

KIRMIZI ÜZÜM SUYU ÜRETİM SÜRECİNDE RESVERATROL MİKTARI VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERDE MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER*

Mehmet Gülcü^{1**}, Figen Dağlıoğlu²

¹Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Gıda Teknolojileri Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

²Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

Geliş/ Received : 20.12.2017; / Kabul/ Accepted: 07.02.2018; Online baskı/ Published online: 08.03.2018

Gülcü, M., Dağlıoğlu, F. (2018). Kırmızı üzüm suyu üretim sürecinde resveratrol miktarı ve biyoaktif özelliklerde meydana gelen değişimler. *GIDA* (2018) 43 (2): 321-332 doi: 10.15237/gida.GD17110

Gülcü, M., Dağlıoğlu, F. (2018). Changes in resveratrol content and bioactive properties during production process of red grape juice. GIDA (2018) 43 (2): 321-332 doi: 10.15237/gida.GD17110

ÖZ

Bu araştırma kapsamında, kırmızı üzüm çeşitlerinden üzüm suyu üretim sürecinde biyoaktif özellikler (toplam fenolik madde, antiradikal aktivite, toplam antosiyanin) ve resveratrol miktarlarında meydana gelen stabilite veya değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, Cabernet Sauvignon ve Papazkarası üzüm çeşitleri kullanılarak kırmızı üzüm suyu üretimi gerçekleştirilmiş, işleme sürecinde belirlenen proses basamaklarında örnekler alınarak incelenmiştir. Örneklerdeki resveratrol miktarları, C18 ters faz kolon ve floresans dedektörle kombine edilmiş HPLC sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde, toplam antosiyanin, DPPH serbest radikal yakalama ve ABTS radikal yakalama kapasitesi değerleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Üzüm suyu üretim sürecinde, özellikle durultma ve kaba filtrasyon işlemlerinin biyoaktif özelliklerde kayıplara yol açtığı, genel olarak proses boyunca resveratrolde artışlar olurken, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin ise daha stabil kaldığı görülmüştür. İşleme sürecinde en fazla kayıp toplam antosiyanin miktarlarında meydana gelmiş, başlangıç değerlerine göre kayıp oranı %50'nin üzerinde olmuştur.

Anahtar kelimeler: Biyoaktif özellikler, Resveratrol, Antioksidan aktivite, Üzüm suyu

CHANGES IN RESVERATROL CONTENT AND BIOACTIVE PROPERTIES DURING PRODUCTION PROCESS OF RED GRAPE JUICE

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the stability and changes of bioactive properties (total phenolic content, antioxidant capacity, and total anthocyanin) and resveratrol contents during the production process of red grape juice. In this context, two red grape varieties (Cabernet Sauvignon and Papazkarası) were used for grape juice production and juice samples were evaluated from each production step. Resveratrol contents of samples were determined using an HPLC system with C18 reverse phase column and fluorescence detector. Total phenolic content, total anthocyanin, DPPH free radical scavenging and ABTS radical scavenging capacities were determined by spectrophotometric methods. In grape juice production process, bioactive properties decreased particularly in clarification and coarse filtration operations. In the overall process, resveratrol content increased while the total phenolic content and antioxidant activity values remained stable. During processing, the maximum loss, over 50% compared to the initial values, occurred in the total anthocyanins.

Keywords: Bioactive properties, Resveratrol, Antioxidant capacity, Grape juice

* Bu çalışma, Mehmet Gülcü'nün doktora tezinin bir bölümüdür / *This study is a part of Mehmet Gülcü's Ph. D Thesis*

** Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author;*

✉ mehmetgulcu@hotmail.com,

☎ (+90) 282 261 2042

☎ (+90) 282 262 4061

GİRİŞ

Yetiştirilme alanı ve çok sayıda değerlendirme olanakları ile üzüm, hem önemli bir besin maddesi, hem de gıda sanayinde hammadde özelliğinde olup ülke ekonomisinde ve sosyal hayatında önemli bir yere sahiptir. Türkiye, uygun ekolojik (iklim, toprak) koşullar yanında, sahip olduğu zengin üzüm gen potansiyeli ile, Dünya'da önemli bir bağcılık merkezi konumundadır. Dünyada üzüm denilince sofralık tüketim haricinde, akla ilk gelen ürün şarap olmakla birlikte, sirke, meyve suyu ve diğer bazı alkollü içkilerin üretimi üzümün hammadde olarak kullanıldığı başlıca alanlardır, çok eski ve köklü bir bağcılık kültürüne sahip Anadolu topraklarında sıralanan ürünlerin yanında üzümün önemli bir kısmı, kuru üzüme işlenmekte, pekmez başta olmak üzere köfter, pestil, cevizli sucuk, şıra, hardaliye vb. daha sayamadığımız pek çok geleneksel gıdanın üretiminde kullanılmaktadır.

Üzümün içermiş olduğu karbonhidrat ve mineral maddelerin yanı sıra, diğer meyveler içerisinde ayrı ve özel bir yere sahip olmasının asıl nedeni üzümün kabuğunda ve çekirdeklerinde oldukça fazla miktarlarda bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler insan sağlığı bakımından antioksidan özellikleri ile ön plana çıkan doğal bileşiklerin başında gelmektedir. Yapılan bilimsel çalışmalar, fenolik bileşiklerin çeşitli mekanizmalar aracılığı ile vücudu koruduğunu ve insan bağışıklık sisteminin daha aktif bir şekilde çalışmasını sağladığını ortaya koymuştur. Üzümde en fazla bulunan polifenoller flavonoller (kuersetin, kamferol, mirisetin), flavan-3-ol'ler (kateşin, epikateşin, tanenler) ve antosiyaninlerdir. Flavonoid yapısında olmayan polifenoller arasında ise hidroksisinnamik asit ve gallik asit türevleri ile *trans*-resveratrol yer alır (Gülcü vd., 2008). Üzümdeki resveratrol varlığı ve miktarı genel olarak üzüm çeşidine, yetiştirildiği bölge özelliklerine, iklim koşullarına, bağda uygulanan kültürel/bitki koruma işlemlerine göre değişebilmektedir (Karadeniz, 2000; Adıgüzel, 2007).

