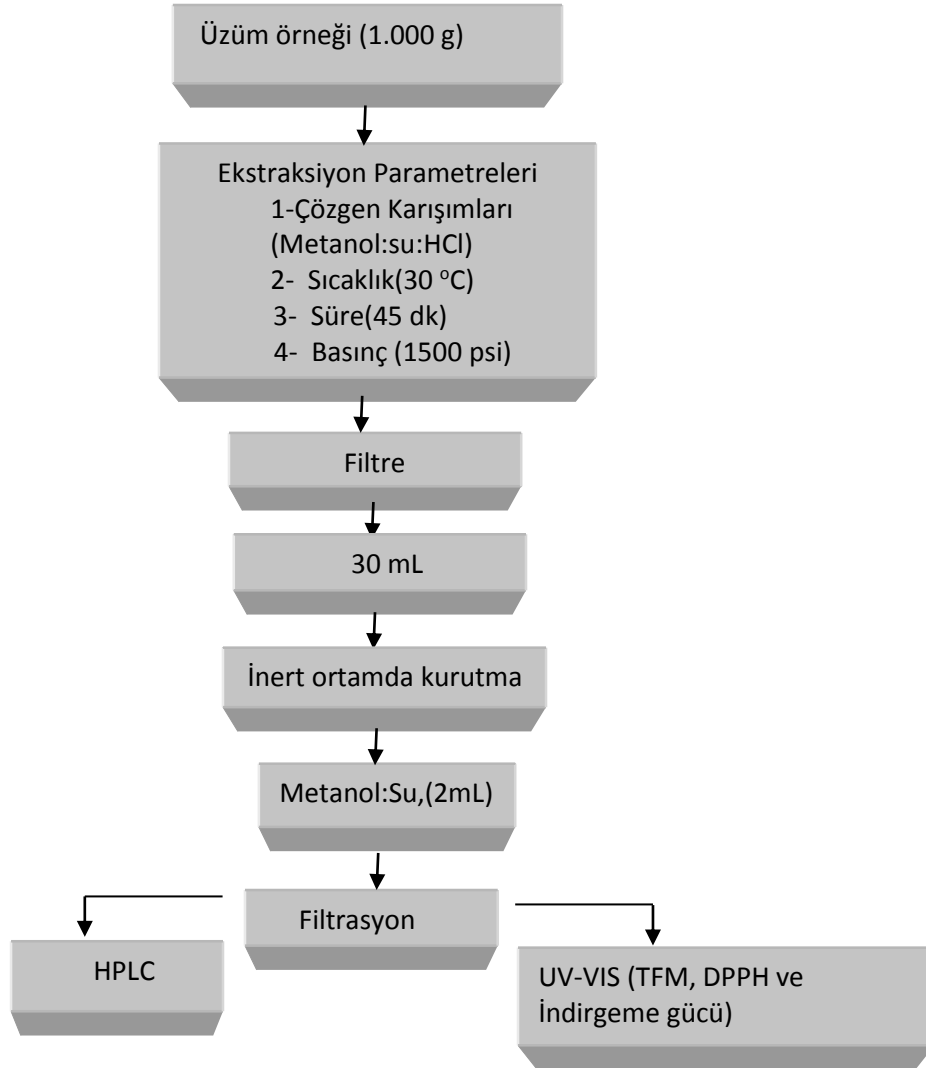
Polifenol İsimleri	Polifenol İsimleri	Polifenol İsimleri
Gallik asit	Şirinjik asit	p-koumarik
Prokateşik asit	(-)-Epikateşin	Rutin
Neoklorogenik	Epikateşin gallat	EGKG
4-Hidroksibenzoik asit	Kaftarik asit	Ellagik asit
Prosiyanidin	Klorojenik	Myrisetin
Vanilik asit	Kafeik asit	Naringin
(+)-Kateşin		

4.2 Yöntem

4.2.1. Örnek Hazırlama

4.2.1.1. Hızlandırılmış Ekstraksiyon Cihazıyla Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin üzüm örneklerinden ekstraksiyonunda, tüm ekstraksiyon denemeleri için liyofilize örnekler kullanılmıştır. Ekstraksiyonda, materyalin türü, yapıda çözünen maddenin derişimi, örnek miktarı, süre, sıcaklık ve basınç gibi parametreler etkilidir. Bu çalışmada ekstraksiyon için; çözgen karışımı olarak; metanol:su:HCl (70:29.9:01), sıcaklık 30 °C, süre; her biri 15 dk olacak şekilde aynı örneğe 3 tekrarlı ekstraksiyon çözeni gönderilmiş ve basınç 1500 psi olarak uygulanmıştır. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için hızlandırılmış ekstraksiyon cihazı ile yapılan işlem basamakları şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6 Polifenollerin ekstraksiyonda optimum parametreler için işlem basamakları

4.2.1.2. Örneklerdeki % Nem Oranlarının Belirlenmesi

Örneklerin nem miktarları tayin edilirken, üzümlerden 1'er gram tartılıp petri kabına konmuştur. Tartılan örnekler 110 °C sıcaklıktaki etüve konularak 60 dk beklendikten sonra tartım alınmıştır. Bu işlem 3 defa tekrarlanmıştır. Son durumdaki ağırlık baştaki meyve ağırlığından çıkartılarak örneklerdeki nem % olarak hesaplanmıştır. Ayrıca % nem oranlarından yararlanarak örneklerin kuru madde miktarları da hesaplanmıştır.

4.2.1.3 Üzüm Örneklerinin Liyofilizasyonu (Dondurarak Kurutma)

Liyofilizasyon için; parçalanmış üzüm örnekleri sıvı azot içine daldırılarak, hızlı bir şekilde dondurulmuştur. Dondurulan örnekler alüminyum folyo üzerine ince bir tabaka halinde hızlıca yayılmış ve kurutucunun tepsilerine yerleştirilmiştir. Tepsilerdeki örnek kalınlığının da en fazla 1 cm olmasına, örneklerin tepsilere düzgün yayılmasına dikkat edilmiştir. Freze-drier cihazına (Armfield, England) konulmuş ve 5 mmHg basınç ve -50 °C şartlarında kurutulmuştur. Kurutma işlemi için örnekler kurutucuda en az 21 saat tutulmuştur. Tamamen dondurarak kurutulmuş örnek, Waring-blender'da parçalanarak un kıvamında ve büyüklüğünde üzüm örnekleri elde edilmiştir. Bu toz örnekler kapaklı plastik kaplarda ≤ -4 °C'de saklanmıştır.

4.2.2 Fenolik Bileşiklerin HPLC Yöntemi ile Belirlenmesi

Fenolik Bileşiklerin belirlenmesinde; Shimadzu LC-20AD Prominence HPLC sistem (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) kullanılmıştır. Sistem bileşenleri SPD-M20A diode array dedektör, SIL-20A HT otosampler, CTO-20A kolon fırını ve DGU-20A5 degaz ünitelerinden oluşmaktadır. Kromatografik ölçümler 280, 320 ve 360 nm dalga boylarında gerçekleştirilmiştir. Ayrımında 250 x 4.6 x 5µm özelliklerinde C18 kolon (GL sciences, Kyoto, Japan) kullanılmıştır. Her bir polifenolün HPLC ile ayrı ayrı analizinde; eluent A; su:formik asit (%98:2), eluent B; su:asetonitril:formik asit (% 78:20:2) ve eluent C; metanol (%100) olmak üzere üç farklı çözgen karışımı kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 20 µL, akış hızı 0.75 mL/dk ve sıcaklık 28 °C olarak ayarlanmıştır. Akış gradient olarak verilmiştir. Akış programı olarak; sistemden başlangıçta B solventi %25 olacak şekilde düzenlenmiş ve ardından 15. dk ya

gelindiğinde B solventi %50 ve 20. dk sonunda ise %75, 25. dk sonunda %100 olacak şekilde ayarlanmıştır. Sistemden 52 dk boyunca %100 B solventi geçirilmiş ve ardından 7 dk süreyle %100 metanol (C solventi) geçirilmiştir. Son olarak 6 dk A solventi geçirilerek sistem başlangıç koşullarına getirilmiştir. Fenolik bileşiklerin tanımlanması amacıyla 27 farklı fenolik maddenin dış standart yöntemi ile tanımlanması yapılmıştır. Örneklerdeki fenolik konsantrasyonları, fenolik madde standartlarının en az 5 farklı konsantrasyonda aynı akış programında HPLC sistemine verilmesi ile bulunmuştur. Tüm standartların kalibrasyonunda elde edilen kalibrasyon katsayıları (R^2) 0.9990 dan büyük bulunmuştur.

4.2.3. *İn Vitro* Antioksidan Testler

4.2.3.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini

DPPH çözeltisi, 0.025 g.L^{-1} ' lik olacak şekilde 2.5 mg DPPH radikali 100 mL metanol içinde çözülerek hazırlanmıştır. Spektrofotometre küvetlerine (3 mL disposable) 25-100 μL örneklerinden eklenip üzerine 2.400 mL DPPH çözeltisi ve son hacim 2.500 mL olacak şekilde metanol eklenmiştir. Hazırlanan örneklerin 15. ve 30. dakika sonunda 517 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Standart olarak trolox kullanılmıştır. % radikal süpürme gücü aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{RSG} = 1 - \left[\frac{A_{\text{Ö:30}}}{A_{\text{K:30}}} \right] \times 100$$

$A_{\text{Ö:30}}$: Örneğin 30. dakikadaki absorbansı

$A_{\text{K:30}}$: Kontrolün 30. dakikadaki absorbansı

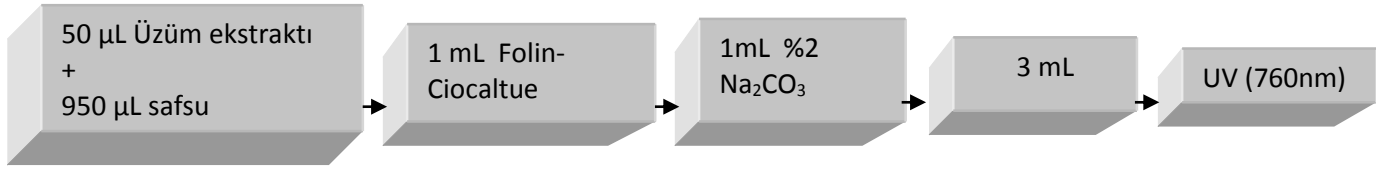
4.2.3.2. İndirgeme Gücü Yöntemi

Cam tüplere 25-100 μL örnekler konularak saf su ile 500 μL 'ye tamamlanmış, kontrolde örnek yerine saf su kullanılmıştır. Her tüpe 1.25 mL 0.2 M fosfat tamponu (pH:6.6) ve 1.25 ml %1'lik potasyum ferrisiyanür ilave edilerek karışım su banyosunda 50°C 'de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Su banyosundan alınan tüplerin üzerine 1.25 ml %10'luk trikloroasetik asit eklenip tüpler çalkalanmış daha sonra santrifüj cihazının (Minstral 1000) tüplerine alınan örnekler, 3000 dev/dk'da 10 dk santrifüj işlemine tabii tutulmuştur. Santrifüj sonucu ayrılan sıvı kısımdan 1.25 mL alınarak üzerine 1.25 mL

destile su ve 0.25 mL %0.1' lik FeCl_3 çözeltisi ilave edilmiş renklenen çözeltinin 700 nm'deki absorbansı köre karşı okunmuştur. İndirgeme gücü absorbansa göre karşılaştırılmıştır.

4.2.3.3. Toplam Fenolik Maddelerin Analizi

Toplam fenolik madde miktarının tayini için “Folin & Ciocaltue” metodu kullanılmış ve toplam fenolik madde değerleri gallik asit cinsinden ölçülmüştür. Ekstraktlardan 50 μL alınmış ve üzerine 950 μL su eklendikten sonra, 1 mL Folin-Ciocaltue çözeltisi eklenmiş ve 3 dk beklenilmiştir. Bu süre sonunda 1 mL %2'lik Na_2CO_3 çözeltisi ile 3 mL'ye tamamlanarak 10 dk daha beklenerek reaksiyonun dengeye ulaşması sağlanmıştır. Renklenen çözeltilerin absorbanslar 760 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Toplam fenolik madde tayini için; standartlara ve örneklere uygulanan işlem basamakları Şekil4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Toplam polifenol analizi için yapılan işlem basamakları

5. ARAŞTIRMA BULGULARI

5.1.Üzümlerin % Nem Oranları

Üzüm örneklerinin nem tayini yapılarak sonuçlar % nem olarak Çizelge5.1’de verilmiştir.

Çizelge: 5.1.Üzüm çeşitlerinin % nem oranları

Meyve	Meyve % Nem	Meyve	Meyve % Nem
THN-1	19.15	KRŞ-1	21.60
THN-2	23.80	KRŞ-2	20.57
THN-3	9.40	KRŞ-3	22.57
THN-4	24.49	KRŞ-4	24.46
THN-5	21.83	KRŞ-5	27.81
THN-6	20.35	KRŞ-6	31.52
THN-7	20.11	KRŞ-7	34.53

Yukarıdaki sonuçlara bakılarak olgunlaşma oranına göre meyve örneklerinde nem miktarının THN çeşiti için çok fazla değişmezken, KRŞ çeşitleri için ise arttığı görülmüştür. THN üzüm meyve çeşitinde % 9.4-24.49aralığında, KRŞ çeşitlerinde ise %20.57-34.53 aralığında nem içerdiği belirlenmiştir.

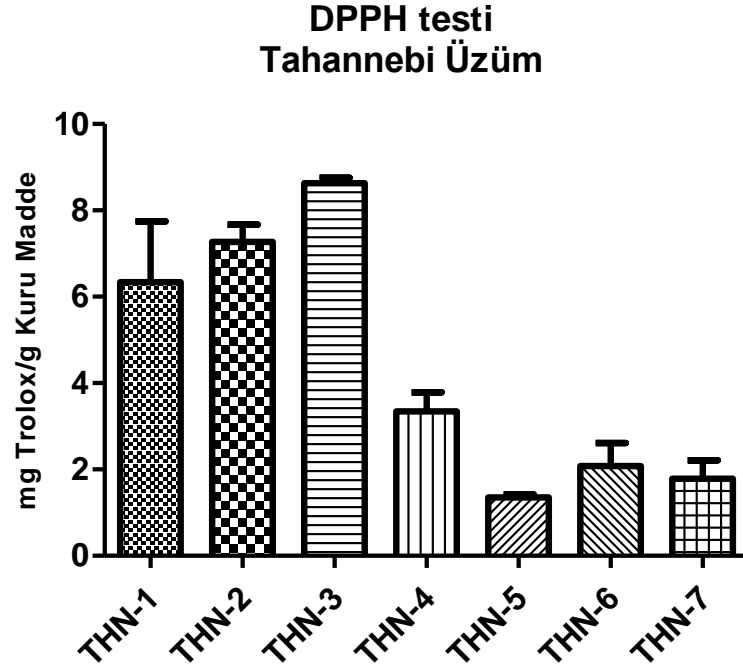
5.2Üzüm Meyvesi Çeşitlerine Ait Ekstraktların *In Vitro*Radikal Süpürme Düzeyleri

5.2.1Üzüm Meyve Çeşitlerine Ait Ekstraktların DPPH Radikal Süpürme Düzeyleri

Üzüm çeşitlerine ait ekstraktların mg trolox/g kuru maddeye göre DPPH radikal süpürücü etkisi Tahannebi çeşiti için örnek alma sırasıyla; THN-1 için 6.21 ± 0.70 , THN-2 için 7.26 ± 0.40 , THN-3 için 8.65 ± 0.11 , THN-4 için 3.33 ± 0.44 , THN-5 için 1.36 ± 0.065 , THN-6 için 2.06 ± 0.53 , THN-7 için 1.76 ± 0.40 mg trolox/g kuru madde ve Kureyş çeşiti için ise; KRŞ-1 için 16.95 ± 2.66 , KRŞ-2 için 16.44 ± 0.95 , KRŞ-3 için 9.97 ± 0.12 , KRŞ-4 için 7.01 ± 0.27 , KRŞ-5 için 4.99 ± 0.64 , KRŞ-6 için 1.02 ± 0.3 , KRŞ-7 için 1.01 ± 0.15 mg trolox/g kuru madde olarak ölçülmüştür. (Çizelge5.2, Şekil5.1-5.2)

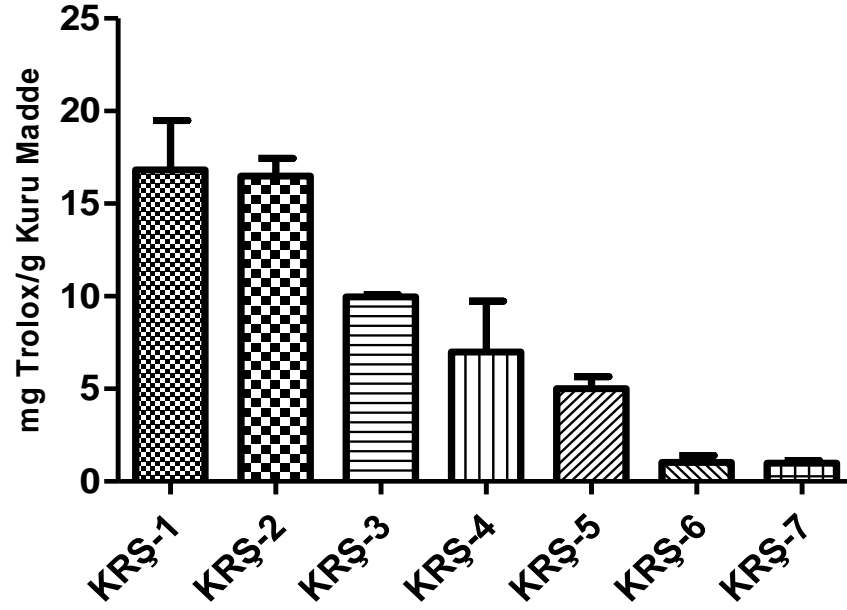
Çizelge5.2Üzüm çeşitlerinin DPPH radikal süpürme gücü düzeyleri

Meyve ve hasat dönemleri	mg Trolox/g kuru madde	Meyve ve hasat dönemleri	mg Trolox/g kuru madde
THN-1	6.21±0.70	KRŞ-1	16.95±2.66
THN-2	7.26±0.40	KRŞ-2	16.44±0.95
THN-3	8.65±0.11	KRŞ-3	9.97±0.12
THN-4	3.33±0.44	KRŞ-4	7.01±0.27
THN-5	1.36±0.06	KRŞ-5	4.99±0.64
THN-6	2.06±0.53	KRŞ-6	1.02±0.30
THN-7	1.76±0.40	KRŞ-7	1.01±0.15



Şekil 5.1 Tahannebi çeşitine ait mg trolox/g kuru madde miktarlarına göre DPPH radikal süpürücü düzeyleri

DPPH testi Kureyş Üzüm



Şekil 5.2 Kureyş çeşidine ait mg trolox/g kuru madde miktarlarına göre DPPH radikal süpürücü düzeyleri

5.2.2. Üzüm Meyvesi Çeşitlerine Ait Ekstraktların İndirgeme Gücü Düzeyleri

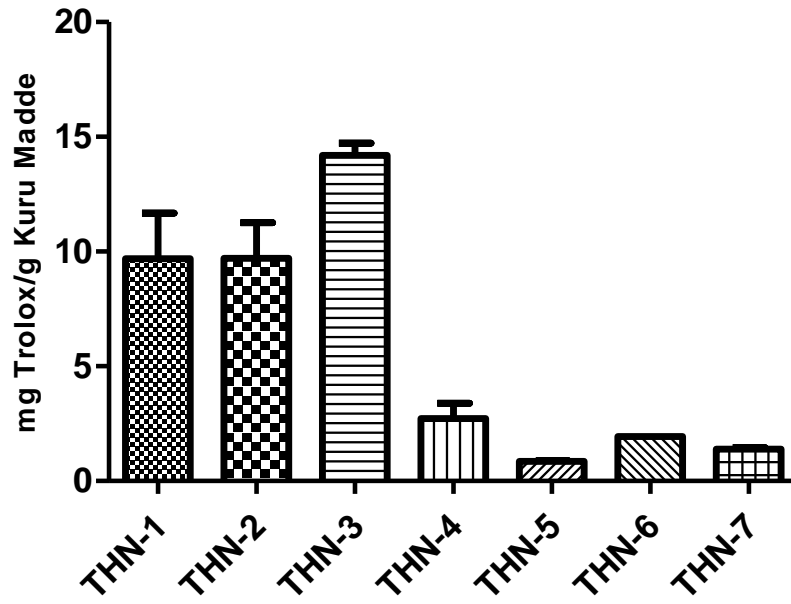
Üzüm meyve örneklerinde her bir çeşit için kendi içinde indirgeme gücü sonuçları DPPH radikal süpürücü değerleri ile paralellik göstermiştir. Kureyş çeşidinin tahannebi çeşidine göre indirgeme gücü değerleri bazı örnek alma dönemlerinde farklıklar gösterse de genelde daha yüksek bir indirgeme gücü olduğu tespit edilmiştir. Üzüm çeşitlerinin indirgenme gücü düzeyleri çizelge 5.3'te verilmiştir.