Üzüm ürünlerindeki resveratrol varlığı ve miktarı başta hammadde olarak işlenen üzüm çeşidine, uygulanan üretim teknik ve teknolojilerine,

depolama süresi ve koşullarına göre değişebilmektedir. Üzümde bulunan resveratrol içeriği çekirdek ve kabuk kısımlarında yoğunlaştığından, üzümde üretilen ürünlerin resveratrol içeriği de üretim sürecinde uygulanacak maserasyon vb. işlemlerle, ürünün kabuk ve çekirdek kısımlarıyla temas süresine bağlı olarak değişiklik gösterecektir (Gülcü, 2016).

Romero-Perez vd. (1999), 36 farklı üzüm suyunda resveratrol türevlerinin seviyelerini araştırmışlar, kırmızı üzüm sularında konsantrasyonları; 0.50 mg/L *trans*-resveratrol ve 0.06 mg/L *cis*-resveratrol olarak tespit etmişler. Dani vd., (2007), beyaz üzüm sularına kıyasla renkli üzüm sularının toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerlerinin daha yüksek olup, resveratrolün sadece renkli üzüm sularında tespit edildiğini bildirmişlerdir. Üzüm suyu ve şarapta fenolik madde seviyesinin parçalama, presleme, kükürt ilavesi, kabuk teması ve yıllandırma gibi çok sayıda proses faktöründen etkilendiğini bildirilmiştir (Lachman vd., 2009). Capanoğlu vd. (2013), konsantre üzüm suyu üretimi esnasında, antosiyanin ve prosiyanidin bileşiklerin büyük oranda pres keki şeklinde ayrılan çekirdek ve kabuk kısımlarında kalırken, durultma ve filtrasyon uygulamalarının antosiyanin içeriğini daha da azalttığını bildirmiştir. Tríska vd. (2016), üzüm suyu üretiminde teknolojik işlemlerin bazı biyolojik aktif bileşikler, antioksidan kapasite, toplam polifenol ve antimutajenik aktivite açısından en önemli proses parametrelerinin sıcaklık ve sıcak maserasyonda bekleme süresi olduğunu, kabuktan şıraya biyoaktif bileşiklerin geçişinde önemli etki görüldüğünü bunun aynı zamanda antioksidan kapasite değerlerine de olumlu yansıdığı ve arttırdığını belirtmişlerdir.

Çalışmamız kapsamında, kırmızı üzüm çeşitlerinden üzüm suyu üretim sürecinde toplam fenolik madde, antioksidan/antiradikal aktivite, toplam antosiyanin gibi biyoaktif özellikler ve resveratrol miktarlarında meydana gelen stabilite veya değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

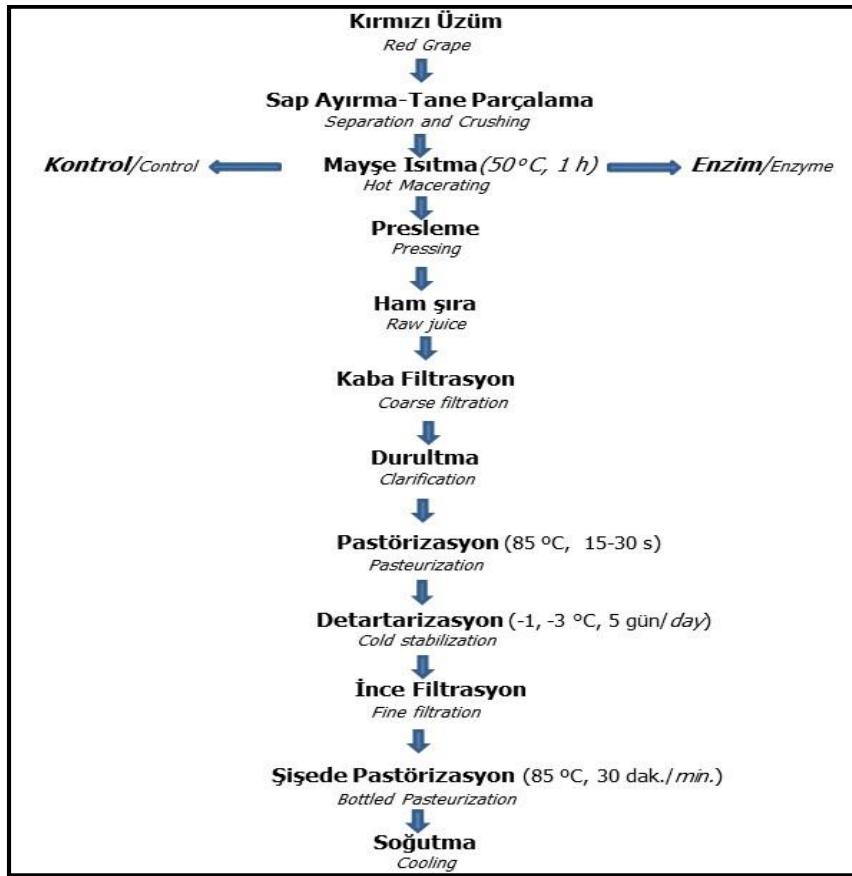
MATERYAL VE YÖNTEM**Materyal**

Çalışma kapsamında üzüm suyu üretiminde kullanılan kırmızı üzüm çeşitlerinden Cabernet Sauvignon ve Papazkarası üzümleri, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bağlarından temin edilmiştir.