Çizelge 5.3 Üzüm çeşitlerinin indirgeme gücü düzeyleri

Meyve ve hasat dönemleri	mg Trolox/g kuru madde	Meyve ve hasat dönemleri	mg Trolox/g kuru madde
THN-1	9.69±1.98	KRŞ-1	34.46±1.05
THN-2	9.71±1.54	KRŞ-2	23.27±0.56
THN-3	14.19±0.54	KRŞ-3	11.86±0.21
THN-4	2.73±0.66	KRŞ-4	8.58±0.21
THN-5	0.85±0.03	KRŞ-5	3.58±0.48
THN-6	1.94±0.01,	KRŞ-6	1.55±0.05
THN-7	1.39±0.05	KRŞ-7	1.09±0.10

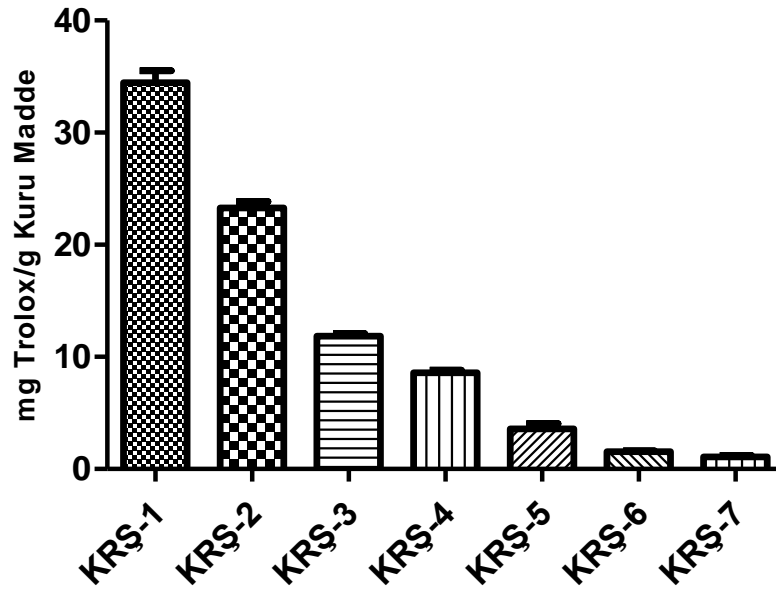
Buna göre; üzüm çeşitlerine ait ekstraktların mg trolox/g kuru madde indirgeme gücü kapasitesi Tahannebi çeşidi için örnek alma sırasıyla; THN-1 için 9.69±1.98, THN-2 için 9.71±1.54, THN-3 için 14.19±0.54, THN-4 için 2.73±0.66, THN-5 için 0.85±0.03, THN-6 için 1.94±0.01, THN-7 için 1.39±0.05 mg trolox/g kuru madde ve Kureyş çeşidi için ise; KRŞ-1 için 34.46±1.05, KRŞ-2 için 23.27±0.56, KRŞ-3 için 11.86±0.21, KRŞ-4 için 8.58±0.21, KRŞ-5 için 3.58±0.48, KRŞ-6 için 1.55±0.05, KRŞ-7 için 1.09±0.10 mg trolox/g kuru madde olarak ölçülmüştür. Her iki üzüm çeşidi için de 5. örnek alma döneminden sonra indirgeme gücü değerinde oldukça büyük bir düşüş görülmektedir. (Şekil 5.3 ve Şekil 5.4)

İndirgeme Gücü Tahannebi Üzüm



Şekil 5.3 Tahannebi çeşitine ait mg trolox/g kuru madde miktarlarına göre indirgeme gücü düzeyleri

İndirgeme Gücü Kureyş Üzüm



Şekil 5.4 Kureyş çeşitine ait mg trolox/g kuru madde miktarlarına göre indirgeme gücü düzeyleri

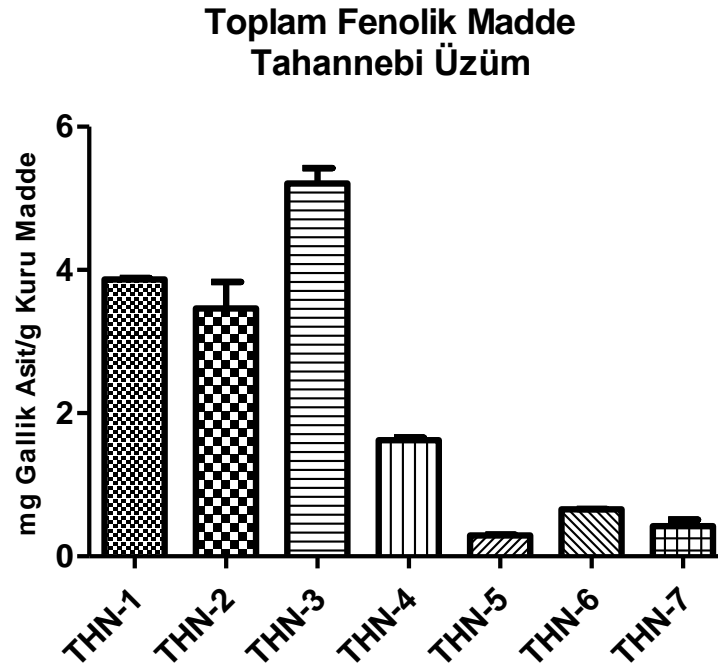
5.2.3.Üzüm Çeşitlerine Ait Ekstraktların Toplam Fenolik Madde İçeriği

Kureyş çeşitinin tahanebi çeşitine göre toplam fenolik madde değerleri bazı örnek alma dönemlerinde farklılıklar gösterse de genelde daha yüksek bir toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Üzüm çeşitlerinin toplam fenolik madde düzeyleri çizelge 5.4'te verilmiştir.

Çizelge5.4Üzüm çeşitlerinin toplam fenolik madde düzeyleri

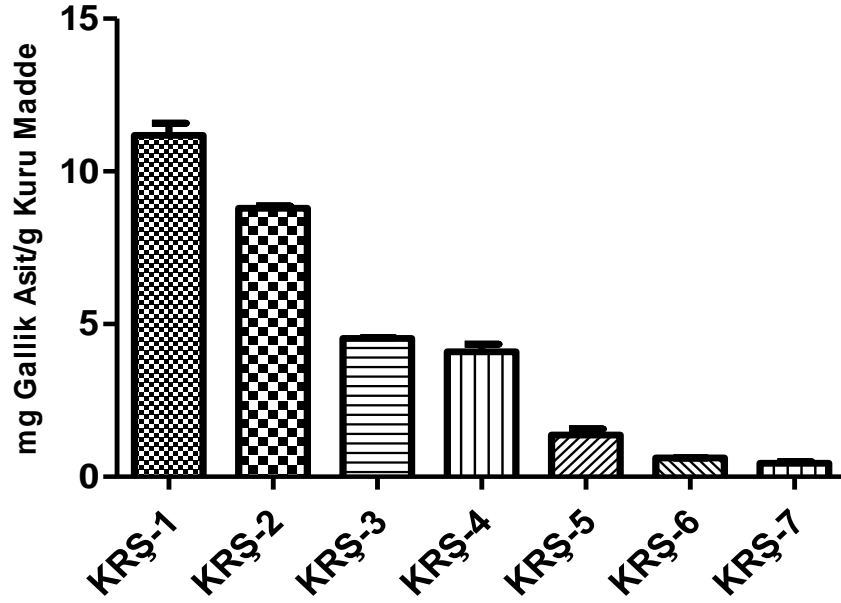
Meyve ve hasat dönemleri	mg gallik asit/g kuru madde	Meyve ve hasat dönemleri	mg gallik asit/g kuru madde
THN-1	3.86±0.01	KRŞ-1	11.18±0.40
THN-2	3.46±0.37	KRŞ-2	8.79±0.07
THN-3	5.20±0.21	KRŞ-3	4.53±0.02
THN-4	1.62±0.03	KRŞ-4	4.09±0.24
THN-5	0.29±0.00	KRŞ-5	1.38±0.20
THN-6	0.65±0.00	KRŞ-6	0.61±0.00
THN-7	0.43±0.08	KRŞ-7	0.45±0.04

Buna göre; üzüm çeşitlerine ait ekstraktların mg gallik asit/g kuru madde toplam fenolik madde içerikleri Tahannebi çeşiti için örnek alma sırasıyla; THN-1 için 3.86 ± 0.01 , THN-2 için 3.46 ± 0.37 , THN-3 için 5.20 ± 0.21 , THN-4 için 1.62 ± 0.03 , THN-5 için 0.29 ± 0.007 , THN-6 için 0.65 ± 0.001 , THN-7 için 0.43 ± 0.08 mg gallik asit/g kuru madde ve Kureyş çeşiti için ise; KRŞ-1 için 11.18 ± 0.40 , KRŞ-2 için 8.79 ± 0.07 , KRŞ-3 için 4.53 ± 0.02 , KRŞ-4 için 4.09 ± 0.24 , KRŞ-5 için 1.38 ± 0.20 , KRŞ-6 için 0.61 ± 0.005 , KRŞ-7 için 0.45 ± 0.04 mg gallik asit/g kuru madde olarak ölçülmüştür. Her iki üzüm çeşiti için de 5. örnek alma döneminden sonra toplam fenolik madde değerlerinde oldukça büyük bir düşüş görülmektedir. (Şekil 5.5 ve Şekil 5.6)



Şekil 5.5 Tahannebi çeşitine ait mg gallik asit/g kuru madde miktarlarına göre toplam fenolik madde düzeyleri

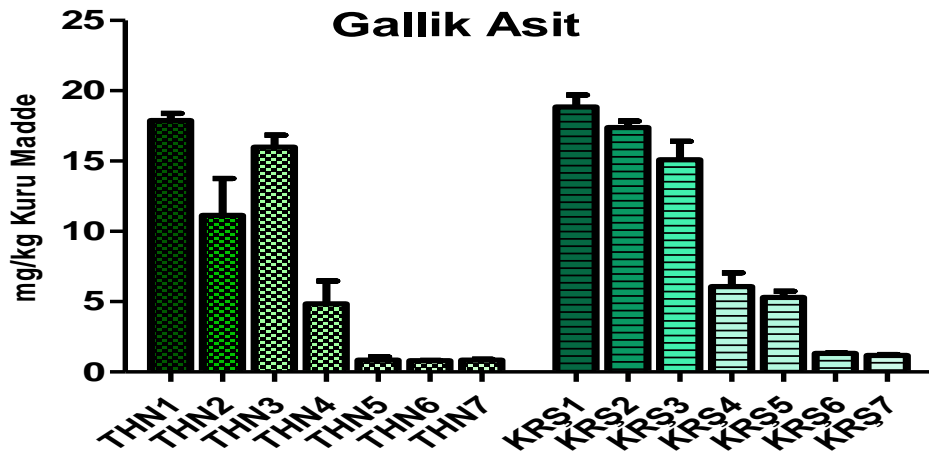
Toplam Fenolik Madde Kureyş Üzüm



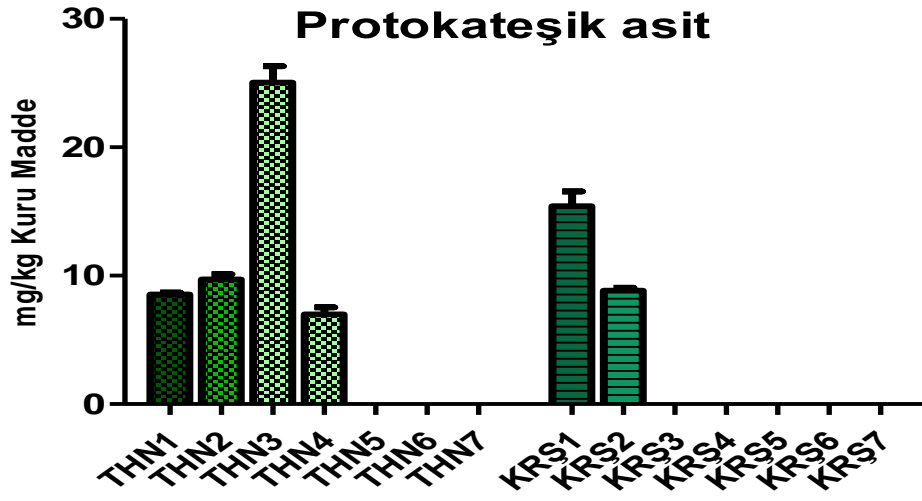
Şekil 5.6 Kureyş çeşitine ait mg gallik asit/g kuru madde miktarlarına göre toplam fenolik madde düzeyleri

5.3. Tahannebi ve Kureyş Meyve Ekstraktlarına Ait Polifenol Düzeyleri

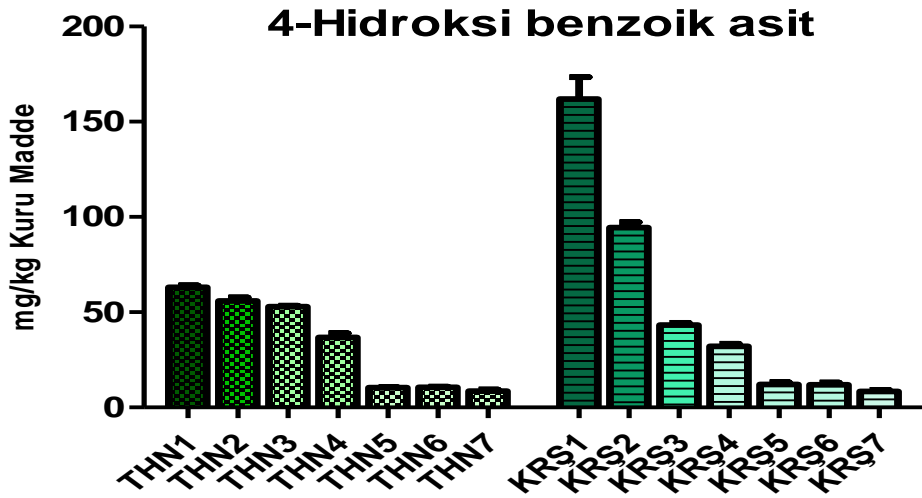
Malatya koşullarında yetiştirilen iki üzüm çeşiti için, olgunlaşma sürecinin 7 farklı örnek alma döneminde üzümlerdeki her bir fenolik bileşenin nasıl değiştiği tespit edilmiştir. 280, 320 ve 380 nm dalgaboylarındaki polifenol standartlarının ve üzüm örneklerinin polifenol HPLC kromatogramları şekil 5.26-5.34'te verilmiştir.



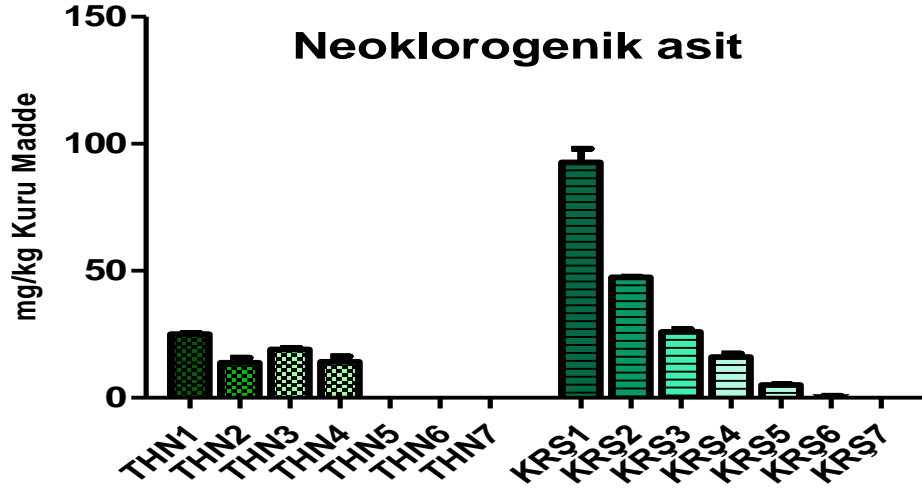
Şekil 5.7 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki Gallik asit düzeyleri



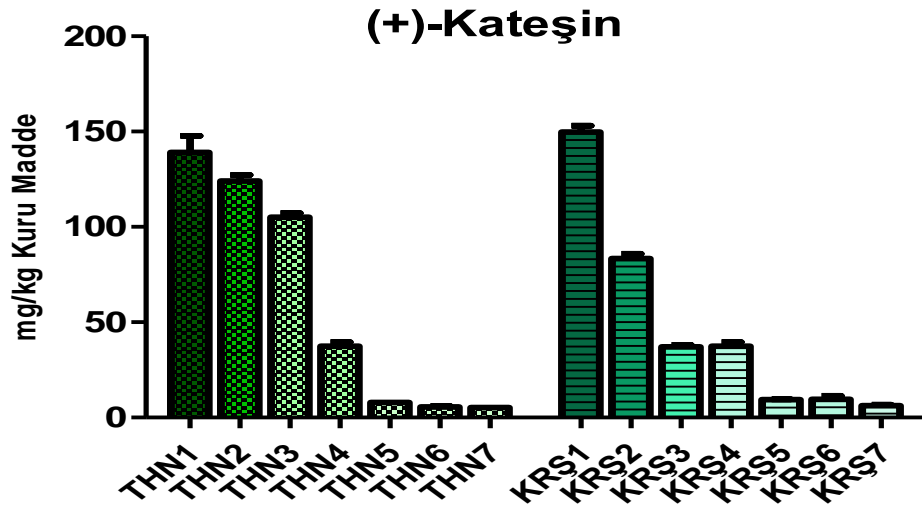
Şekil 5.8 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki protokateşik asit düzeyleri



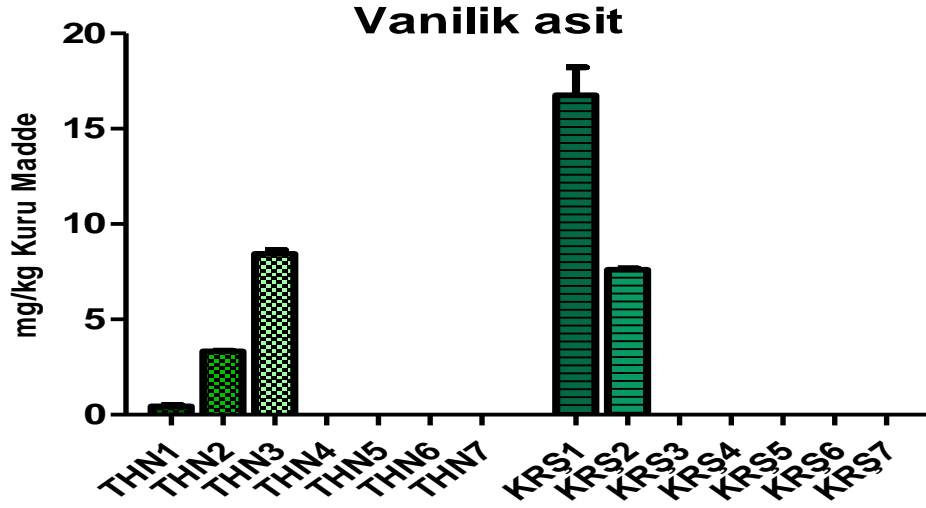
Şekil 5.9 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki 4-Hidroksi benzoik asit düzeyleri



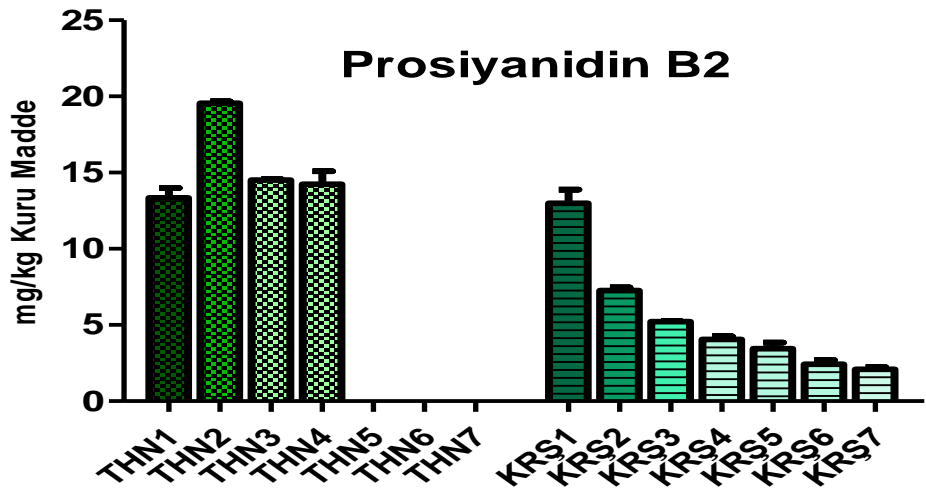
Şekil 5.10 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki neoklorogenik asit düzeyleri



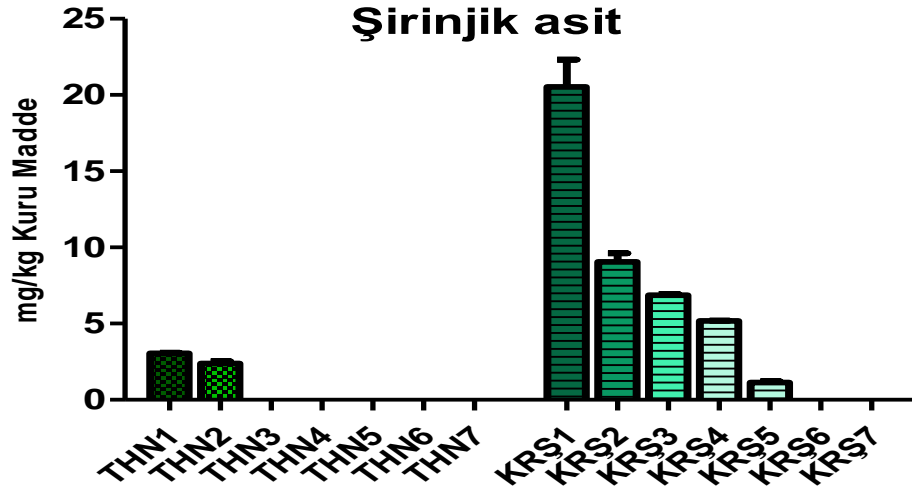
Şekil 5.11 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki (+)-Kateşin düzeyleri



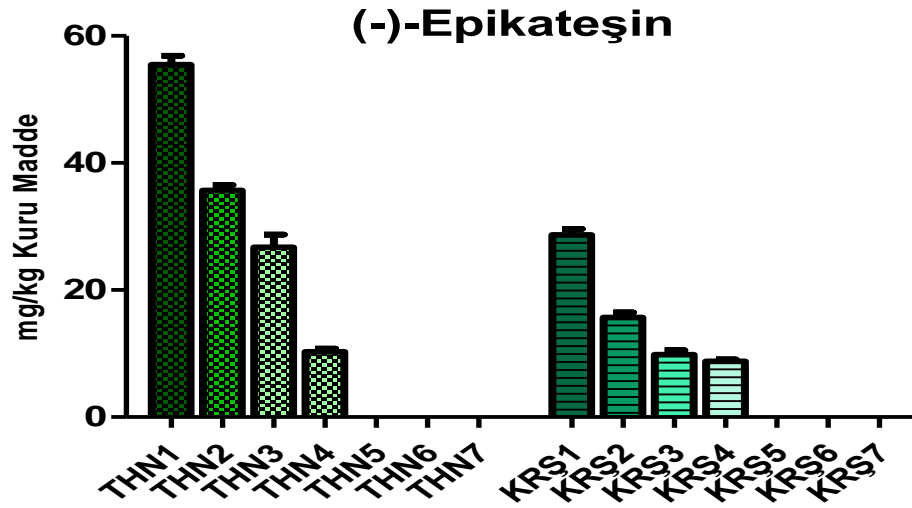
Şekil 5.12 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki vanilik asit düzeyleri



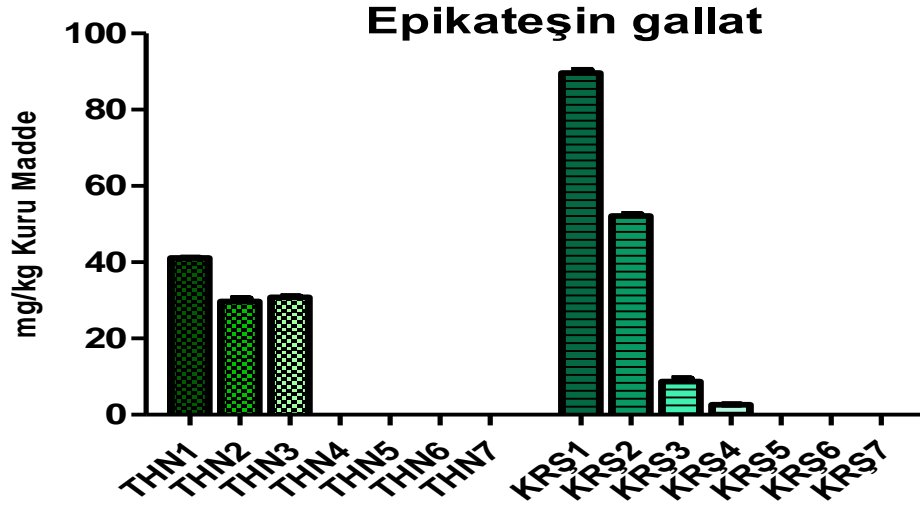
Şekil 5.13 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki prosiyanidin-B2 düzeyleri



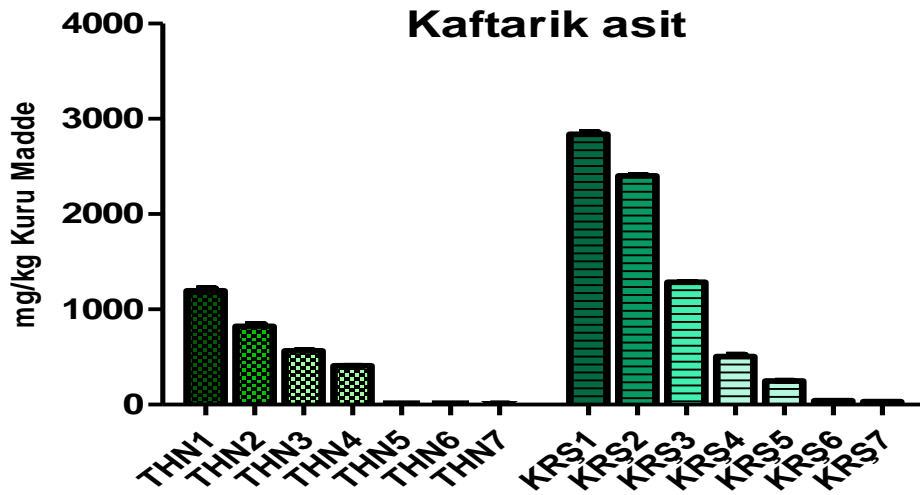
Şekil 5.14 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki şirinjik asit düzeyleri



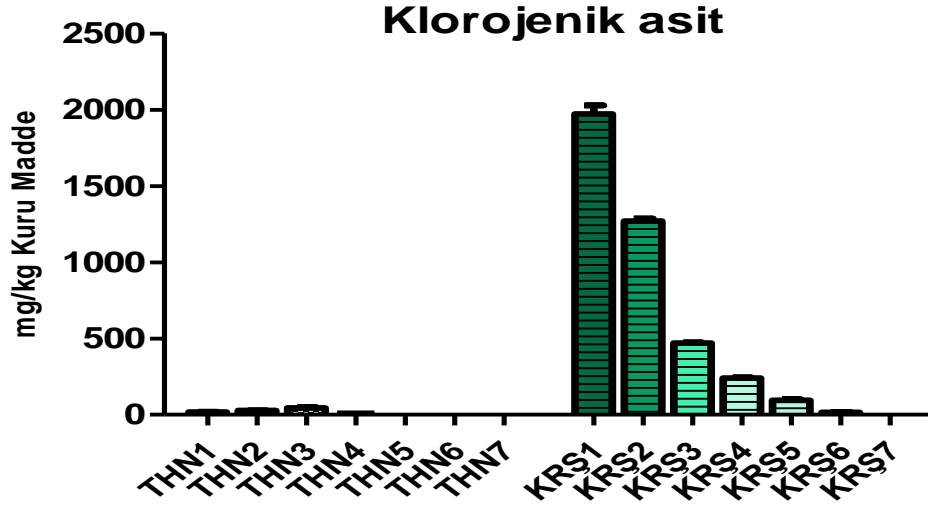
Şekil 5.15 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki (-)-epikateşin düzeyleri



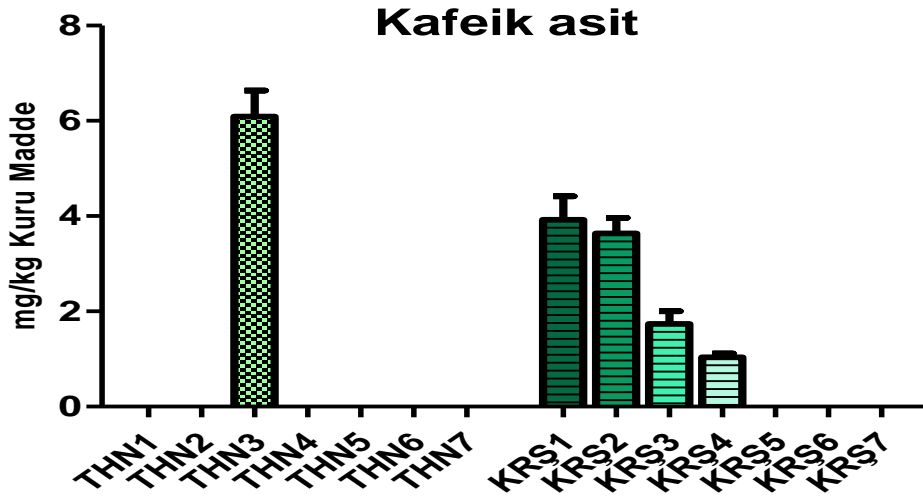
Şekil 5.16 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki epikateşin gallat düzeyleri



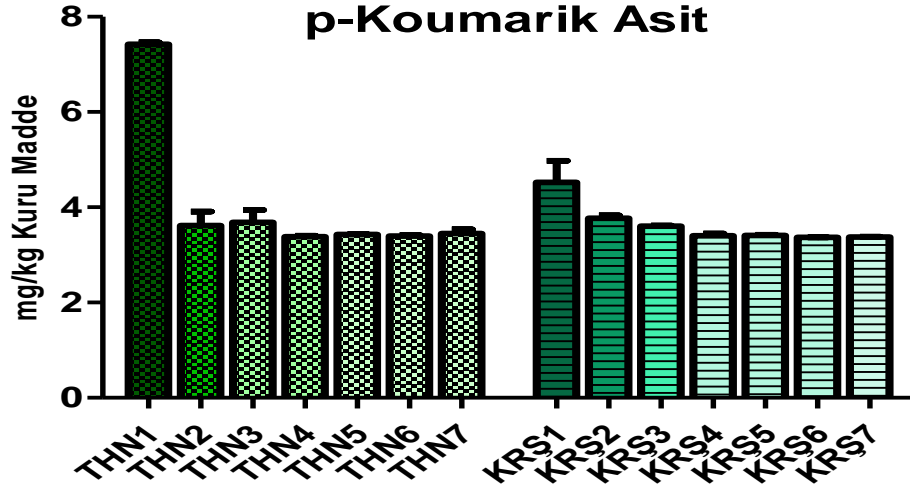
Şekil 5.17 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki kaftarik asit düzeyleri



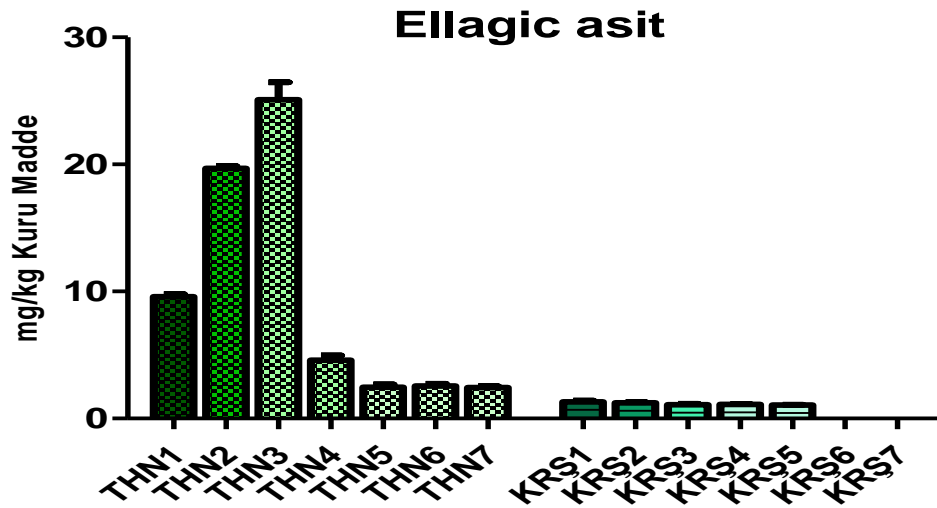
Şekil 5.18 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki klorojenik asit düzeyleri



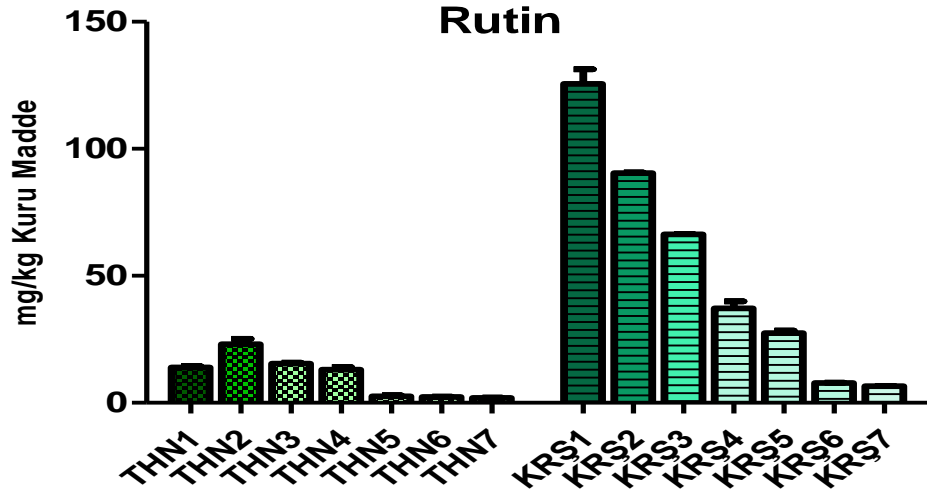
Şekil 5.19 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki t-kafeik asit düzeyleri



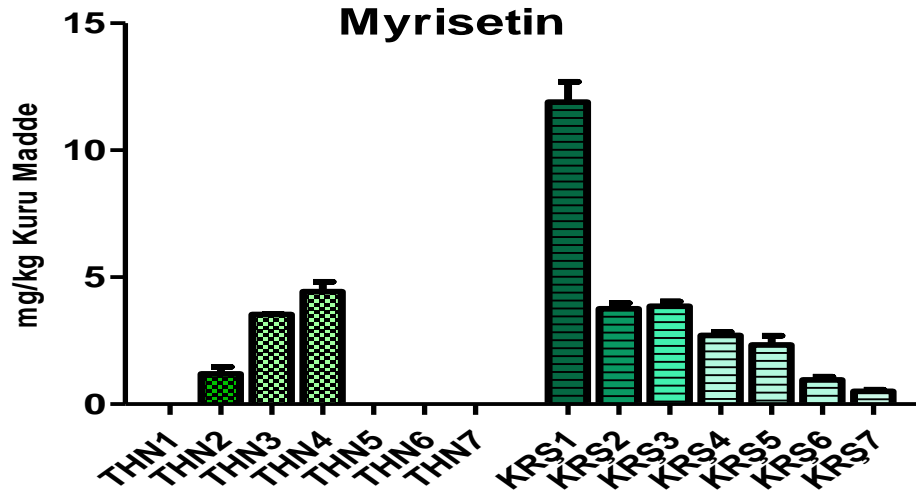
Şekil 5.20 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki p-koumarik asit düzeyleri