Üzüm suyu üretimi

Üzümler % 21-22 suda çözünen kuru madde değerlerine ulaştığı dönemde hasat edilerek işleme

yerine getirilip, toz vs. yabancı maddelerden temizlemek üzere içilebilir nitelikte çeşme suyu ile yıkanmış, varsa çürük, ham salkımlar ve yaprak, dal parçacıkları ayıklanmıştır. Üzüm suyu üretimi laboratuvar ölçeğinde Şekil 1’de yer alan proses akışına göre gerçekleştirilmiş, mayşe ısıtma aşamasında pektolitik enzim (Polygalacturonase, Sihazym Extro, Begerow) ve kontrol (enzim katılmadan) uygulamaları yapılmış, belirlenen proses noktalarında örnekler alınarak analizlere kadar -80°C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Kırmızı üzüm suyu üretimi işlem basamakları

Figure 1. Red grape juice production process

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Üzüm suyu örneklerinde toplam fenolik madde tayini, Waterhouse (2002) tarafından bildirilen prosedüre göre, Folin-Coicalteau ayracı ile yaptığı reaksiyon sonucu oluşan rengin spektrofotometrede okunması ile gerçekleştirilmiştir. 40 µL üzüm suyu numunesi spektrofotometre küveti

içine pipetlenmiş, üzerine 3.16 mL saf su ilavesinin ardından 200 µL Folin-Coicalteau reaktifi ilavesi ile karışım 1-8 dakika boyunca bekletilmiştir. Beklemenin ardından 600 µL sodyum karbonat (%20) çözeltisi ilave edilip, karıştırılmış ve 2 saat boyunca oda sıcaklığında beklemenin ardından spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda aynı şekilde hazırlanmış şahide

karşı absorbans ölçümleri yapılmıştır. Okunan absorbans değerlerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri (GAE) olan fenolik bileşik miktarı gallik asit standart eğrisi ($y=0.001x+0.0071$) yardımıyla hesaplanmıştır.

Antioksidan/antiradikal aktivite tayini

Antioksidan/antiradikal aktivite tayini iki farklı metotla belirlenmiştir.

DPPH (1.1-difenil 2-pikril hidrazil) serbest radikal yakalama kapasitesi analizi Garzón ve Wrolstad (2009)'ın bildirdiği yönteme göre yürütülmüştür. Buna göre, farklı hacimlerde (25-50-75 µL) örnek ve örnek seyreltiği üzerine 0.1 mM DPPH metanolik çözeltisinden 1.95 mL eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika boyunca bekletildikten sonra absorbans değeri 517 nm dalga boyunda, spektrofotometrede okunmuştur. Değişik hacimlere karşılık, elde edilen yüzde inhibisyon değerlerine linear regrasyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, daha önce standart Troloks solüsyonları (50–1000 µM) ile hazırlanan eğrinin eğimine oranlanarak, örneğin TEAC-DPPH (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değeri hesaplanmıştır.

ABTS (2.2-azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) radikal kasyon temizleme aktivitesi Re vd. (1999) tarafından tanımlanan metotla

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH 4.5} \quad (1)$$

$$\text{Toplam Antosiyenin Miktarı (mg/L)} = \frac{(A) (MW) (Sf) (1000)}{(\epsilon) l} \quad (2)$$

Burada, MW malvidin-3-glukozid'in molekül ağırlığını (493.5 g/mol), Sf seyreltme faktörünü ve ϵ ise molar absorpsiyon katsayısını (28000), l ise spektrofotometre küveti katman kalınlığını (l) ifade etmektedir.

Resveratrol miktarının belirlenmesi

Resveratrol analizi, Anonymous (2010)'da bildirilen metodun modifiye edilerek kullanıldığı, Gülcü (2016)'da uygulanan yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Shimadzu (Kyoto,

belirlenmiştir. ABTS çözeltisi PBS (tuzlu fosfat tamponu) çözeltisi ile 734 nm'de 0.700 (± 0.2) absorbans değeri verecek şekilde seyreltilmiştir. Mikro küvet, spektrofotometreye yerleştirilerek küvetteki ABTS+ radikal çözeltisinin başlangıç absorbans değeri kaydedilmiştir. 3 farklı örnek hacminde (10, 20, 30 µL) çalışılarak 6 dakika sonunda 734 nm'de yapılan ölçümler neticesinde saptanmış ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek miktarlarına (hacimlerine) karşı bir grafiğe aktarılıp linear regrasyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanarak örneğin TEAC-ABTS (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değeri hesaplanmıştır.

Toplam antosiyenin miktarının belirlenmesi

Üzüm suyu örneklerinde pH-differansiyel metoduna göre toplam antosiyenin miktarları belirlenmiştir. Örnekler iki ayrı spektrofotometre küveti içerisinde pH 1.0 (0.025 M potasyum klorür) ve pH 4,5 (sodyum asetat) tampon çözeltileri ile uygun ve eşit oranda seyreltilerek hızla karıştırılmış 30 dakika bekledikten sonra 520 ve 700 nm dalga boylarında absorbans okumaları yapılmıştır. Okunan absorbans değerleri formüllerde (1 ve 2) yerine konularak toplam antosiyenin miktarı malvidin-3-glukozid eşdeğeri (ME) olarak hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007).

Japonya Prominence LC 20A HPLC sistemi, floresans dedektör (RF-20A) ile kullanılmıştır. Resveratrol, Inertsil ODS-3 guard kolon (5 µm, 10 x 4.0 mm i.d.) ve Inertsil ODS-3 (5 µm, 250 x 4.6 mm i.d.) kolonla, gradient sistemde 300 nm uyarma, 386 nm emisyon dalga boyuna ayarlanmış floresans dedektör ile tespit edilmiştir. Mobil faz olarak, %0.2 oranında formik asitle (Merck, Darmstadt, Almanya) hazırlanan asetonitril (B) ve ultra saf su (A) kullanılmıştır. Mobil faz akış hızı 1.5 mL/dk, kolon fırını sıcaklığı 30 °C'de analiz

süresi 22 dk.'ya ayarlanmıştır. Örnekler 0.45 µm'lik PTFE şırınga filtreden süzülerek direkt enjeksiyon yapılmıştır. Örneklerdeki resveratrol miktarları, resveratrol (Sigma-Aldrich, Katalog No: R5010) standardı kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrisi yardımıyla, LC Solutions (Shimadzu, Japonya) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda resveratrol için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla yaklaşık 0.005 mg/L ve 0.02 mg/L olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel analizleri

Araştırmanın tüm aşamaları 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesi için faktöriyel deneme deseninde varyans analizi uygulanmış, farklılıklar