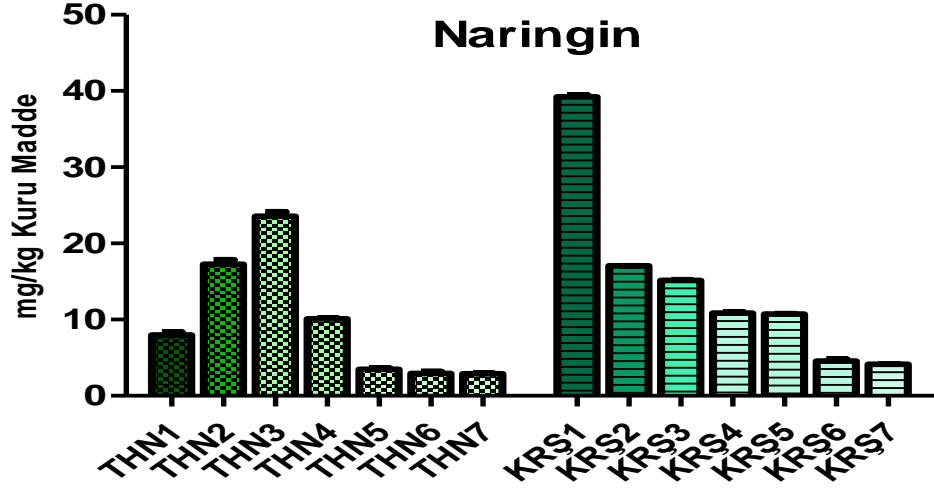
Şekil 5.21 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki ellagic asit düzeyleri



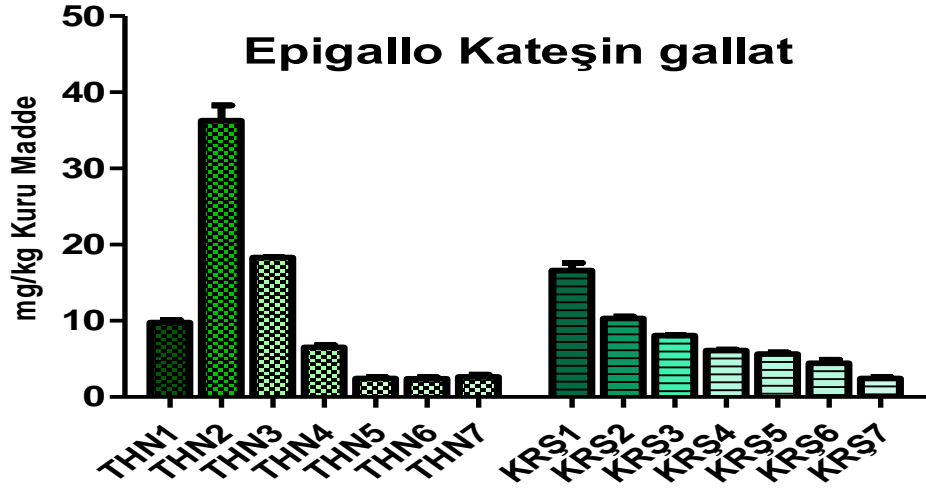
Şekil 5.22 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki rutin düzeyleri



Şekil 5.23 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki myrisetin düzeyleri



Şekil 5.24 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki naringin düzeyleri



Şekil 5.25 Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin farklı örnek alma dönemlerindeki epigallo kateşin gallat düzeyleri

Çizelge5.5Tahannebi Üzüm Çeşidi Örnek Alma Dönemleri ve Fenolik Bileşiklerin Düzeyleri

Tahannebi üzüm meyvesinin farklı hasat dönemlerindeki Fenolik bileşik düzeyleri (mg/kg kuru madde)							
Fenolik Bileşikler	THN1	THN2	THN3	THN4	THN5	THN6	THN7
Gallik asit	17.88±0.50	11.14±2.62	15.99±0.85	4.85±1.61	0.85±0.21	0.80±0.03	0.84±0.07
Prokateşik asit	8.54±0.13	9.70±0.40	25.05±1.26	6.99±0.55	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
Neoklorojenik	25.04±0.49	25.04±2.05	19.05±0.66	14.15±2.15	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
4-H.benzoik asit	63.03±1.01	55.87±1.95	52.91±0.56	36.78±2.13	10.42±0.08	10.54±0.38	8.62±0.75
(+)-Kateşin	139.08±8.7	124.14±3.1	105.02±2.3	37.39±2.13	7.87±0.00	5.50±0.51	5.25±0.05
Vanilik asit	0.45±0.06	3.33±0.03	8.45±0.19	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
Prosiyanidin	13.35±0.65	19.56±0.11	14.51±0.06	14.24±0.85	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
Şirinjik asit	3.06±0.04	2.38±0.15	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
(-)-Epikateşin	55.45±1.41	35.65±0.85	26.72±1.99	10.29±0.50	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
EpiKat.gallat	41.10±0.15	29.67±0.86	30.78±0.25	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
Kaftarik asit	1196.0±25.	821.0±24.7	563.77±7.4	407.03±1.7	15.19±0.75	14.06±0.30	9.82±0.45
Klorojenik	18.32±0.63	27.63±1.38	44.64±3.44	9.07±0.32	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
Kafeik asit	T.E.D.B	T.E.D.B	6.09±0.55	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
p-koumarik	7.42±0.04	3.62±0.29	3.69±0.26	3.38±0.02	3.43±0.00	3.39±0.02	3.45±0.09
Ellagik asit	9.58±0.22	19.70±0.17	25.08±1.39	4.59±0.37	2.46±0.22	2.56±0.18	2.44±0.09
Rutin	13.94±0.54	23.08±2.11	15.43±0.42	13.01±1.04	2.57±0.33	2.30±0.09	1.98±0.05
Myrisetin	N.D.	1.20±0.27	3.53±0.03	4.44±0.39	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
Naringin	7.98±0.38	17.26±0.61	23.57±0.59	10.12±0.08	3.48±0.16	2.96±0.21	2.91±0.07
EGKG	9.76±0.34	36.29±2.00	18.30±0.07	6.54±0.29	2.45±0.21	2.39±0.20	2.64±0.29

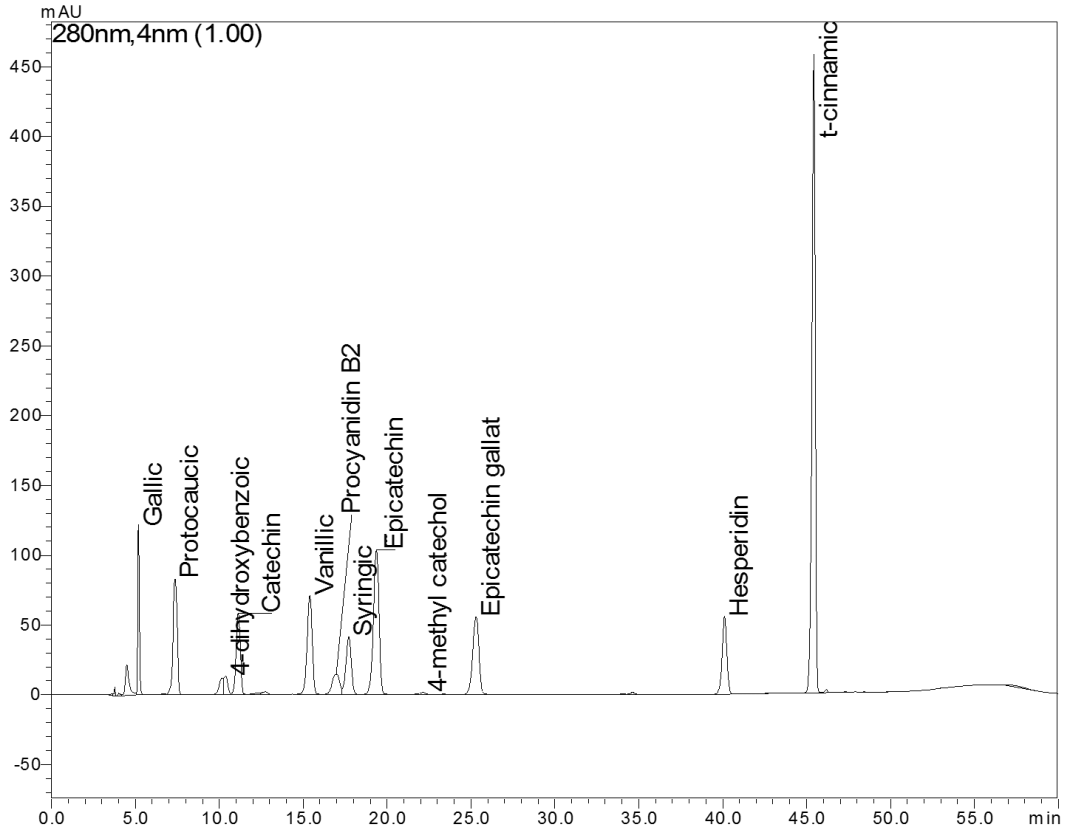
T.E.D.B: Tayin edilebilir düzeyde bulunamadı

Çizelge5.6Kureyş Üzüm Çeşidi Örnek Alma Dönemleri ve Fenolik Bileşiklerin Düzeyleri

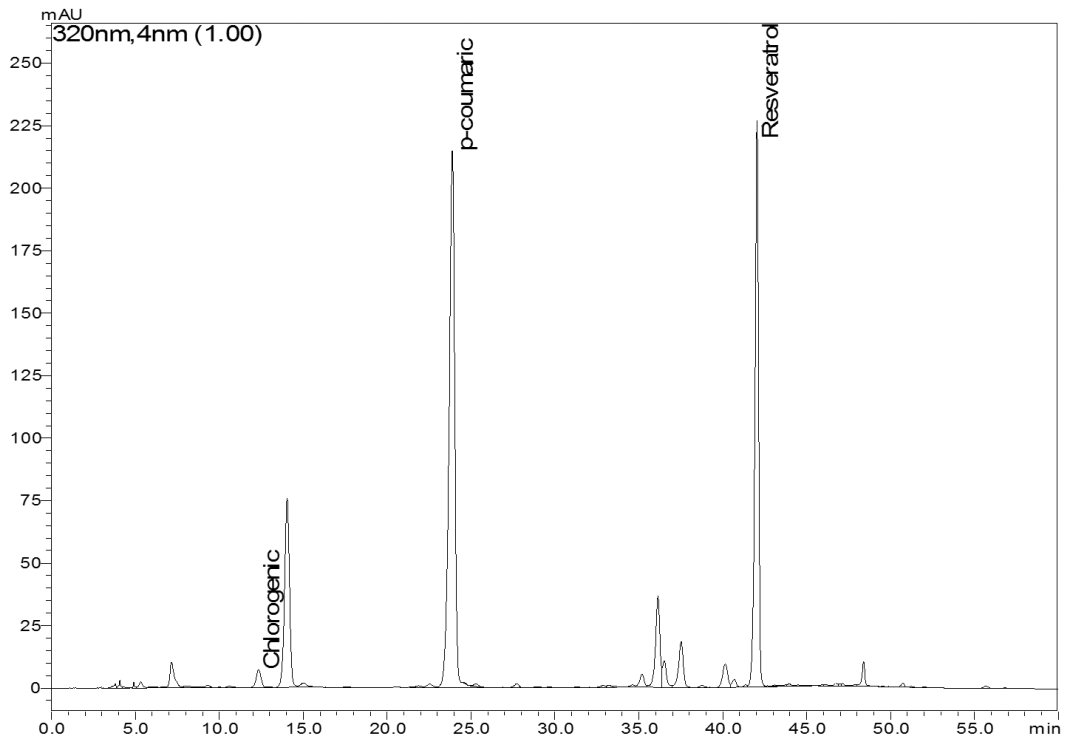
Kureyş üzüm meyvesinin farklı hasat dönemlerindeki Fenolik bileşik düzeyleri (mg/kg kuru madde)							
Fenolik Bileşikler	KRŞ1	KRŞ2	KRŞ3	KRŞ4	KRŞ5	KRŞ6	KRŞ7
Gallik asit	18.84±0.87	17.39±0.45	15.10±1.31	6.07±0.97	5.31±0.43	1.32±0.06	1.17±0.07
Prokateşik asit	15.42±1.13	8.84±0.23	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
Neoklorojenik	92.74±5.33	47.47±0.28	25.94±1.15	16.09±1.29	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
4-H.benzoik asit	161.96±11.50	94.42±2.83	43.32±1.08	32.12±1.24	10.04±1.22	11.84±1.24	8.49±0.78
(+)-Kateşin	149.68±3.34	83.41±2.57	37.07±0.98	37.48±2.15	9.42±0.09	9.67±1.82	6.29±0.45
Vanilik asit	16.5±1.47	7.60±0.06	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
Prosiyanidin	12.98±0.9	7.26±0.21	5.23±0.04	4.05±0.22	3.45±0.40	2.43±0.28	2.1±0.14
Şirinjik asit	20.52±1.79	9.05±0.57	6.87±0.08	5.19±0.01	1.15±0.07	T.E.D.B	T.E.D.B
(-)-Epikateşin	28.69±0.92	15.69±0.77	9.80±0.74	8.75±0,32	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
EpiKat.gallat	89.64±0.83	52.15±0.51	8.71±0.83	2.6±0.09	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
Kaftarik asit	2839.9±22.1	2400.80±6.70	1285.62±1.2	506.32±17.5	248.29±3.29	42.01±1.02	31.84±0.42
Klorojenik	1961.6±57.1	1269.84±16.9	468.81±5.54	240.61±5.25	94.03±8.05	15.23±2.08	T.E.D.B.
Kafeik asit	3.92±0.49	3.64±0.32	1.74±0.27	1.04±0.08	T.E.D.B	T.E.D.B	T.E.D.B
p-koumarik	4.53±0.45	3.77±0.06	3.60±0.02	3.41±0.05	3.41±0.02	3.37±0.01	3.38±0.01
Ellagik asit	1.32±0.1	1.24±0.05	1.1±0.07	1.1±0.04	1.07±0.01	T.E.D.B	T.E.D.B
Rutin	125.60±5.76	90.39±0.35	66.29±0.13	37.13±2.81	27.49±0.94	7.86±0.04	6.51±0.21
Myrisetin	11.89±0.8	3.6±0.22	3.86±0.18	2.7±0.14	2.33±0.36	0.96±0.12	0.51±0.06
Naringin	39.24±0.23	17.05±0.01	15.16±0.08	10.86±0.17	10.71±0.05	4.55±0.26	4.16±0.04
EGKG	16.62±0.99	10.32±0.23	8.08±0.04	6.1±0.14	5.66±0.20	4.45±0.46	2.46±0.21

T.E.D.B: Tayin edilebilir düzeyde bulunamadı

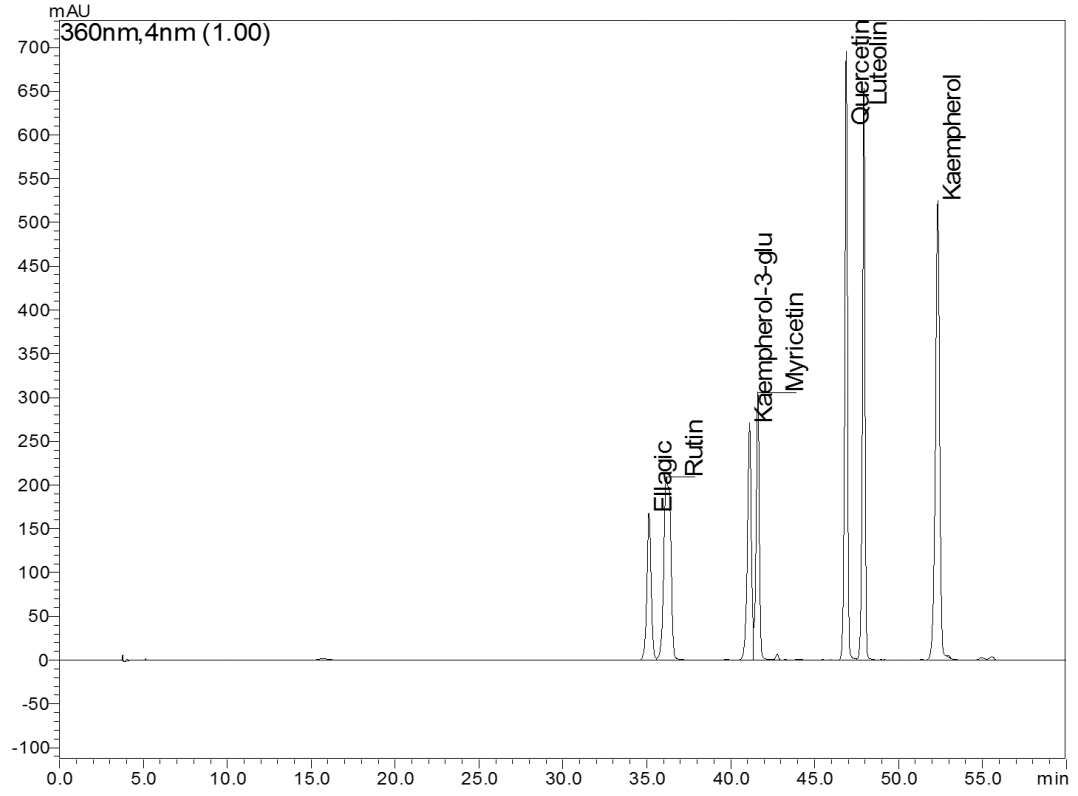
Elde edilen veriler ışığında; her iki çeşit için çiçeklenmeden sonra başlayan ilk örnek alma döneminden, son örnek alma dönemi olan olgun hale kadar ki örneklere doğru tayini yapılan tüm fenolik bileşiklerin konsantrasyonlarında, çeşide göre bazı farklılıklar gösterse de her bir çeşit için de önemli bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir.(Şekil 5.7-5.25 ve Çizelge5.5-5.6)



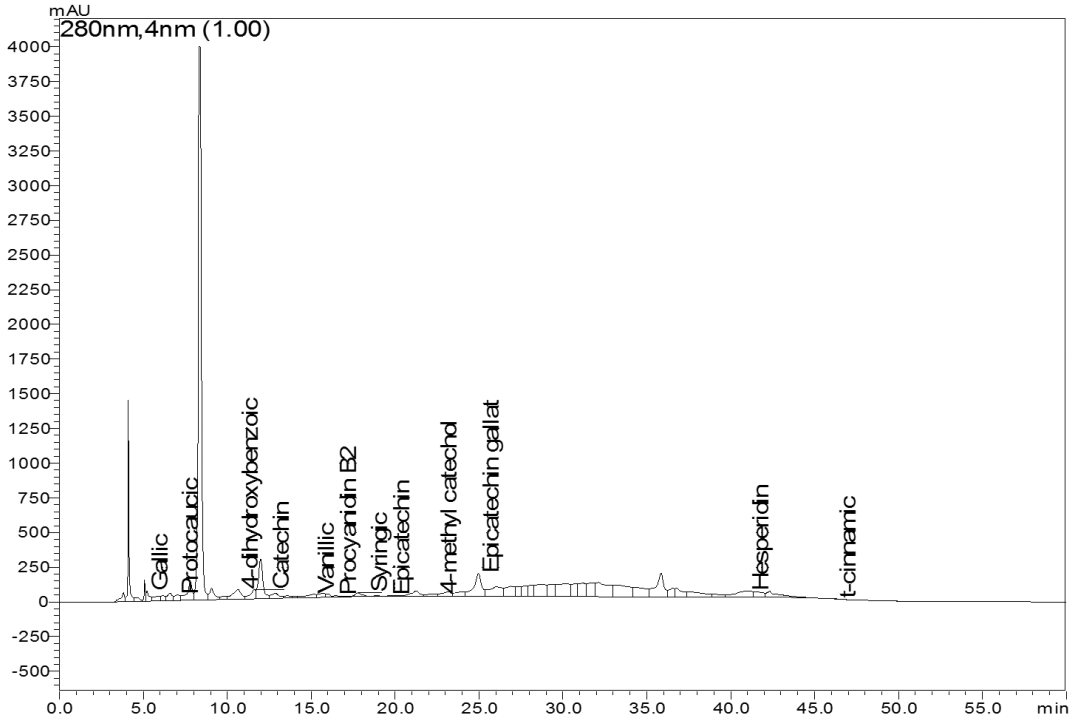
Şekil 5.26280 nm dalgaboyundaki polifenol standartları için HPLC kromatogramları



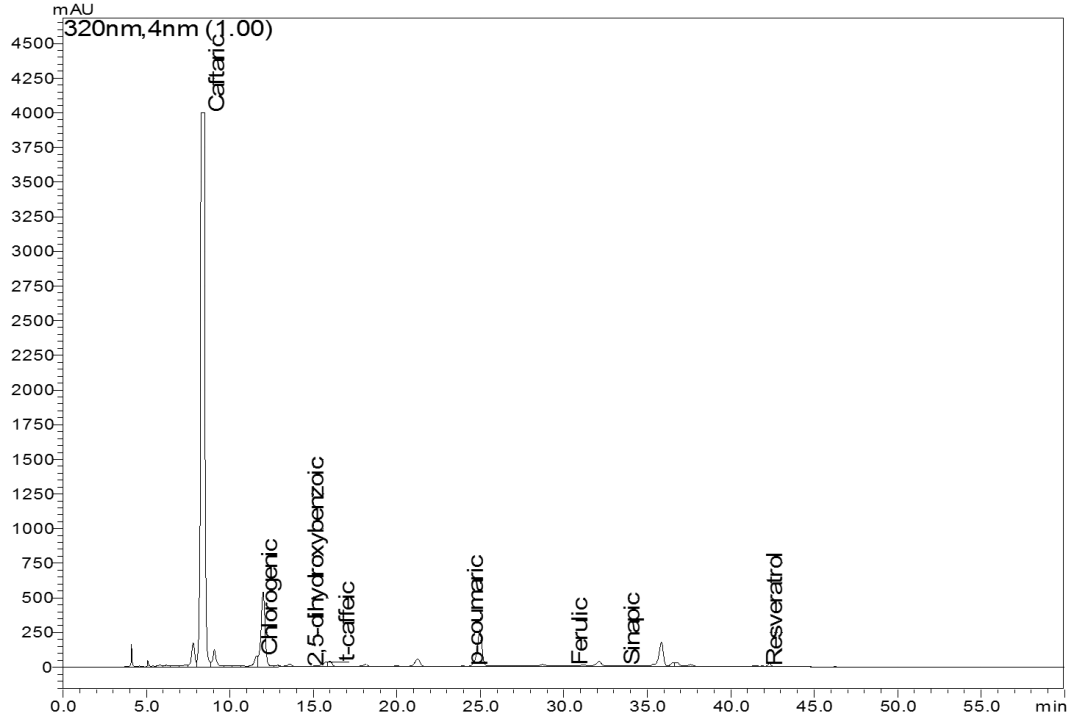
Şekil 5.27320 nm dalgaboyundaki polifenol standartları için HPLC kromatogramları



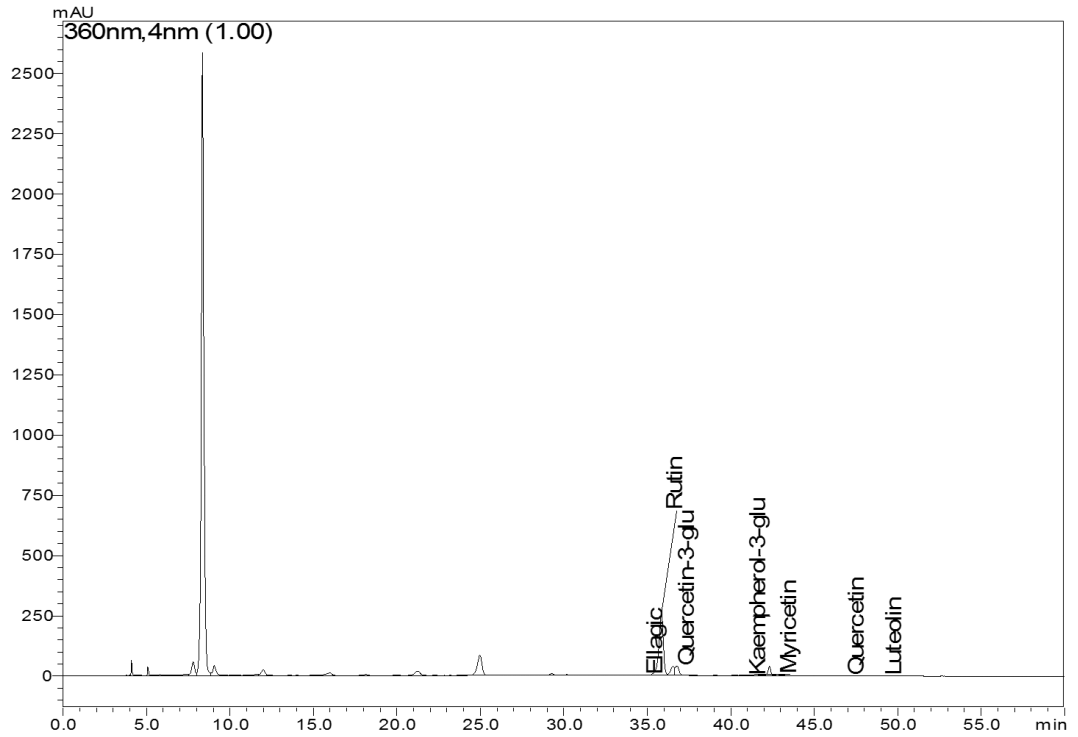
Şekil 5.28 360 nm dalgaboyundaki polifenol standartları için HPLC kromatogramları



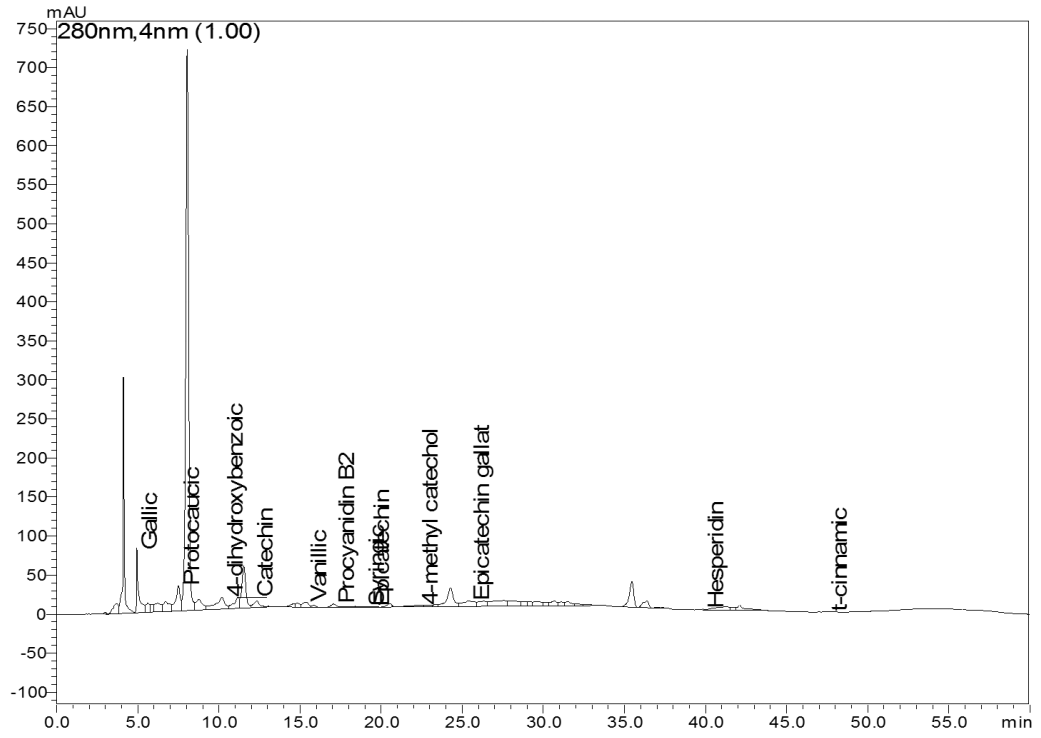
Şekil 5.29 K1 üzüm numunesinin 280 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları



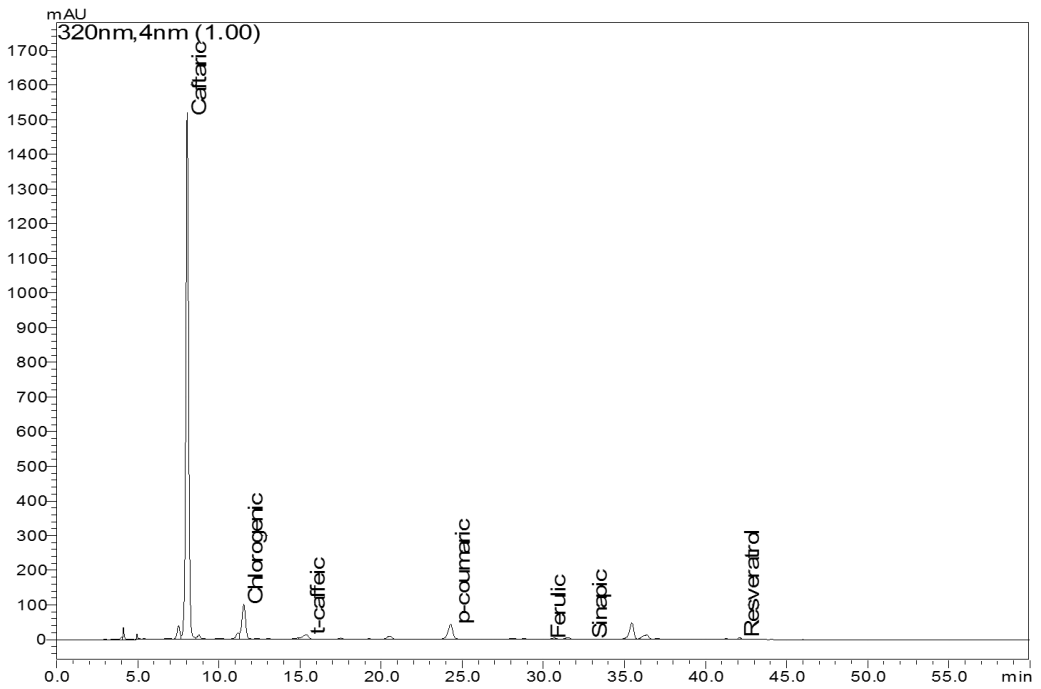
Şekil 5.30 K1 üzüm numunesinin 320 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları



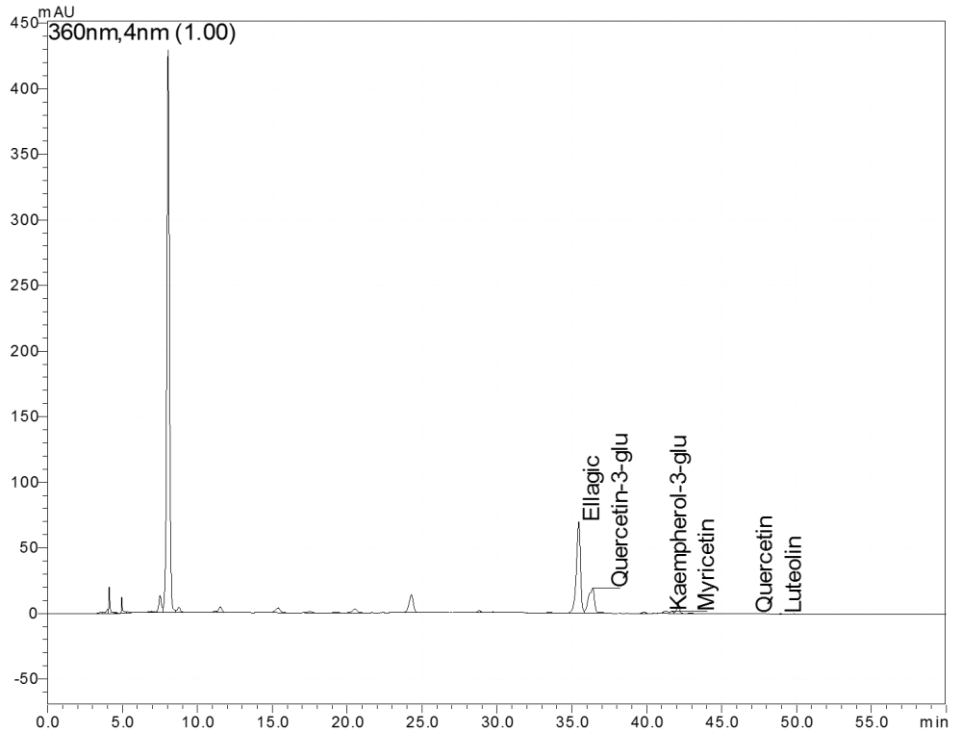
Şekil 5.31 K1 üzüm numunesinin 360 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları



Şekil 5.32 T1 üzüm numunesinin 280 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları



Şekil 5.33 T1 üzüm numunesinin 320 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları



Şekil 5.34 T1 üzüm numunesinin 360 nm dalgaboyundaki polifenol kromatogramları

6. SONUÇ VE TARTIŞMA

Üzüm örneklerindeki polifenol içeriklerinin tayininde en önemli problemlerden biri; meyvenin % 80 oranını oluşturan suyun oluşturduğu nem içeriğidir. Çünkü özellikle ekstraksiyon işlemi için kullanılan hızlandırılmış basınçlı sıvı ekstraksiyon kaplarına en fazla 1 g örnek alınabilmektedir. Yaş örnekler ile çalışıldığında % 80 su içeriği olan numunenin polifenol içeriklerinin tayin edilmesinde problemler oluşturacaktır. Bu nedenle örnekler liyofilize edilerek kurutulmuş ve nemin büyük bir oranı uzaklaştırılmıştır. Farklı üzüm örneklerinin nem içerikleri Çizelge 5.1'de verilmiştir. Bütün hesaplamalar bu nem içerikleri dikkate alınarak yapılmıştır. Yani tartılan madde miktarından nem içerikleri çıkarıldıktan sonra, kalan kuru ağırlık üzerinden hesaplamalar yapılmıştır.

Farklı örnek alma dönemlerinde toplanmış üzüm örnekleri için optimum ekstraksiyon koşulları uygulandıktan sonra her örnek alma dönemindeki örnek ekstraktlarındaki her bir polifenolün analizi HPLC ile yapılmıştır. Üzümlerden, metanol:su:HCl çözgen karışımıyla yapılan ekstraksiyon ile polifenol içeriğinin en fazla geçtiği çözgen karışımı olduğu tespit edilmiştir. Her çeşit ve her çeşitin 7 farklı örnek alma dönemi için elde edilen ekstraktlardaki polifenol içeriği en fazla mercimek büyüklüğündeki ilk örnek alma dönemindeki örneklerde tespit edilmiştir. Her iki üzüm çeşiti için tüm örnek alma dönemindeki örnekler için polifenol içeriklerinin değişimi Çizelge 5.2-5.4'de verilmiştir.

Tahannebi üzüm çeşiti için; THN-1, THN-2 ve THN-3 örnek alma dönemlerindeki örnekler oldukça yüksek ve birbirine yakın olduğu görünse de en yüksek DPPH radikal süpürme kapasitesi Tahannebi çeşiti için THN-3 örnek alma döneminde alınmış örneklerde gözlenmiştir. Kureyş çeşiti için ise en yüksek KRŞ-1 olduğu görülmektedir. KRŞ üzüm çeşiti için elde edilen DPPH radikal süpürücü kapasitesi değerlerden özellikle KRŞ-1 - KRŞ-5 örnek alma dönemlerinde alınan Kureyş üzüm çeşitlerin, THN-1 – THN-5 arasındaki Tahannebi çeşitine göre yaklaşık 3 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Her iki üzüm çeşiti için de 7. örnek alma döneminde toplanmış örneklerden Tahannebi çeşitindeki THN-7: 1.76 ± 0.40 ve Kureyş çeşitindeki KRŞ-7 için 1.01 ± 0.15 mg trolox/g kuru madde olarak en düşük DPPH radikal süpürme gücü değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 5.1, Şekil 5.1-5.2). Olgunlaşana kadar KRŞ çeşiti yüksek bir radikal süpürücü etkisi olduğu ancak, olgunlaşmanın başladığı ve insanların üzümleri tükettiği dönem olan KRŞ6-KRŞ7

örneklerinde elde edilen değerler aynı dönem THN çeşitinin THN6-THN7 örneklerinin radikal süpürücü özelliğinin yarı değerlerine kadar azalmıştır. Bütün bu veriler ışığında Tahannebi üzüm çeşitinin ilk hasat döneminden olgun olana kadar geçen sürede DPPH radikal süpürücü etki gösteren özelliği %71.6 oranında azalma gösterirken, KRŞ üzüm çeşiti için bu oran %94 olduğu tespit edilmiştir.

V. Katalinic ve ark.,14 farklı üzüm çeşidinde ve bu üzümlerin kabuklarında yapmış oldukları çalışmada elde ettikleri bulgulara göre; DPPH radikal süpürücü düzeyleri tüm örnekler için ortalama 875 mg GAE(gallik asit eşdeğeri) /kg yaş ağırlık olarak tespit edilmiştir[163].

Dalene ve ark.,çalışmalarında da bazı üzüm çeşitlerinden; Chenin Blanc 0.544 ± 0.200 , Colombard 0.532 ± 0.191 , Sauvignon Blanc 0.631 ± 0.171 , Chardonnay 0.719 ± 0.096 mg GAE /g şeklinde elde edilen sonuçlar çalışma bulgularımız ile uyum içinde olduğu tespit edilmiştir[164].

Üzüm meyve örneklerinde her bir çeşit için kendi içinde indirgeme gücü sonuçları DPPH radikal süpürücü değerleri ile paralellik göstermiştir. Kureyş üzüm çeşidinin Tahannebi çeşidine göre indirgeme gücü değerleri bazı örnek alma dönemlerinde farklıklar gösterse de genelde daha yüksek bir indirgeme gücü olduğu tespit edilmiştir.

Tahannebi üzüm çeşiti için indirgeme gücü değerleri; THN-1, THN-2 ve THN-3 örnek alma dönemlerindeki örnekler oldukça yüksek ve birbirine yakın olduğu görünse de en fazla Tahannebi çeşiti için THN-3 örnek alma döneminde alınmış örneklerde gözlenmiştir. Kureyş üzüm çeşiti için ise en yüksek KRŞ-1 olduğu görülmekte olup, diğer örnek alma dönemleri olan KRŞ-2, KRŞ-3 ve KRŞ-4 örnek alma dönemlerinde elde edilen indirgeme gücü değerleri Tahannebi üzüm çeşitinin olgun dönemleri hariç diğer tüm örnek alma dönemlerinden yaklaşık 3-4 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir.Üzümlerin yoğun olarak tüketildiği dönem olan 6. Ve 7. örnek alma dönemlerindeki olgun örneklerde her iki çeşit için de indirgeme gücü değerleri yakın tespit edilmiştir.

Üzüm çeşitlerinin; ilkörnek alma döneminden olgun olana kadar geçen sürede indirgeme gücü özelliği Tahannebi çeşitinde %85 oranında azalma gösterirken, KRŞ çeşiti için bu oran %96 olduğu tespit edilmiştir.