% 5 güven aralığında ($P < 0.05$) belirlenmeye çalışılmıştır. Varyasyon kaynaklarının ortalamalarının karşılaştırılmasında LSD (Least Significant Difference: Asgari Önemli Fark) Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. İstatistiksel analizler için, JMP 5.0.1 istatistik paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kırmızı üzüm suyu üretim sürecinde yedi ayrı üretim aşamasında (Ham şıra-Kaba filtre-Durultma-Pastörizasyon-Detartarizasyon-İnce filtre-Şişe pastörize) numuneler alınarak analizleri yapılmıştır. Çizelgeler (Çizelge 1 ve Çizelge 2) çeşit bazında ayrı ayrı hazırlanarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 1. Cabernet Sauvignon çeşidinden üzüm suyu işleme esnasında resveratrol ve biyoaktif özelliklerin değişimi

Table 1. Resveratrol and bioactive properties during processing of grape juice from Cabernet Sauvignon variety

	Toplam fenolik madde <i>Total phenolic content</i> mg GAE/mL	Toplam Antosiyanin <i>Total anthocyanins</i> mg ME/mL	TEAC _{DPPH} µmol troloks/mL	TEAC _{ABTS} µmol troloks/mL	Resveratrol mg/L	
Ham Şıra <i>Raw juice</i>	1.58 ^a	0.37 ^a	1.15	11.86	1.35 ^d	
Kaba filtre <i>Coarse filtration</i>	1.55 ^a	0.35 ^b	1.14	11.51	1.20 ^c	
Durultma <i>Clarification</i>	1.27 ^{bc}	0.21 ^c	1.19	9.96	2.74 ^c	
Proses basamağı <i>Process stage</i>	Pastörizasyon <i>Pasteurization</i>	1.32 ^b	0.20 ^{cd}	1.17	10.21	3.35 ^a
	Detartarizasyon <i>Cold stabilization</i>	1.27 ^{bc}	0.20 ^{cd}	1.16	11.22	3.11 ^b
	İnce filtrasyon <i>Fine filtration</i>	1.24 ^{cd}	0.18 ^{de}	1.17	11.41	3.11 ^b
	Şişede Pastörizasyon <i>Bottled Pasteurization</i>	1.22 ^d	0.17 ^e	1.16	10.67	3.04 ^b
LSD ($P < 0.05$)	0.05	0.02	ÖD	ÖD	0.06	
Uygulama <i>Treatment</i>	Enzim <i>Enzyme</i>	1.11 ^b	0.22 ^b	1.09 ^b	9.98 ^b	1.72 ^b
	Kontrol <i>Control</i>	1.58 ^a	0.26 ^a	1.24 ^a	11.97 ^a	3.40 ^a
	LSD ($P < 0.05$)	0.03	0.01	0.06	0.84	0.11
LSD ($P < 0.05$) Uygulama×Proses Bas. <i>Treatment× Process stage</i>	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	0,16	

ÖD: önemli değil. *Not significant*

Farklı harfleri taşıyan ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

Means with different letters are statistically significant ($P < 0.05$).

Çizelge 2. Papazkarası çeşidinden üzüm suyu işleme esnasında resveratrol ve biyoaktif özelliklerin değişimi

Table 2. Resveratrol and bioactive properties during processing of grape juice from Papazkarası variety

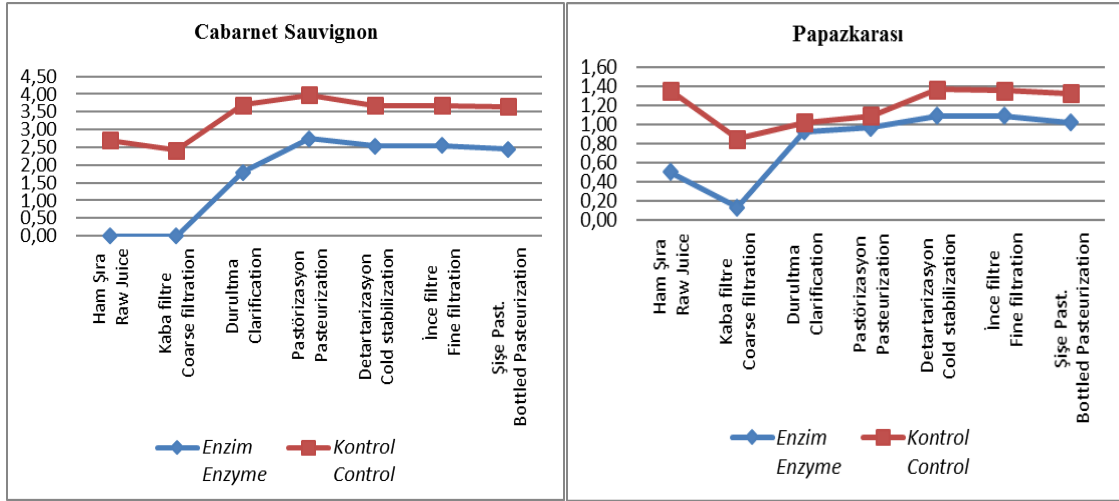
	Toplam fenolik madde <i>Total phenolic content</i> mg GAE/mL	Toplam Antosiyanin <i>Total anthocyanins</i> mg ME/mL	TEAC _{DPPH} μmol troloks/mL	TEAC _{ABTS} μmol troloks/mL	Resveratrol mg/L
Ham Şıra <i>Raw juice</i>	1.29 ^b	0.16 ^a	1.15	7.97	0.93 ^b
Kaba filtre <i>Coarse filtration</i>	1.46 ^a	0.12 ^b	1.15	10.57	0.49 ^c
Durultma <i>Clarification</i>	1.23 ^{bc}	0.05 ^d	1.05	8.67	0.97 ^b
Proses basamakları <i>Process stage</i>					
Pastörizasyon <i>Pasteurization</i>	1.24 ^{bc}	0.07 ^{cd}	1.15	8.75	1.03 ^b
Detartarizasyon <i>Cold stabilization</i>	1.12 ^c	0.07 ^{cd}	1.18	7.87	1.23 ^a
İnce filtrasyon <i>Fine filtration</i>	1.16 ^{bc}	0.07 ^c	1.20	8.66	1.22 ^a
Şişede Pastörizasyon <i>Bottled Pasteurization</i>	1.09 ^c	0.06 ^{cd}	1.21	8.03	1.18 ^a
LSD ($p < 0.05$)	0.15	0.02	ÖD	ÖD	0.13
Uygulama <i>Treatment</i>					
Enzim <i>Enzyme</i>	1.07 ^b	0.07 ^b	1.07 ^b	7.79 ^b	0.82 ^b
Kontrol <i>Control</i>	1.38 ^a	0.10 ^a	1.24 ^a	9.50 ^a	1.20 ^a
LSD ($p < 0.05$)	0.08	0.01	0.08	1.28	0.07
LSD ($p < 0.05$) Uygulama X Proses Bas. <i>Treatment x Process stage</i>	ÖD	0.03	ÖD	ÖD	0.18

ÖD: önemli değil. *Not significant*

Farklı harfleri taşıyan ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

Means with different letters are statistically significant ($P < 0.05$).

Üzüm suyu üretim sürecinde alınan örneklerin resveratrol (mg/L) değişim grafikleri Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Üzüm suyu üretim sürecinde resveratrol (mg/L) değişimi

Figure 2. The change of resveratrol during processing of grape juice

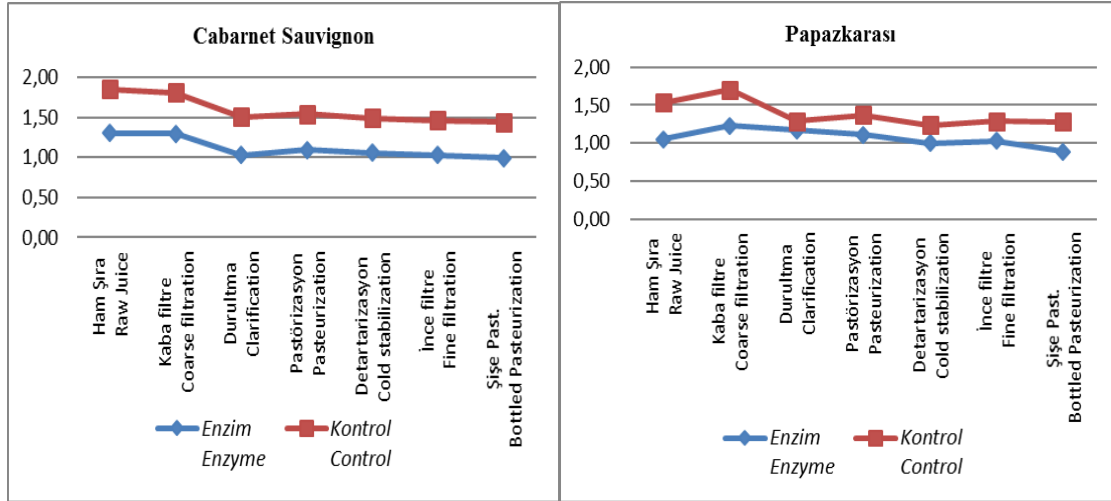
Çalışmamızda Cabernet Sauvignon çeşidinden elde edilen üzüm sularının resveratrol miktarı enzim ve kontrol uygulaması örneklerinde sırasıyla 1.72 ve 3.40 mg/L, Papazkarası çeşidinden elde edilen üzüm sularında ise yine enzim ve kontrol örneklerinde sırasıyla 0.82 ve 1.20 mg/L olarak tespit edilmiştir. Lamuela-Raventós vd. (2001), kırmızı üzüm sularında toplam resveratrol içeriğinin; 0.69 mg/L ile 14.47 mg/L arasında (ortalama 4.73 mg/L) olduğunu bildirmişlerdir. Her iki çeşitte de enzim uygulanan örneklerde resveratrol içeriğinin kontrol örneklerinden daha düşük olduğu görülmektedir. İstatistik değerlendirme neticesinde de uygulamaların (enzim, kontrol) resveratrol miktarına etkisi önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Özellikle Cabernet Sauvignon çeşidinde enzim ve kontrol ortalamaları arasındaki farkın çok daha fazla açıldığı görülmüştür. LeBlanc (2006), üzüm suyu üretiminde pektik enzim uygulamasıyla meyve suyu randımanının önemli oranda arttığını, fakat resveratrol ve türevleri olan stilben konsantrasyonunda bir artışın olmadığını, sıcak presleme uygulamasıyla karşılaştırıldığında pulptan meyve suyu geçişindeki artışın etkisiyle üzüm suyunda stilben konsantrasyonunun seyreltilmiş olabildiğini bildirmiştir.

Her iki çeşit içinde proses sürecindeki değişimler incelendiğinde, öncelikle proses basamaklarının resveratrol miktarına etkisi istatistik olarak önemli

($P < 0.05$) bulunmuştur. Proses sürecinde özellikle kaba filtre aşamasında resveratrol miktarında düşüş olduğu görülmüştür. Nitekim bazı araştırmacılar da filtrasyon işleminin resveratrol miktarını negatif etkilediğini bildirmiştir (Vrhovsek vd., 1997). Çalışmamızda durultma ve pastörizasyon aşamalarında resveratrol miktarında artışların olduğu, son basamaklarda (detartarizasyon, ince filtrasyon, şişe pastörizasyon) ise resveratrol miktarında önemli bir değişikliğin olmadığı görülmüştür. Genel olarak başlangıç (Ham şıra) değerlerine göre işleme sürecinde resveratrol miktarında artış olduğu görülmüştür. Cheynier (2005), Meyve sularında işleme ve depolama esnasında oluşan bazı yeni bileşiklerden bahsetmiş, ön ürünlerinden farklı spesifik özellikler gösterebilmelerine rağmen, çalışmalarda sıklıkla göz ardı edildiğini belirtmiştir. Özellikle şarap üretiminde glukozid (piceid) formdan enzimatik hidroliz sonucu resveratrol miktarında meydana gelen yükselmeler bazı araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (La Torre vd., 2004; Bavaresco vd., 2012; Bavaresco vd., 2016). Çalışmamızda durultma ve pastörizasyon aşamalarında resveratrol miktarında meydana gelen artışın, muhtemelen piceid formdan enzimatik hidroliz sonucu meydana geldiği düşünülmektedir.

Üzüm suyu işleme sürecinde resveratrol miktarları üzerine proses basamağıuygulama interaksyonu önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur.

Üretim sürecinde üzüm suyu örneklerinin toplam fenolik madde (mg GAE/mL) değişim grafikleri Şekil 3'de verilmiştir.