Üzüm örneklerinde her bir çeşit için kendi içinde her bir örnek alma dönem için toplam fenolik madde içerikleri; indirgeme gücü sonuçları ve DPPH radikal süpürücü değerleri ile oldukça paralellikler göstermiştir. Kureyş çeşitinin, tahannebi çeşitine göre

toplam fenolik madde değerleri genelde daha yüksek bir toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tahannebi eşitini için toplam fenolik madde düzeyleri; THN-1, THN-2 ve THN-3 rnek alma dönemlerindeki örnekler oldukça yüksek ve birbirine yakın olduğu görünse de en fazla Tahannebi eşiti için THN-3 rnek alma döneminde alınmış örneklerde gözlenmiştir. Kureyş eşitini için ise en yüksek KRş-1 olduğu görülmektedir. KRş-1, KRş-2, KRş-3 ve KRş-4 rnek alma dönemlerinde elde edilen toplam fenolik madde değerleri Tahannebi çeşitinin tüm örnek alma dönemlerinden yaklaşık 2-3 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Her iki çeşitinin en olgun döneminde (KRş6-KRş7 ve THN6-THN7) toplam fenolik madde içeriklerinin benzer olduğu gözlemlenmiştir.

Tahannebi çeşitinin ilk örnek alma döneminden olgun olana kadar geçen sürede toplam fenolik madde içeriği özelliği %88 oranında azalma gösterirken, KRş eşitini için bu oran %95.9 olduğu tespit edilmiştir.

Doshi Ve Navarro'nun yapmış oldukları çalışmalarda, toplam fenolik miktarı tüm üzüm çeşitlerinde erken olgunluk zamanlarında daha yüksek, olgunluğa olgunlaşmayaklaşıka azalan bir durum göstermiştir. Toplam fenoliklerin yıl ve çeşide göre değiştiği ve olgunlaşma döneminde azaldığı farklı araştırmalarda da saptanmıştır[153,165].

Orak yapmış olduğu çalışmada, Tekirdağ'da yetiştirilen 16 üzüm çeşidinde antioksidan aktivitesi, toplam fenolik bileşik miktarı, antosiyanin, kabuk rengi, polifenoloksidaz aktivitesi seker ve asit miktarlarını saptamıştır. En düşük antioksidan aktivitesi Tekirdağ ekirdeksiz çeşidinde (% 87.58), en yüksek Mourvedre eşidinde (% 93.78); toplam fenolik içeriği aynı çeşitlerde sırası ile 817 ile 3062 µg/ml GAE arasında değişmiştir [16].

Özden ve Vardinyapmış olduğu çalışmada, Sanlıurfa kosullarında yetiştirilen bazı üzüm çeşitlerinin toplam antioksidan aktiviteleri ve bazı fitokimyasal özellikleri konusunda yapılan çalışmada, Merlot, Chardonnay, Cabernet Sauvignon ve Siraz (V. vinifera L.) zm eşitlerinin TA içerikleri sırasıyla 1144.9; 39.48; 723.3, ve 1011.6 mg/kg olarak bulunmuştur. Çeşitlerin toplam fenolik (TP) konsantrasyonları 1805 mg/kg ve 3170 mg/kg arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir[160].

Violeta Ivanova ve ark., yapmış olduğu çalışmada bazı üzüm çeşitlerinde toplam fenolik madde içerikleri incelenmiş ve üzüm pulp örneklerinden; Vranec $2.58 \pm$

0.14, Cabernet Sauvignon 1.65 ± 0.11 , Muscat Hamburg 1.14 ± 0.16 , Riesling 1.06 ± 0.12 mg gallik asit/g kuru madde olarak bulunmuştur[166].

Violeta Ivanova ve ark., diğer çalışmalarında ise, Smederevka (white) 1.46 ± 0.02 , Chardonnay (white) 1.92 ± 0.014 üzüm örneklerindeki toplam fenolik madde içerikleri elde ettiğimiz sonuçlarla uyushmaktadır[167].

Gallik asit içeriği; birinci örnek alma döneminde analiz edilen hem Tahannebi hem de Kureyş çeşitlerinde en yüksek konsantrasyonda bulunmuş ve sırasıyla 17.88 ± 0.49 ve 18.84 ± 0.87 mg/kg kuru madde konsantrasyonları elde edilmiştir. En düşük konsantrasyon değerleri ise en son örnek alma dönemi olan olgun meyveler olup konsantrasyonları sırasıyla 0.84 ± 0.07 ; 1.17 ± 0.07 mg/kg kuru madde tespit edilmiştir. (Şekil 5.7)

Protokateşik asit içeriği Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 8.4 ± 0.13 mg/kg kuru madde iken 3. örnek alma döneminde bu konsantrasyon artmakta olup değeri 25.05 ± 1.26 olmuştur. Ancak 5. örnek alma döneminden sonra bu polifenol izlenememiştir. Kureyş çeşitinde ise ilk iki örnek alma döneminde sırasıyla 15.42 ± 1.13 ; 8.84 ± 0.23 mg/kg kuru madde değerleri ölçülürken sonraki örnek alma dönemlerinde bu polifenol içeriği tespit edilememiştir. (Şekil 5.8)

4-Hidroksi benzoik asit içeriği değerlendirildiğinde; Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 63.03 ± 1.01 mg/kg kuru madde iken, 7. örnek alma döneminde bu konsantrasyon azalmakta olup değeri 8.62 ± 0.75 tespit edilmiştir. Kureyş çeşitinde ise Tahannebi çeşitine göre ilk iki örnek alma dönemindeki konsantrasyonlardan çok yüksek bulunmuş ve değerleri sırasıyla 161.96 ± 11.48 ve 94.42 ± 2.83 mg/kg kuru madde olurken, en düşük konsantrasyon olan 7. örnek alma dönemindeki ekstraktlarda değeri 8.62 ± 0.75 mg/kg kuru madde ölçülmüş ve her iki üzüm çeşitinin olgun dönemdeki konsantrasyonları çok yakın değerler olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 5.9)

Neoklorogenik asit içeriği Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 25.04 ± 0.49 mg/kg kuru madde iken 4. örnek alma döneminde bu konsantrasyon azalmakta olup değeri 14.15 ± 2.15 tespit edilmiştir. Ancak 4. örnek alma döneminden sonra bu polifenol izlenememiştir. Kureyş çeşitinde ise konsantrasyon ilk iki örnek alma döneminde çok yüksek bulunmuş ve değeri 92.74 ± 5.33 mg/kg kuru madde olurken, en düşük konsantrasyon olan 6. örnek alma ekstraktlarındaki değeri ise 0.7 ± 0.03 mg/kg kuru madde ölçülürken sonraki örnek alma

dönemi olan 7. örnek alma döneminde bu polifenol içeriği tespit edilememiştir.(Şekil 5.10)

Kateşin içeriği değerlendirildiğinde ise; Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 139.08 ± 8.70 mg/kg kuru madde iken, 7. örnek alma döneminde bu konsantrasyon azalmakta olup değeri 5.25 ± 0.05 tespit edilmiştir. Kureyş çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 149.68 ± 3.34 iken bu üzüm çeşitinin Tahannebi çeşitine göre son dört örnek alma dönemleri benzerlik göstermiştir. Ancak tahannebi çeşitin 2. ve 3. örnek alma dönemindeki konsantrasyonları çok yüksek bulunmuş olup sırasıyla 124.14 ± 3.16 ve 105.02 ± 2.28 mg/kg kuru madde konsantrasyonları tespit edilmiştir. Her iki çeşit için de ilk örnek alma döneminden son örnek alma dönemine kadar çok önemli azalmaların olduğu tespit edilmiştir.(Şekil 5.11)

Vanilik asit içeriği; Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu oldukça düşük çıkmış ve 0.45 ± 0.06 mg/kg kuru madde iken 3. örnek alma döneminde bu konsantrasyon artmakta olup değeri 8.45 ± 0.19 olmuştur. Ancak 3. örnek alma sonra ekstraktlarda bu polifenol izlenememiştir. Kureyş çeşitinde ise ilk iki örnek alma döneminde tahannebi çeşitine göre konsantrasyonu fazla olduğu tespit edilmiş ve sırasıyla 16.75 ± 1.47 ; 7.6 ± 0.06 mg/kg kuru maddedeğerleri ölçülürken bu çeşit için de sonraki örnek alma dönemlerinde bu polifenol içeriği tespit edilememiştir.(Şekil 5.12)

Prosyanidin-B2 içeriği değerlendirildiğinde ise; Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 13.35 ± 0.65 mg/kg kuru madde iken, 4. örnek alma döneminde bu konsantrasyon istatistiksel olarak çok fazla değişmeyip değeri 14.24 ± 0.85 olarak tespit edilmiştir. Ancak 4. örnek alma sonra bu polifenol içeriği ekstraktlarda tespit edilememiştir. Kureyş çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 12.98 ± 0.90 mg/kg kuru madde iken bu üzüm çeşitinin Tahannebi çeşitine göre çok farklı içeriklere sahip olduğu görülmüştür. Bu üzüm çeşitinde olgun dönemde elde edilen ekstraktlarda da prosyanidin-B2 tespit edilmiştir. Kureyş üzüm çeşitinin 2. örnek alma dönemindeki konsantrasyonunda 1. örnek alma dönemine göre % 44 gibi bir azalma görülürken bu değer son hasat dönemindeki 2.1 ± 0.14 değeriyle %83 gibi bir azalmayla sonuçlandığı tespit edilmiştir.(Şekil 5.13)

Şiringik asit içeriği; Tahannebi çeşiti için 1. ve 2. örnek alma dönemlerindeki konsantrasyonları oldukça düşük çıkmış ve sırasıyla 3.06 ± 0.04 ;

2.38±0.15mg/kg kuru madde iken 2.örnek alma sonra ekstraktlarda bu polifenol izlenememiştir. Kureyş çeşitinde ise ilk dörtörnek alma döneminde tahananbi çeşitine göre konsantrasyonu fazla olduğu tespit edilmiş ve sırasıyla 20.52±1.79; 9,05±0.57; 6.87±0.08 ve 5.19±0.01mg/kg kuru maddedeğerleri ölçülürken bu çeşit için de 6. ve 7.örnek alma dönemlerinde bu polifenol içeriği tespit edilememiştir.(Şekil 5.14)

Epikateşin içeriği değerlendirildiğinde ise; Tahananbi üzüm çeşiti için birinci hasat dönemindekikonsantrasyonu55.45±1.41mg/kg kuru maddeiken, 4. Hasat döneminde bu konsantrasyon azalmış olup değeri 10.29±0.50olarak tespit edilmiştir. Ancak, 4. Hasattan sonra bu polifenol içeriği ekstraktlarda tespit edilememiştir. Kureyş üzüm çeşiti için birinci hasat dönemindekikonsantrasyonu28.69±0.92iken bu üzüm çeşitinin Tahananbi çeşitine yaklaşık yarısı kadar bir konsantrasyona sahip olduğu görülmüştür. 4. Hasat döneminde bu konsantrasyon azalmış olup değeri 8.75±0.32 mg/kg kuru maddeolarak tespit edilmiştir. Bu üzüm çeşitinde de tahananbi çeşitinde olduğu gibi 4. Hasattan sonra bu polifenol içeriği ekstraktlarda tespit edilememiştir.(Şekil 5.15)

Epikateşin galat içeriği değerlendirildiğinde ise; Tahananbi çeşiti için birinci ve üçüncü örnek alma dönemlerindeki konsantrasyonları sırasıyla;41.10±0.15 29.67±0.86;30,78±0,25mg/kg kuru maddeiken, ancak, 3. örnek alma sonra bu polifenol içeriği ekstraktlarda tespit edilememiştir. Kureyş eşiti için birinci örnek alma dönemindekikonsantrasyonu89.64 ±0.83iken bu üzüm çeşitinin Tahananbi çeşitininaynı dönem örneklerindeki içeriğin yaklaşık 2-3 katı kadar bir konsantrasyona sahip olduğu görülmüştür. 4. örnek alma döneminde bu konsantrasyonoldukça azalmış olup değeri 2.6±0.09mg/kg kuru maddeolarak tespit edilmiştir. Bu üzüm çeşitinde de 4.örnek alma sonra bu polifenol içeriği ekstraktlarda tespit edilememiştir.(Şekil 5.16)

Kaftarik asit içeriği incelendiğinde, her iki çeşit için de tayini yapılan tüm polifenoller arasında en yüksek konsantrasyona sahip olduğu tespit edilmiştir. Tahananbi çeşiti için birinci örnek alma dönemindekikonsantrasyonu 1196.08±25.12mg/kg kuru maddeiken 7.örnek alma döneminde bu konsantrasyon azalmakta olup değeri 9.82±0.45 olarak tespit edilmiştir. Tüm örnek alma dönemlerindeki ekstraktlarda bu polifenol tespit edilmiştir. Kureyş çeşitinde ise konsntrasyon ilk üç örnek alma döneminde çok yüksek bulunmuş ve değerleri sırasıyla; 2839.96±22.12; 2400.86±6.69 ve 1285.62±1.23mg/kg kuru maddeolurken, en düşük

konsantrasyon olan 7. örnek alma ekstraktındaki değeri ise 31.84 ± 0.42 olarak tespit edilmiştir.(Şekil 5.17)

Klorogenik asit içeriği incelendiğinde ise, Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 18.32 ± 0.63 mg/kg kuru madde iken 3. örnek alma döneminde bu konsantrasyon artmakta olup değeri 44.64 ± 3.44 olmuştur. Ancak 4. örnek alma sonra ekstraktlarda bu polifenol izlenememiştir. Kureyş çeşitinde ise konsantrasyon ilk üç örnek alma döneminde çok yüksek bulunmuş ve değerleri sırasıyla; 1971.60 ± 57.08 ; 1269.84 ± 16.97 ve 468.81 ± 5.54 mg/kg kuru madde olurken, en düşük konsantrasyon olan 6. örnek alma ekstraktındaki değeri ise 15.23 ± 2.08 mg/kg kuru madde olarak tespit edilmiştir. Bu üzüm çeşitinin son örnek alma dönemindeki ekstrakta klorogenik asit tespit edilememiştir. (Şekil 5.18)

Kafeik asit içeriği incelendiğinde; Tahannebi çeşiti ekstraktlarında sadece THN3 örnek alma döneminde kafeik asit tespit edilmiştir. Kureyş çeşiti için ise birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 3.92 ± 0.49 mg/kg kuru madde iken sonraki örnek alma dönemlerinde azalan kafeik asit konsantrasyonu, 4. örnek alma döneminde bu değer 1.04 ± 0.08 olarak tespit edilmiştir. Bu üzüm çeşitinde de ekstraktlarda 4. örnek alma döneminden sonra bu polifenol içeriği tespit edilememiştir.(Şekil 5.19)

p-koumarik asit içeriği incelendiğinde; her iki çeşit için de tüm örnek alma dönemlerindeki ekstraktlarda bu polifenol tespit edilmiştir. Her iki çeşitin tüm örnek alma dönemlerinde yakın değerler tespit edilmiştir. Buna göre Tahannebi çeşitinin ilk örnek alma döneminde 7.42 ± 0.04 mg/kg kuru madde olarak tayin edilirken, diğer örnek alma dönemlerinden 2. örnek alma 3.62 ± 0.29 iken 7. örnek alma döneminde ise 3.45 ± 0.09 olduğu ve bu örnek alma dönemlerinde çok fazla bir azalma olmamıştır. Kureyş çeşitinin 1. örnek alma değeri 4.53 ± 0.45 mg/kg kuru madde iken son örnek alma bu değer 3.38 ± 0.01 ölçülmüştür.(Şekil 5.20)

Ellagik asit içeriği Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindeki konsantrasyonu 9.58 ± 0.22 mg/kg kuru madde iken 3. örnek alma döneminde bu konsantrasyon artmakta olup değeri 25.08 ± 1.39 olmuştur. Ancak 7. örnek alma bu polifenol konsantrasyonu 2.44 ± 0.09 olarak izlenmiştir. Kureyş çeşitinde ise ilk 4 örnek alma döneminde sırasıyla 1.32 ± 0.1 ; 1.24 ± 0.05 ; 1.1 ± 0.07 ve 1.07 ± 0.01 mg/kg kuru maddede değerleri ölçülürken sonraki örnek alma dönemlerinde bu polifenol içeriği tespit edilememiştir.(Şekil 5.21)

Ekstraktların rutin içeriği incelendiğinde; her iki çeşit için de tüm örnek alma dönemlerindeki ekstraktlarda bu polifenol tespit edilmiştir. Tahannebi çeşiti için birinci

örnek alma dönemindekikonsantrasyonu 13.94 ± 0.54 mg/kg kuru maddeiken 2. örnek alma döneminde bu konsantrasyon artmakta olup değeri 19.70 ± 0.17 olmuştur. Ancak 4. örnek alma sonra bu polifenol konsatrasyonlarında azalma yönelimi izlenmiştir. En düşük konsantrasyon olan 7. örnek alma dönemindeki ekstraktlarda değeri 1.98 ± 0.05 olduğu tespit edilmiştir. Kureyş çeşitinde ise ilk 5 örnek alma döneminde çok yüksek bulunmuş ve değerleri sırasıyla 125.6 ± 5.76 ; 90.39 ± 0.35 ; 66.29 ± 0.13 ; 37.13 ± 2.81 ve 27.49 ± 0.94 mg/kg kuru maddeolurken, en düşük konsantrasyon olan 7. örnek alma dönemindeki ekstraktlarda değeri 6.51 ± 0.21 olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 5.22)

Myrisetin içeriği değerlendirildiğinde ise; Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindekikonsantrasyonu ölçülememişken; ikinci örnek alma dönemindeki ekstraktta 1.20 ± 0.27 mg/kg kuru maddeiken, 4. örnek alma döneminde bu konsantrasyon artmış olup değeri 4.44 ± 0.39 olarak tespit edilmiştir. Ancak, 4. örnek alma sonra bu polifenol içeriği ekstraktlarda tespit edilememiştir. Kureyş çeşitinde ise ilk örnek alma döneminde en yüksek değer bulunmuş ve bu değer 11.89 ± 0.80 mg/kg kuru maddeokunurken, en düşük konsantrasyon olan 7. örnek alma dönemindeki ekstraktlardaki değeri 0.51 ± 0.06 olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 5.23)

Ekstraktların naringin içeriği incelendiğinde; her iki çeşit için de tüm örnek alma dönemlerindeki ekstraktlarda bu polifenol tespit edilmiştir. Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindekikonsantrasyonu 7.98 ± 0.38 mg/kg kuru maddeiken 3. örnek alma döneminde bu konsantrasyon artmakta olup değeri 23.57 ± 0.59 olmuştur. Ancak 4. örnek alma döneminden sonra bu polifenol konsatrasyonlarında azalma tespit edilmiştir. En düşük konsantrasyon olan 7. örnek alma dönemindeki ekstraktlarda değeri 2.91 ± 0.07 mg/kg kuru madde olduğu tespit edilmiştir. Kureyş çeşitinde ise ilk 2 örnek alma döneminden naringin içeriği çok yüksek bulunmuş ve değerleri sırasıyla 39.24 ± 0.23 ; 17.05 ± 0.01 mg/kg kuru madde olduğu tespit edilmiştir. En düşük konsantrasyon olan 7. örnek alma dönemindeki ekstraktlarda değeri 4.16 ± 0.04 olduğu tespit edilmiştir. Olgun dönemi olan 7. örnek alma örneklerinden kureyş üzümlerinin naringin içeriği Tahannebi çeşitine göre yaklaşık 2 katı kadar fazla olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 5.24)

Ekstraktların epigallo kateşin gallat içeriği incelendiğinde; her iki çeşit için de tüm örnek alma dönemlerindeki ekstraktlarda bu polifenol tespit edilmiştir. Tahannebi çeşiti için birinci örnek alma dönemindekikonsantrasyonu 9.76 ± 0.34 mg/kg kuru maddeiken 2. örnek alma döneminde bu konsantrasyon artmakta olup değeri 36.29 ± 2.00 olmuştur. Ancak 4. örnek almadan sonra konsatrasyonda azalma

izlenmiştir. En düşük konsantrasyon olan 7. örnek alma dönemindeki ekstraktlarda değeri 2.64 ± 0.29 mg/kg kuru madde olduğu tespit edilmiştir. Kureyş çeşitinde ise ilk 3 örnek alma dönemindeki değerleri sırasıyla 16.62 ± 0.99 ; 10.32 ± 0.23 ; 8.08 ± 0.04 mg/kg kuru madde olurken, en düşük konsantrasyon olan 7. örnek alma dönemindeki ekstraktlarda değeri 2.46 ± 0.21 olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 5.25)

Üzümlerde hasata doğru fenoliklerin azalması farklı şekillerde açıklanabilir. İlki erken olgunlaşma dönemlerinde meyvelerde yeralan yüksek tanen miktarıdır. Tanen direk olarak toplam fenolik miktarına etki etmektedir. İlk meyve tutma aşamasında bitkide var olan bazı maddelerin hasata doğru, miktarının azalarak başka maddelere (şeker, aroma maddeleri, enzim, pektik madde, organik asit vb.) dönüşmesi söz konusu olabilir. Ayrıca üzümün genetik yapısından kaynaklanan sebeple, yeşil büyüme evresinde çevresel risklere karşı kendini savunma mekanizması daha güçlü olup fenolik madde miktarı daha fazla iken; olgunlaşma aşamasında fenolik bileşiklerin miktarının azalmasının mümkün olduğu düşünülmektedir. Toplam fenolik madde içerikleri ve her bir polifenolün kantitatif tayini şeklinde yapılan çalışmaların hepsinde, olgun olmayan örneklerdeki polifenol içeriklerinin yüksek olduğu ve meyvelerin olgunlaşmalarına doğru bariz bir azalma olduğu belirlenmiştir [168-172].