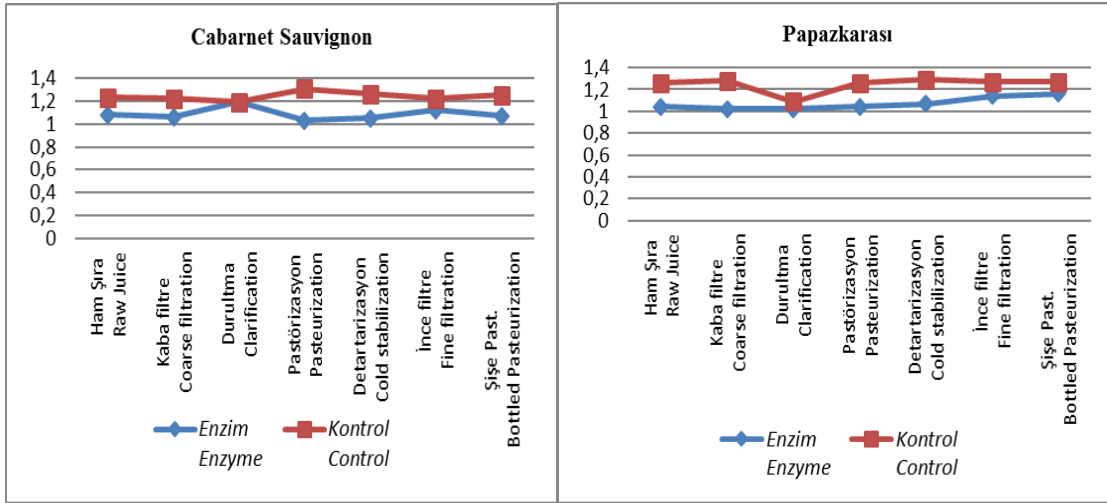
Şekil 3. Üzüm suyu üretim sürecinde toplam fenolik madde (mg GAE/mL) değişimi
Figure 3. The change of total phenolic content (mg GAE/mL) during processing of grape juice

Her iki kırmızı çeşit için de, mayşe ısıtma esnasında uygulanan enzimin toplam fenolik madde üzerine etkisi negatif yönde olurken istatistik açıdan da kontrol ve enzim uygulamaları arasındaki fark önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda pektolitik enzim kullanımıyla öncelikle meyve suyu randımanının artışına işaret edilmiştir (Morris ve Brady 2004; Sacchi vd., 2005; LeBlanc, 2006). Resveratrol miktarlarında olduğu gibi enzim etkisiyle meydana gelen meyve suyu randımanı artışının toplam fenolik madde miktarında da bir seyreltme etkisi yapmış olduğu görülmüştür.

Her iki kırmızı çeşitten üzüm suyu işleme proses sürecinde toplam fenolik madde miktarında en önemli değişim/düşüş durultma aşamasında olurken, daha sonraki aşamalarda önemli bir değişimin olmayıp yatay bir seyir izlendiği görülmüştür. Gollücke vd., (2009), Concord ve Isabel çeşitlerinden üzüm suyu konsantresi üretim sürecinde bazı proses basamaklarında (sıcak pres/şıra pastörizasyon, filtrasyon, konsantras-

yon) toplam fenolik madde ve DPPH antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde özellikle ısı işlem (pastörizasyon) sonrasında bazı değişiklikler görülmekle birlikte genel olarak proses esnasında bu parametrelerde stabil bir davranış görüldüğünü bildirmiştir. Kulcan vd., (2015), berrak siyah üzüm suyu işleme esnasında toplam fenolik madde de en büyük azalmanın durultma işlemi sonrasında izlendiğini bildirmiştir. Nitekim çalışmamızdaki üzüm suyu örneklerinin farklı proses basamaklarında toplam fenolik miktarı değişimi istatistik olarak önemli ($P < 0.05$) bulunmakla birlikte, çoklu karşılaştırmada birbirine yakın gruplar oluşmuştur. Diğer taraftan proses basamağıuygulama interaksyonu önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur.

İşleme sürecinde üzüm suyu örneklerinin DPPH antioksidan/antiradikal aktivite (μmol troloks/mL) değerleri değişim grafikleri Şekil 4'de verilmiştir.

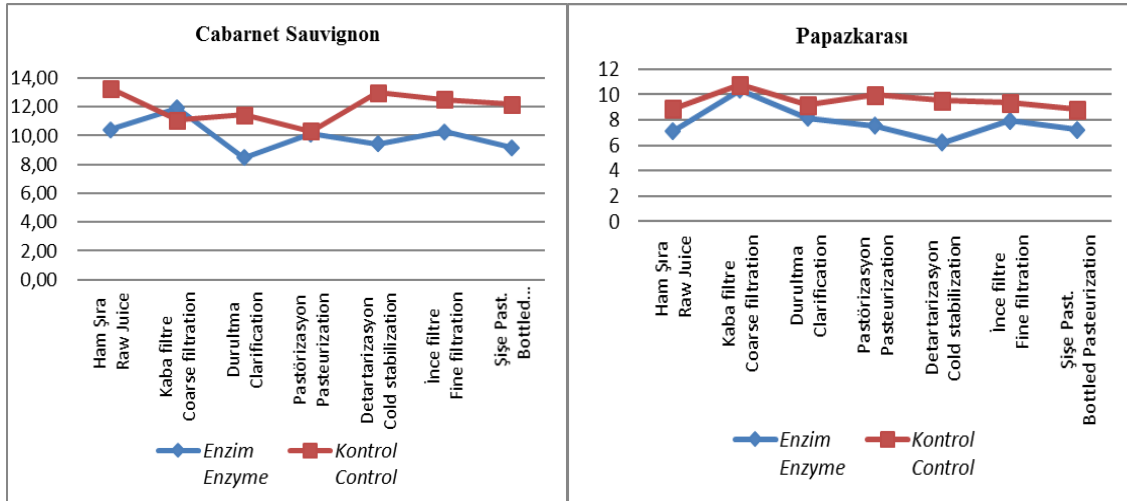


Şekil 4. Üzüm suyu üretim sürecinde DPPH antiradikal aktivite (µmol troloks/ml) değişimi
Figure 4. The change of DPPH antiradical activity (µmol troloks/mL) during processing of grape juice

Her iki kırmızı çeşitten üzüm suyu işleme sürecinde enzim uygulamasıyla DPPH antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde düşüş olurken, uygulama ortalamaları arasında oluşan fark her iki çeşitte de istatistik açıdan önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Her iki kırmızı çeşidin de üzüm suyuna işleme basamaklarında, DPPH antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde önemli bir değişim görülmezken,

istatistik açıdan da proses basamaklarının etkisi önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur. Kırmızı üzüm suyu işleme de proses basamağıuygulama interaksyonu da önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur.