Bu çalışmada, son yıllarda fitokimyasal içeriği ile ilgili yapılan laboratuvar ve klinik çalışmaları ile insan sağlığı açısından önemini vurgulanan üzüm meyvesinin, Malatya ilimizde yaygın olarak üretilen Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin çiçeklenmeden hasat zamanına kadar olgunlaşma safhasındaki fitokimyasal bileşiklerinin değişimi incelenmiştir. Üzüm çeşitlerinin olgunlaşma safhasındaki toplam fenolik madde içerikleri, radikal süpürücü düzeyleri, indirgeme gücü kapasiteleri spektrofotometrik yöntemle ve bireysel fenolik madde içerikleri değişimi ise sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlenerek literatüre kazandırılmıştır.

Elde edilen bulgular ve sonuçları değerlendirildiğinde;

- Her iki üzüm çeşiti içinde ilk meyve tutma aşamasından hasata doğru fenoliklerde ortalama %92 oranında bir azalma görülmüştür. (Tahannebi %88, Kureyş %96)
- Sağlıklı bir yaşam için insan diyetinde vazgeçilmez bir meyve olan üzüm, farmakolojik açıdan değerlendirildiğinde; güçlü antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşiklerin, ilk meyve tutma aşamasında (yeşil büyüme evresi) daha

yüksek seviyelerde olmasından dolayı bu evredeki meyvelerden yararlanılması daha çok verim alınmasını sağlayacaktır.

- Malatya ilimizde yaygın olarak yetiştirilen Kureyş ve Tahannebi çeşitlerinin olgunlaşmış meyvelerinin hazır tüketilmesi ve üzümde elde edilen geleneksel ürünlere ek olarak üzümün tam olgunlaşmadan farmakolojik olarak ilaçendüstrisine kazandırılması; ilimiz çiftçilerine ekonomik olarak da katkılar sağlayacağı açıktır.

7. KAYNAKLAR

- [1]Fidan Y, Yavaş. (1986). Üzümün insan beslenmesindeki değeri (pp:225-235). *Gıda Sanayinin Sorunları ve Serbest Bölgenin Gıda Sanayine Etkileri Sempozyumu Bildiriler*, Adana
- [2]Mateus N., Machado J.M., Freitas V., (2002). Development changes of anthocyaninsin *Vitis vinifera* grapes grown in the Douro Valley and concentration in respective wines, *Journal of the Science of Food and Agric.*, 82: pp.1689-1695.
- [3]Eriş, A., Türkben, C. (1984). Sofralık Üzümlerin Olgunluk Zamanıve Muhafazası (pp:181-200). *Tokat BağcılığıSempozyumu* (25-28 Eylül, 1984), Tekel İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Cumhuriyet Üniversitesi Tokat Ziraat Fakültesi, Tokat.
- [4]Davis PH. (1997). Flora of Turkey and East Aegean Islands (pp: 521-522). Vol 2. *Edinburgh University Press*. Edinburgh
- [5]Özşahin, A.D. (2010). *Malatya yöresine ait bazı üzüm ve kayısı çeşitlerinin fitokimyasal içeriklerine bağlı olarak antioksidan özelliklerinin araştırılması*.Doktora tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- [6]www.arastirma.tarim.gov.tr
- [7]Considine, D. M. ve Considine, G. D. (1982). *Foods and Foods Production Encyclopedia*, Van Nostrand Reinhold Co. Inc, USA.
- [8]Keskin, H.,(1981). *Besin Kimyası*, T.C. İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 2888, Kimya Fak. No: 47, Cilt: I, Fatih Yayınevi Matbaası, İstanbul.
- [9]Cabaroğlu T.,Yılmaztekin M. (2006). *Üzümün bileşimi ve insan sağlığı açısından önemi*. Buldan Sempozyumu. 24-26 Kasım 2006, Denizli
- [10]Fuleki, T., Pelayo, E. ve Palabay, R. (1993). Carboxylic acid composition of authentic varietal and commercial grape juices, *Journal of AOAC International*. 76, 591-600p.
- [11]Anlı, E.R.,(2001). Bazı Türk kırmızı şaraplarının amino asit içerikleri, *Gıda*, 26 (3): 179-187.
- [12]Göktürk Baydar N., Babalık Z., Hallaç Türk F., Çetin E.S., (2011). Phenolic Composition And Antioxidant Activities Of Wines And Extracts Of Some Grape Varieties Grown İn Turkey. *Journal Of Agricultural Sciences*, 17, 67-76.
- [13]Kliewer, W.M. ve Lider L.A.,(1970). *Effect of day temperature and light intensity on growth and composition of Vitis vinifera L. fruits*,(pp:15-20)., Vol.

- 27, Composition of central Washington grapes during maturation. T., Jhonson ve C.W. Nagel (Eds), Am.J. Enol Viticult.
- [14] Karadeniz, F., Burdurlu, H.S., Kocan ,N., Soyder, Y., (2005). Antioxidant Activity of Selected Fruits and Vegetables Grown in Turkey (pp.297-303). Tübitak Turk J. Agric. For. 29:
- [15] Aras, Ö., (2006). *Üzüm Ve Üzüm Ürünlerinin Toplam Karbonhidrat, Protein, Mineral Madde Ve Fenolik Bileşik İçeriklerinin Belirlenmesi*. Yük. Lis. Tezi, Sdü · Fen Bil. Ens. Bahçe Bit. Anabilim Dalı, S, 67.
- [16] Orak, H.H., (2007). *Total Antioxidant Activities, Phenolics, Anthocyanins, Polyphenoloxidase Activities Of Selected Red Grape Cultivars And Their Correlations Scientia Hort.* (pp:235-241). Vol. 111, Issue 3, 5 February 2007.
- [17] Kelebek, H., (2009) *Değişik bölgelerde yetiştirilen Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik Karası üzümlerinin ve bu üzümlerden elde edilen şarapların fenol bileşikleri profili üzerinde araştırmalar*. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [18] Lardos A, Kreuter MH., (2000) *Red vine leaf* (pp. 1-7). In: Kreuter, M.H. (Ed.). *Phytopharm and Phytochem. Products*. Flachsmann AG., Zurich.
- [19] Baytop T., (1999). *Bitkiler ile tedavi* (pp: 357-358). 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.
- [20] Monagas M, Hernandez-Ledesma B, Gomez-Cordoves C et al (2006). Commercial dietary ingredients from *Vitis vinifera* L. leaves and grape skins: antioxidant and chemical characterization. *J Agric Food Chem* 54: 319-27.
- [21] Katalinic, V. Mozina, S.S. Skroza, D. Generalic, I. Abramovic, H. Milos, M. Ljubenkovic, I. Piskernik, S. Pezo, I. Terpin, P. And Boban, M., (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vites vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chem.*, 119(2), 715-723.
- [22] Caillet, S. Salmieri, S. and Lacroix, M., (2006). Evaluation of free radical scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method. *Food Chem.*, 95, 1-8.
- [23] Ghiselli, A. Nardini, M. Baldi, A. Scaccini, C., (1998). Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *J. of Agri. and Food Chem.*, 46, 361-367.

- [24]Singleton, V.L.,(1988). Wine phenol. Eds. Linskens, H.F. Modern methods of plant analysis (Vol. 4), Berlin
- [25]Thorngate, J.H. and Singleton, V.L.,(1997). Localization of procyanidins in grape seeds. *Amr. J. of Eno. And Viti.*,45, 259-262.
- [26]Cheynier, V. and Rigaud, J.,(1986). HPLC separation and characterization of flavonols in the skin of 14 *Vites vinifera* var. Cinsault. *Amr. J. of Eno. And Viti.*,37, 248-252.
- [27]Wulf, L.W. and Nagel, C.W.,(1980). Identification and changes of flavonoids in Merlot and Cabernet Sauvignon winws. *J. of Food Sci.*,45, 479-484.
- [28]Çelik, S.(1998). *Bağcılık*. Cilt 1. Anadolu matbaa Amb. San ve Tic. Ltd. Şti., Tekirdağ,26s
- [29]www.tuik.gov.tr (12.09.2014)
- [30]Winkler , A . J . , Cook , J . A . , Klieer , W. M. ve Lider, L .A., (1974). General Viticulture P. (p:633), Univ. of California. Pres, Berkeley.
- [31]Uluocak, E.,(2010). *Kazova (Tokat) yöresinde yetiştirilen bazı şaraplık üzüm çeşitlerinde olgunlaima sırasında meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler*. Gaziosmanpaşa Üniv. Yüksek Lisans Tezi, Tokat.
- [32]Toprak F.E.,(2011). *Ankara Ve Nevşehir İllerinde Yetiştirilen Kalecik Karası Üzüm Çeşidinin Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, 64s.
- [33]Kaplama, P., (2012). *Erzincan'da yetiştirilen üzüm çeşitlerinin antioksidan aktiviteleri antosiyanin profilleri ve bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, 87s.
- [34]Bayır A.,(2011). *Üzüm, dut ve mersinin fenolik bileşik içerikleri ile antiradikal aktiviteleri üzerine araştırmalar*, Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi, 167s.
- [35]. Winkler, A.J., Cook, J. A.,Kliwer, W.M. and Lider, A.(1997). *General Viticulture*. Univ. Calif. Press, Berkeley and Los Angeles, 710sp.
- [36]Canbaş. A.(2007). *Şarap Teknolojisi Ders Notları*. Çukurova Üniversitesi, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü, Adana.
- [37]Gok, V., Kayacıer, A., Tellı, R., (2006). Hayvansal ve Mikrobiyal Doğal Antioksidanlar, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 35-40.
- [38] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Methods Enzymol.* 186; 1-85.

- [39]Fang, Y.Z., Yang, Z., Wu, G., (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition, *Nutrition*, 18, 872-879.
- [40]Hallıwel, B., Aruoma, O.I., (1991). DNA damage by oxygen-derived species: its mechanisms and measurement in mammalian systems, *FEBS Lett*, 281(1-2), 9-19.
- [41]Prior, L.R., Cao, G., (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods, *Free Radical Biology & Medicine*, 27, 1173-1181.
- [42]Akkus, (1995).Serbest Radikaller veFizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları No 38, Sağlıkdzisi 5, Konya.
- [43]Gültekin F, Delibas N, Yasar S, Kılınç(2001).In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Arch. Toxicol.*, 75: 88-96.
- [44]Matés JM, (2000), Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153: 83-104.
- [45]Keskin, H., Erkmn, G., (1987).*Besin Kimyası*, Güryay Matbaacılık, Beşinci Basım, İstanbul.
- [46. Sies, H.,(1993), Review Strategies of antioxidant defense, *Eur. J. Biochem.*,215, 213-219 .
- [47]Machlin, L.J., Bendich, A., (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients, *Fasebj*, 1, 441-445.
- [48]Wang, H., Cao, G., Prior, R.L., (1996). Total Antioxidant Capacity of Fruits, *J. Agric. Food Chem.*,44, 701-705.
- [49]Ajila, C.M., Naidu, K.A., Bhat, S.G., Prasada Rao, U.J.S., (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract, *Food Chemistry*, 105, 982-988.
- [50]Richard A. Larson (1997). Naturally Occuring Antioxidants, Boca Raton, Lewis Publishers.
- [51]Fereidoo Shaihidi (1997). Natural Antioxidant: Chemistry, Health Effects and Applications, Champaign.
- [52]Gry, J., Black, L., Eriksen, F.D., Pilegaard, K., Plumb, J., Rhodes, M., Sheehan, D., Kieleyb, M., Kroon, P.A., (2007). EuroFIR-BASIS - a combined composition and biological activity database for bioactive compounds in plant-based foods, *Trends in Food Science & Technology*, 18, 434-444

- [53]Tekman, S., Oner, N., (1998). Genel biokimya dersleri, İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 3773, Eczacılık fakültesi, No: 67, Emek Matbaacılık, İstanbul.
- [54]Quiros, A. R.B., Costa, H.S., (2006). Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 97-111.
- [55]Pfander, H.,(1987).*Key to Carotenoids*, Birkhäuser Verlag, Basel.
- [56]Cadenas, E., Packer, L., (2002).*Handbook of Antioxidants*, Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.
- [57]Krinsky, N.I.,(1993). Actions of carotenoids in biological systems, *Annual Review of Nutrition*, 13, 561-587.
- [58]Sies, H., Stahl, W., (1995). Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants, *American Journal of Clinical Nutrition*, 62, 1315-1321
- [59]Palozza, P., Krinsky, N., (1992). Methods in Enzymology (Packer, L., ed.), Academic Press, New York, 213, 403-420.
- [60]Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, (2004). *Meyve ve sebzelerin bileşimi, Meyve Sebze İşleme Teknolojisi*, 1-174. In Ed. B. Cemeroğlu, Meyve Sebze İşleme Teknolojisi. 2. Baskı, Başkent Matbaacılık, Ankara
- [61]Çağlarırnak, N.Üzümsü Meyvelerde Polifenolik Bileşenlerin İnsan Sağlığı Yönünden Önemleri .Celal Bayar Üniversitesi, Saruhanlı Meslek Yüksek Okulu, Gıda Teknolojisi Programı, Saruhanlı MANİSA
- [62]Pazourek, J. Gajdosova, D. Spanila, M. Farkova, M. Novotna, K. and Havel. J., (2005). Analysis of polyphenols in wines: correlation between total polyphenolic content and antioxidant potential from photometric measurements prediction of cultivars and vintage from capillary zone electrophoresis fingerprints using artificial neural network. *J. of Chromatography A*,1081, 48-54.
- [63]Arts, I.C. and P.C. Hollman (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies (pp.317S-325). *Am J Clin Nutr.*
- [64]Lynnette, R.F.,(2001). Role of plant polyphenols in genomic stability. *Muta. Res.*,475, 89-111.
- [65]Sakihama, Y. Cohen, M.F. Grace, S.C. and Yamasaki, H.,(2002). Plant PhenolicAntioxidant and Prooxidant Activities: Phenolics-Induced Oxidative Damage Mediated by Metals in Plants. *Toxicol.*,177, 67-80.
- [66]Ünal, D.,(1999). Serbest radikaller. *Sendrom*, Mart:68-80.

- [67]Banci, L. Bertini, I. Cramaro, F. Del Conte, R. and Viezzoli, M.S.,(1998). The structural effects of dimerization. *Eur. J. of Biochem.*,269, 1905–1915.
- [68]Arakawa, H. Kanemitsu, M. Tajima, N. and Maeda, M.,(2002). Chemiluminescence Assay for Catechin Based on Generation of Hydrogen Peroxide in Basic Solution. *Analy. Chim. Acta*, 472, 75-82.
- [69]Wang, W. Heideman, L. Chung, C.S. Pelling, J.C. Koehler, K.J. and Birt, D.F.,(2000). Cell-cycle arrest at G2/M and growth inhibition by apigenin in human colon carcinoma cell lines, *Mol. Carcinog.*,28, 102–110.
- [70]Hertog, M.G. Feskens, E.J. Hollman, P.C. Katan, M.B. and Kromhout, D.,(1993).Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342, 1007-1011.
- [71]Heim, K.E. Tagliaferro, A.R. and Bobilya, D.J.,(2002). Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships. *J. of Nut. Biochem.*,13, 572-584.
- [72]Ahmad, S.,(1995). *Antioxidant Mechanisms of the Enzymes and Proteins* (pp.238-265). Oxidative stress and antioxidant defences in biology., Eds. S.Ahmad,Chapman and Hall, America.
- [73]Voinea, M. Georgescu, A. Manea, A. Dragomir, E. Manduteanu, I. Popov, D. and Simionescu, M.,(2004). Superoxide dismutase entrapped-liposomes restore the impaired endothelium-dependent relaxation of resistance arteries in experimental diabetes. *Eur. J. of Pharma.*,484, 111 – 118.
- [74]Benov, L. and Fridovich, I.,(1998). Growth in iron-enriched medium partially compensates *Escherichia coli* for the lack of manganese and iron superoxide dismutase, *The J. of Biolo. Chem.*,273, 10313-10316.
- [75]Fattman, C.L. Schaefer, L.M. and Oury, T.D.,(2003). Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology & Medic.*,35 (3), 236-256
- [76]Pace-Asciak, CR. Hahn, S.E. Diamandis, E.P. Soleas, G. and Goldberg, D.M.,(1995). The red wine phenolics *trans*-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. *Clin. Chim. Acta*, 235, 207-219.
- [77]Gorham, J. and Coughlan, S.J.,(1980). Inhibition of Photosynthesis by Stilbenoids, *Phytochem.*,19(10), 2059-2064

- [78]Moreau, R.A. Whitaker, B.D. and Hicks, K.B.,(2002). Phytosterols, phytostanols,and their conjugates in food: structural diversity, quantitative analysis, and healthpromoting uses. *Lipid Res.*,41, 457-500.
- [79]Liu, R.H.,(2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive andsynergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.*,78(Suppl), 517- 520.
- [80]Quilez, J. Garcia-Lorda, P. and Salas-Salvado, J.,(2003). Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions. *Clin. Nutr.*,22, 343-351
- [81]Bradford, P.G. and Awad, A.B.,(2007). Phytosterols as Anticancer Compounds. *Mol. Nutr. & Food Res.*,51 2, 161-170.
- [82]Cadenas, E., Packer, L., (2002).*Handbook of Antioxidants*, Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.
- [83]Abu-Amsha, R., Croft, K.D., Puddey, I.B., Proudfoot, J.M., Beilin, L.J., (1996). Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine, *Clinical Science*, 91, 449-458.
- [84]Heller, W., Forkmann, G., (1993). Biosynthesis of flavonoids, *The flavonoids: Advances in Research since 1986*, Chapman & Hall, London, 499-535.
- [85]Wallace, G., Fry, S.C., (1994). Phenolic components of the plant cell wall, *International Review of Cytology*, 151, 229-267.
- [86]Herrmann, K.,(1989). Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods, *Critical Review Food Science and Nutrition*, 28(4), 315-347.
- [87]Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20(7), 933-956
- [88]Ferreira, D., Slade, D., (2002). Oligomeric proanthocyanidins: naturally occurring O-heterocycles, *The Royal Society of Chemistry*, 19, 517-541.
- [89]Sochor J., Zitka O., (2010). Content ofPhenolic Compounds and Antioxidant Capacity in Fruits and Apricots Genotypes, *Moleculs*, 6285-6305
- [90]Ruiz A.,Hermosin-Gutierrez I., Mordones C.. Polyphenols and Antioxidant Activity of Calafate Fruits and Other Native Berries from Southern Chile.