İşleme sürecinde üzüm suyu örneklerinin ABTS antioksidan/antiradikal aktivite (µmol trolox/mL) değerleri değişim grafikleri Şekil 5’de verilmiştir.



Şekil 5. Üzüm suyu üretim sürecinde ABTS antioksidan aktivite (µmol troloks/mL) değişimi
Figure 5. The change of ABTS antiradical activity (µmol troloks/mL) during processing of grape juice

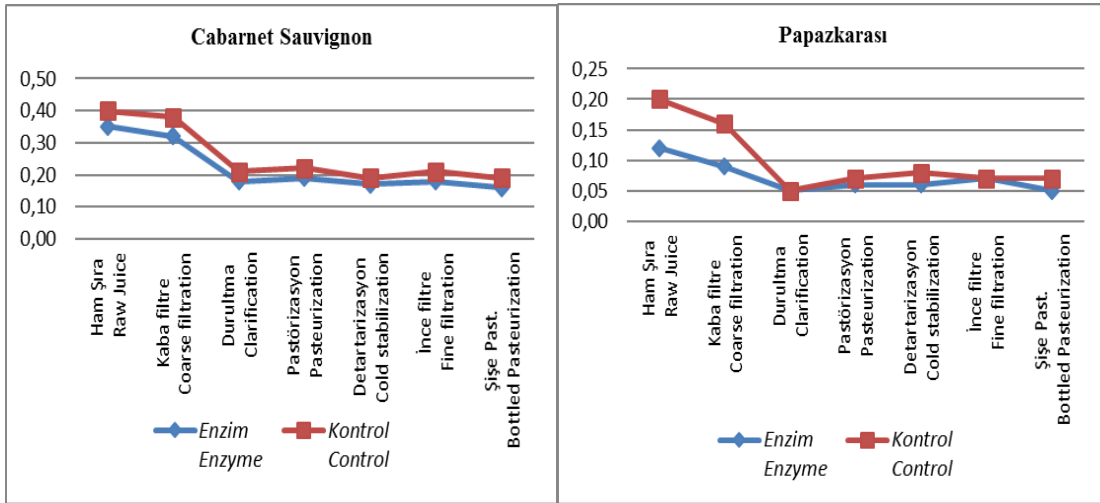
Her iki kırmızı çeşitten üzüm suyu işlemede enzim uygulamasıyla ABTS antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde de düşüş olurken, uygulama

ortalamaları arasında oluşan fark her iki çeşitte de istatistik açıdan önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Kırmızı üzüm suyu işleme sürecinde başlangıç

değerlerine göre ABTS antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde kaba filtrasyon işlemiyle bir miktar yükseliş, durultma işlemiyle de bir miktar düşüş olduğu görülmekle birlikte bu değişimler dar sınırlarda gerçekleşmiştir. Üzüm suyu konsantresi üretim sürecinin incelendiği benzer bir çalışmada antioksidan/antiradikal aktivite değerlerinde proses esnasında stabil bir davranış görüldüğü bildirilmiştir (Gollücke vd., 2009). Çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmiştir.

İstatistik analiz sonuçları da bunu doğrular nitelikte olup proses basamağı faktöründe ABTS antioksidan/antiradikal aktivite değişimi ve ikili faktör interaksyonu da (proses basamağı x uygulama) istatistik açıdan önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur.

Üzüm suyu örneklerinin işleme sırasında toplam antosiyanin miktarında meydana gelen değişimler Şekil 6'de görülmektedir.



Şekil 6. Üzüm suyu üretim sürecinde toplam antosiyanin (mg ME/mL) değişimi
Figure 6. The change of total anthocyanin (mg ME/mL) during processing of grape juice

Cabernet Sauvignon çeşidi üzüm sularının Papazkarası çeşidinden elde edilen üzüm suyuna göre daha yüksek antosiyanin içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Enzim uygulaması yine toplam antosiyanin miktarına da negatif bir etki yaparken, istatistik olarak da uygulamalar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Sacchi vd., (2005), bazı enzimlerin antosiyaninleri daha az stabil aglikon bileşiklerine dönüşürebildiğini bu nedenle renk kayıplarının oluşabildiğini, özellikle pektinaz kullanımında polimerik pigment oluşumunun arttığını belirtmişlerdir. Amarowicz vd., (2009), meyve sebze işleme teknolojisinde kullanılan bazı enzim preparatlarının pigment ekstraksiyon verimini arttırmaları beklenirken, preparatın diğer bazı aktivitelerine bağlı olarak şarap ve meyve sularında antosiyaninlerin hidrolizine yol açabileceklerinin, bunda pigment düzeylerinde azalmalara neden olduğunu bildirmişlerdir.