- [91] Scalbert A., Manach C., Morand C., (2005). Dietary polyphenols and prevention of diseases (pp: 287-306). *Critical Rev. Food Sci.*
- [92] Erdoğan, S. (2008), *Çeşitli Kayısı Örneklerinde Bakır Spesiasyonu (Türlendirme)*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.
- [93] Silva B. M., Andrade P. B., Ferreres F., Domingues A. L., (2002). Phenolic profile of Quince fruit (pulp and peel)(pp: 50: 4615-4618), *J. Agric. Food Chem.*
- [94] Zavala F.A.Y., Wang S.Y., Wang C.Y., G.A.G (2004). Aguilar, Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit, *Lebensm.-Wissu.-Technol.*, 37: 687–695
- [95] Mirdehghan S. H., Rahemi M., (2007). Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*punica granatum L.*) fruit, *Scientia Horticulturae*, 111: 12-127.
- [96] Papagiannopoulos M., Wollseifen H. R., Mellenthin A., Haber B., (2004). Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (*Ceratonia siliqua L.*) and derived product by HPLC-UV-ESI/MS, *J. Agric. Food Chem.*, 52: 3784-3791.
- [97] Mısırlı A., Tanrısever A., Gülcan R., Determination of phenolic compounds of some almond cultigens. First International Congress on Almond. *Acta Horticultural*, N:373, 185-192.
- [98] Mısırlı A., Tanrısever A., Gülcan R., (1995). Determination of phenolic compounds of different organs and tissues in some apricot varieties. *Acta*, 384: 345-350.
- [99] Mangels A.R., Holden J.M., Beecher G.R., Forman M.R., Lanza E., (1993). Carotenoid content of fruits and vegetables: Evaluation of analytic data, *J. Am.Diet. Ass.*, 93: 284-296.
- [100] Imad Kanaze F., Gabrieli C., Kokkalou E., Georgarakis M., (2003). Simultaneous reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of diosmin, hesperidin and naringin in different citrus fruit juices and pharmaceutical formulations, *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 33: 243-249.
- [101] B. Cemeröglü, A. Yemenicioğlu, M. Özkan (2001). Meyve ve sebzelerin bileşimi soğukta depolanmaları, *Gıda Teknolojisi Derneği*, Ankara.
- [102] B. Cemeröglü, A. Yemenicioğlu, M. Özkan (2001). Meyve ve sebzelerin bileşimi, soğukta depolanmaları (pp:189-202). *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt 1, *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, Ankara.

- [103]Ames ,B.N., Shigena ,M. K. Hagen,T.M. (1993). Oxidants , Antioksidants And The Degenerative Diseases Of Aging The Proceeding Of The National Acedemy Of Sciences (U.S.A). 90 :7915 – 7922
- [104]Tomera, J.F.,(1999). Current Knowledge Of The Health Benefits And Disadvantages Of Wine Consumption. Trends İn Food Science Technology. 10, 129-138.,
- [105]Meral,R., Doğan, İ.S., (2006). Buğdayda Bulunan Antioksidan Maddeler. Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongresi, 7-8 Eylül 2006, Gaziantep
- [106]Singleton V.L.,(1982). Grape and wine phenolics: background and prospects. In: Webb, A.D. (ed.), Proceedings of Grape Wine Centennial Symposium University of California, Davis 215-222
- [107]Palomino O., Gomez-Serranillos M.P., Slowing K., Carretero E., Villar A., (2000). Studyof polyphenols in grape berries by reversed-phase highperfor mance liquid chromatography. Journal of Chromatography, A. 870: 449-451.
- [108]Landrault N, Poucheret P, Ravel P, Gasc, Cros G, Teissedre PL., (2001). Antioxidant capacities and phenolic l evels of French wines from different varieties and vintages. J Agr. Food Chem, 49: 3341-3348.
- [109]Spayd S.E., Tarara J.M., Mee D.L., (2002). Ferguson, J.C., Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. Am. J. Enol. Vitic., 53(3): pp.171-182
- [110]Babalık Z., Çetin S., Hallaç Türk F., Göktürk Baydar N., (2009). Çavuş üzüm çeşidinde fenolik bileşiklerin farklı terbiye sistemlerine göre değişimlerinin belirlenmesi. VII. *Bağcılık ve Teknolojileri Sempozyumu*, 5-9 Ekim, Manisa.
- [111]Cangi R., Saraçoğlu O., Uluocak E., Kılıç D., Şen A., (2011). Kazova (Tokat) Yöresinde Yetiştirilen Bazı Şaraplık Üzüm Çeşitlerinde Olgunlaşma Sırasında Meydana Gelen Kimyasal Değişmeler. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.*, 1(3): 9-14.
- [112]Revilla I., Luisa M., Gonzalez-Sanjoze L., (2001). Evolution during the storage of red wines treated with pectolytic enzymes: New Anthocyanin Pigment Formation, Journal of Wine Research, 12 (3): pp.183-197.
- [113]Üstün D., (2011).*Modifiye atmosferde paketleme ve etanol buharı uygulamalarının soğukta muhafaza sırasında red globe üzüm çeşidinin kimyasal*

bileşimine ve antioksidan kapasitesine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi,

- [114] Morris J.R., Cawthon D.L., (1982). Effect of irrigation, fruit load, and potassium fertilization on yield, quality, and petiole analysis of concord (*Vitis vinifera* L) grapes, *American Journal of Enology and Viticulture*, 33: 145-148
- [115] De La Hera Orts M.L., Martinez-Cutillas A., Lopez-Roca J.M., Gomez-Plaza E., (2005). Effect of moderate irrigation on grape composition during ripening. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 3: 352-361
- [116] Matthews M., Anderson, M., (1988). Fruit ripening in *Vitis vinifera* L responses to seasonal water deficits, *American Journal of Enology and Viticulture*, 39:313-320
- [117] Iland P., (1989). Grape berry composition-the influence of environmental and viticultural factors, *Australian Grape grower & Winemaker*. 302: 13-15.
- [118] Nadal M., Arola L., (1995). Effects of limited irrigation on the composition of must and wine of Cabernet Sauvignon under semi-arid conditions, *Vitis*, 34: 151-154.
- [119] A. Escarpa, M.C Gonzalez, (2000). Evaluation of high-performance liquid chromatography for determination of phenolic compounds in pear horticultural cultivars, *Chromatographia*, 51-1/2: 37-43.
- [120] Robards K., (2003). Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables, *J. of Chromatography A*, 1000: 657-691.
- [121] Buldin P. L., Loretta R., Sharma L.J., (2002). Recent applications of sample preparation techniques in food analysis, *J. of Chrom. A*, 975, 47-70.
- [122] Naczek M., Shahidi F., (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis, *J. Pharma. And Biomedical Analysis*, 41, 1523-1542.
- [123] Tura D., Robards K., (2002). Sample handling strategies for the determination of biophenols in food and plants, *Journal of Chromatography A*, 975, 71-93.
- [124] Shi J., Nawaz H., Poholory J., Mittal G., (2005). Extraction of polyphenol from plant material for functional foods, *Food Reviews International*, 21: 139-166.
- [125] Gordana S., Cetkovi C., Anamarija I., Mandi C., Jasna M., (2007). HPLC screening of phenolic compounds in winter savory (*Satureja montana* L.) extracts, *J. of Liquid Chrom. and Related Technologies*, 30:2, 293-306.

- [126] Giuseppe R., Agatino R., Carmelo D., Vincenzo A., Carmela S., Corrado T.,(2000). Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extract from five Sicilian red grape cultivars, *Food Chem.*, 100: 203-210.
- [127] Wuilloud G. R., Kannamkumarat S. S., Caruso A. J., (2004). Multielement speciation analysis of fungi porcini (*Boletus edulis*) mushroom by size exclusion liquid chromatography with sequential on-line UV-ICP-MS detection, *J. of Agric. And food Chem.*, 52,1315-1322.
- [128] Simon B. F., Ilzarbe J. P., Hernandez T., Cordoves C. G., Estrella I., (1992). Importance of phenolic compounds for the characterization of fruit juices, *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1531-1535.
- [129] Escarpa A., Gonzalez M.C., (1998). High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties, *J. of Chromatogr. A*, 823,331-337.
- [130] Escarpa A., Cabrera C. P., Gonzalez M. C., (2000). Optimization and validation of a fast liquid gradient for determination of prominent flavan-3-ols and flavonols in fresh, *J. High Resol. Chromatography*, 23, 637-643.
- [131] Ruiz D., Egea J., Gil M. I., Tomas F. A., (2005). Characterization and quantitation of phenolic compound in new apricot (*Prunus armeniaca L.*) varieties, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 9544-9552.
- [132] Rice-Evans C., Miller N.J., Papanga G., (1996). Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology and Medicine*, 20: 933-956.
- [133] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine, (pp:7970-7981). CUPRAC Method, Vol.52 (26). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- [134] Miller, N.J., Diplock, A.T., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A., (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, (pp:407-412). Vol.84 *Clin. Sci*.
- [135] Miller, N.J., Rice-Evans, C., (1994). Total antioxidant status in plasma and body fluids,(pp:234, 279-293). *Methods in Enzymology*.

- [136]Girotti, S., Ferri, E., Maccagnani, L., Budini, R., Bianchi, G., (2002). Plasma Antioxidant Capacity Determination, (pp:407-414). *Comparative Evaluation of Chemiluminescent and Spectrophotometric Assays*, Vol.56(3), Talanta.
- [137]Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., (1999). Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay (pp: 1231-1237), Vol.26. *Free Radical Biol. Med.*
- [138]Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cànovas, F., Acosta, M., Arnao, M.B., (1998). An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material (pp: 196-202). Vol.9(4), *Phytochemical Analysis*.
- [139]Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M., (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity, *Food Chem.*,73(2), 239-244.
- [140]Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M., (1998). Total antioxidant activity in plant material and its interest in food technology, *Recent Res. Devel. in Agricultural and Food Chemistry*, 2, 893-905.
- [141]. Benzie, I.F.F., Strain, J.J., (1996). Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power; the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- [142]Singleton, V.L., Rossi, J.A., (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- [143]Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent, *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [144]Sanchez, M.C., Larrauri, J.A., Saura, C.F., (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.
- [145]Amerine, and A.J. Winkler. (1958). Maturity studies with California grapes. III. The content of grapes, leaves and stems. *Proc. Am. Hort. Sci.* 71:19
- [146]Kanner, J., Frankel, E., Granit, R., German, B. Ve Kinsella, J.E., (1994). Natural Antioxidants In Grape And Wines. *Ibid.* 42, 64-69
- [147]Deryaoğlu, A., (1997). *Elazığ Yöresinde Yetistirilen Siyah Saraplık Boğazkere Ve Öküzgözü Üzüm Çesitlerinin Olgunlaşması Sırasında Meydana Gelen Fiziksel*

- Ve Kimyasal Değişmeler*. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Basılmamış, 148 s.
- [148] Polat, S., Bahar E., Çelik S., Arı, C., Gürol, S.T., (1998). *Tekirdeğ Çekirdeksizi Ve Cardinal Üzüm Çeşidinde Gelişme Dönemi Boyunca Salkımda Fenolik Maddelerin Değişimi*. Atatürk Bahçe Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Bağcılık Sempozyumu 20-23 Ekim, 1998, Yalova. S.27 (Bildirim Özetleri).
- [149] Negro, C., Tommasi, L. Ve Micel, A., (2003). Phenolic Compounds And Antioxidant Activity From Red Grape Marc Extracts (pp:41-44) *Bioresourcetechology* Vol.87, Issue 1, March 2003.
- [150] El, N., Karakaya, S. (2004). *International Journal Of Food Science And Nutrition*, Vol.55(1). (pp:67-74).
- [151] Karadeniz, F., Burdurlu, H.S., Kocan, N., Soyder, Y., (2005). *Antioxidant Activity of Selected Fruits and Vegetables Grown in Turkey*, (pp:297-303). Tübitak Turk J. Agric.
- [152] Yıldırım, H.K., Akcay, Y.D., Güvenç, U., Altındisli, A. Ve Sözmen, E.Y., (2005). Antioxidant Activities Of Organic Grape, Pomace, Juice, Must, Wine And Their Correlation With Phenolic Content (pp:133–142). *International Journal Of Food Science And Technology*,
- [153] Doshi, P., Adsule, P. ve Banerjee, K., (2006). Phenolic Composition and Antioxidant Activity In Grapevine Parts and Berries (*Vitis vinifera L.*) cv. Kishmish Chornyi (Sharad Seedless) During Maturation (pp:1–9). *International Journal of Food Science and Technology*, 41 (Supplement 1).
- [154] Türk, F.H., (2007). *Bazı Sofralık Üzüm Çesitlerinde Farklı Dönemlerde Alınan Yapraklardaki Fenolik Ve Mineral Madde Değişmelerinin Belirlenmesi*, SDÜ Fen Bil. Enstitüsü, Bahçe Bit. Anabilim Dalı Yük Lisans Tezi, Isparta.
- [155] Uzun, H. İ., Bayır A., (2007). Bazı Yabancı Asma (*Vitis Silvestris*) Tiplerine Ait Toplam Fenolik Madde İçerikleri Ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi (pp:324-328). *Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi* Cilt:2 2007 Erzurum.
- [156] Yemis, O., Bakkalbasi, E. Ve Artık, N., (2008). Antioxidative Activities Of Grape (*Vitis Vinifera*) Seed Extracts Obtained From Different Varieties Grown In Turkey (pp: 154-159). *International Journal Of Food Science Ve Technology*.
- [157] Yassa, N., Beni, R.H. Hadjiakhoondi, Pakistan A., (2008). *Journal Of Biological Sciences*, 21, 2516-2516

- [158]Kelebek, H.,Canbaş A., Cabaroğlu T.,Erten H., Selli S., (2008). Öküzgözü, Boğazkere, ve Kalecik Karası Üzümlerinin Ve Bu Üzümlerden Elde Edilen Ların Genel Özellikleri (pp:145-157). *Ulusal Bağlılık-Şarapçılık Sempozyumu Ve Sergisi*, 6-8 Kasım, 2008, Denizli.
- [159]Gök Tangolar, S., Kafkas, E., Tangolar S., (2009). Bazı Sofralık Ve Üzüm Çeşitlerinin Şeker, Organik Asit Ve Fenolik Bileşik İçeriklerinin Belirlenmesi (pp: 258-264).Cilt:2.*Türkiye 7. Bağlılık Ve Teknolojileri Sempozyumu*, 5-9 Ekim,2009, Manisa.
- [160] Özden, M. ve H. Vardin. (2009). Sanlıurfa Kosullarında Yetistirilen Bazı Saraplık Üzüm Çeşitlerinin Kalite Ve Fitokimyasal Özellikleri. *Hr.Ü.Z.F.Dergisi*, 13(2): 21-27.
- [161]Jin, Z.M., He, J.J., Bi, H.Q., Cui, X.Y. Ve Duan, C.Q., (2009). Phenolic CompoundProfiles İn Berry Skins From Nine Red Wine Grape Cultivars İn Northwest China. *Molecules*, 14(12), 4922-4935
- [162]Da Mota, R.V., Favero, A.C., Silva, C.P.C., Purgatto, E., Shiga, T.M., Regina,M.D., (2011). Wine Grape Quality Of Grape Vines Grown İn The Cerrado Ecoregion OfBrazil,45:(2), 101-109.
- [163]Katalinic, V., Mozşina, S.S, Skroza, D., Generalic, İ., Abramovic, H., (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 Vitis vinifera varieties grown in Dalmatia (Croatia)(pp:715–723).Vol.119,*Food Chemistry*.
- [164]Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W., and Manley, M., (2003). Antioxidant Activity of South African Red and White Cultivar Wines: Free Radical Scavenging, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 902-909.
- [165] Navarro, S., Leo'n, M., Roca-Pe'rez, L., Boluda, R., Garcı'a-Ferriz, L., Pe'rez-Bermu'dez, P. ve Gavidia, I., (2008). Characterisation of Bobal and CrujideraGrape Cultivars, In Comparison with Tempranillo and Cabernet Sauvignon:Evolution of leaf macronutrients and berry composition during grape ripening*Food Chemistry*, 108, 182–190.
- [166] İvanova V, Stefova, M. and Chinnıcı, F., (2010). Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods,*J. Serb. Chem. Soc.* 75 (1) 45–59.
- [167] İvanova V, Stefova, M., Vojnoski, B., Dörnyei, A., Márk, L., (2011). Identification of polyphenolic compounds in red and white grape varieties grown

- in R. Macedonia and changes of their content during ripening, *Food Research International* 44, 2851–2860.
- [168] Chapman G.W., Horvat R.J., Forbus W.R., (1991). Physical and chemical changes during the maturation of peaches, *J. of Agric. Food Chem.*, 39: 867-870.
- [169] Fernandez B., Perez J., Hernandez T., Gomez C., (1992). Importance of phenolic compound for the characterization of fruit juices, *J. of Agric. Food Chem.*, 40: 1531-1535.
- [170] Bowen H.J., Watkins B.C., (1997). Fruit maturity, carbohydrate and mineral content relationships with watercore in fuji apple, *Postharvest Biology and Technology*, 11:31-38.
- [171] Uzelag V.D., Levaj B., Mrkic V., Bursac D., Boras M., (2007), The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region, *Food Chemistry*, 102:966-975.
- [172] Arts I. C.W., Van de Putte B., Hollman P. C. H., (2000). Catechin contents of foods commonly consumed in the netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, *J. Agric. Food Chem.*, 48:1746-1751.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad:Sevim ATEŞ

Doğum Yeri ve Tarihi: Malatya – 03.01.1978

Adres: Beydağı Abdulkadir Eriş Anadolu Lisesi Yeşilyurt / MALATYA

E- posta: sevimates4463@gmail.com

Lisans: İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (1997-2001)

Tezsiz Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü (2001-2003)

Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim dalı (2011-2015)

Mesleki Deneyim ve Ödüller:

Malatya Organize Sanayi Bölge Müdürlüğü Atık Su Arıtma Tesisi

Tesis İşletme Sorumlusu (2002-2011)

Milli Eğitim Bakanlığı

Kimya Öğretmeni (2011-Devam ediyor)