Kırmızı üzüm suyu işleme sürecinde proses aşamalarında toplam antosiyanin değerlerinde meydana gelen değişim istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu süreçte en önemli değişim/kayıp durultma aşamasında meydana gelmiş olup, durultma sonrası proses basamaklarında ise önemli bir değişimin olmadığı görülmüştür. Capanoğlu vd., (2013), çalışmalarında üzüm suyunda ileri derecede antosiyanin kaybının durultma ve filtrasyon aşamasında, muhtemelen tortuların adsorbsiyonu veya çökeltmesi sonucu meydana geldiğini belirtmiştir. Çalışmamızda da benzer olarak durultma aşamasındaki önemli düzeyde antosiyanin kayıpları dikkat çekmiştir. Genel olarak her iki çeşitten de kırmızı üzüm suyu işleme sürecinde toplam antosiyanin miktarında yaklaşık % 50 civarında bir kayıp olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak, kırmızı üzüm suyu üretim sürecinde durultma ve kaba filtrasyon işlem basamaklarının incelenen özelliklerde kayıplara yol açtığı görülmüştür. Genel olarak işleme süreci boyunca resveratrol miktarında yükselmelerin olduğu tespit edilmiş, bunun piceid formdan enzimatik hidroliz sonucu meydana gelen resveratrol artışı olduğu değerlendirilmiştir. Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin proses boyunca daha stabil kaldığı görülürken, toplam antosiyanin miktarında yaklaşık % 50 civarında bir kayıp olduğu tespit edilmiştir. Toplam antosiyaninde en yüksek kayıplar durultma basamağında meydana gelmiştir. Kırmızı üzüm suyu üretiminde mayşe ısıtma esnasında uygulanan enzim preparatının sağladığı şıra/meyve suyu randımanı artışına bağlı olarak, resveratrol ve biyoaktif özelliklerde seyreltme etkisi meydana getirdiği görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından desteklenen TAGEM/HSGYAD/13/A05/P01/25 nolu projenin bir bölümüdür.

KAYNAKLAR

Adıgüzel, B.Ç. (2007). Bazı bölgelerimizde üretilen şrapların resveratrol düzeyleri ve bölgelerin ekolojik koşullarının resveratrol içeriği üzerine etkileri. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Amarowicz, R., Carle, R., Dongowski, G., Durazzo, A., Galensa, R., Kammerer, D., Maiani, G. and Piskula, M.K. (2009). Influence of postharvest processing and storage on the content of phenolic acids and flavonoids in foods. *Mol Nutr Food Res*, 53(S2), pp.S151-S183.

Anonymous (2010). Ultra-High-Speed Analysis of Polyphenols in Wine. Nexera Application Data Sheet No.11, Shimadzu Corporation.

Bavaresco, L., Lucini, L., Busconi, M., Flamini, R., De Rosso M. (2016). Wine Resveratrol: From the Ground Up. *Nutrients*, 8(4): 222.

Bavaresco, L., Mattivi, F., De Rosso, M., Flamini, R. (2012). Effects of elicitors, viticultural factors, and enological practices on resveratrol and

stilbenes in grapevine and wine. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 12(13): 1366-1381.

Capanoglu, E., de Vos, R.C., Hall, R.D., Boyacioglu, D., Beekwilder, J. (2013). Changes in polyphenol content during production of grape juice concentrate. *Food Chem*, 139(1): 521-526.

Cemeroğlu B (2007). Gıda analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, Türkiye, 657 s. ISBN: 978-975-98578-3-7.

Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am J Clin Nutr*, 81(1): 223-229.

Dani, C., Oliboni, L.S., Vanderlinde, R., Bonatto, D., Salvador, M., Henriques, J.A.P. (2007). Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically-or conventionally-produced grapes. *Food Chem Toxicol*, 45(12): 2574-2580.

Garzón, G.A., Wrolstad, R.E. (2009). Major anthocyanins and antioxidant activity of Nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*). *Food Chem*, 114(1): 44-49.

Göllüce, A.P.B., Catharino, R.R., de Souza, J.C., Eberlin, M.N., de Queiroz Tavares, D. (2009). Evolution of major phenolic components and radical scavenging activity of grape juices through concentration process and storage. *Food Chem*, 112(4): 868-873.

Gülcü, M. (2016). Bazı üzüm çeşitlerinin resveratrol ve biyoaktif özelliklerine ürün işleme ve depolamanın etkisi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 184 s.

Gülcü, M., Demirci, A.Ş., Güner K.G. (2008). Siyah üzüm; zengin besin içeriği ve sağlık açısından önemi, Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 179-182 s.

Karadeniz, F. (2000). Üzümlerde ve şaraplarda resveratrol oluşumu. *GIDA* 25(2): 113-119.

Kulcan, A.A., Öziyici, H.R., Tetik, N., Karhan, M. (2015). Changes in turbidity, total phenolic and anthocyanin contents of clear red grape juice

- during processing. *GIDA* 40(6): 311-317, doi: 10.15237/gida.GD15029.
- La Torre, G. L., Laganà, G., Bellocco, E., Vilasi, F., Salvo, F., Dugo, G. (2004). Improvement on enzymatic hydrolysis of resveratrol glucosides in wine. *Food Chem*, 85(2):259-266.
- Lachman, J., Šulc, M., Faitová, K., Pivec, V. (2009). Major factors influencing antioxidant contents and antioxidant activity in grapes and wines. *International Journal of wine research*, 1 (1): 101-121.
- Lamuela-Raventós, R.M., Romero-Perez, A.I., de la Torre-Boronat, M.C. (2001). Physiological properties of resveratrol isomers in wine: Compositional changes during processing. In: *Polyphenols, Wine and Health*, Springer Netherlands, pp. 123-137.
- LeBlanc, M.R. (2006). Cultivar, juice extraction, ultra violet irradiation and storage influence the stilbene content of muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.). Ph.D. Dissertation, Louisiana State University, LA, the USA, 112 p.
- Morris, J.R., Brady, P.L. (2004). The muscadine experience: adding value to enhance profits (Vol. 974). Arkansas Agricultural Experiment Station.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9): 1231-1237.
- Romero-Perez, A.I., Ibern-Gomez, M., Lamuela-Raventós, R.M., Torre-Boronat, M.C. (1999). Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J Agricult Food Chem*, 47(4): 1533-1536.
- Sacchi, K.L., Bisson, L.F., Adams, D.O. (2005). A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 56(3): 197-206.
- Tříška, J., Balík, J., Strohalm, J., Novotná, P., Vrchotová, N., Lefnerová, D., Landfeld, A., Híc, P., Tománková, E., Veverka, J. and Houška, M. (2016). Influence of technological processes on biologically active compounds of produced grapes juices. *Food and bioprocess technology*, 9(3): 421-429.
- Vrhovsek, U., Wendelin, S., Eder, R. (1997). Effects of various vinification techniques on the concentration of cis-and trans-resveratrol and resveratrol glucoside isomers in wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 48(2): 214-219.
- Waterhouse, A.L. (2002). Determination of total phenolics. Current Protocols in Food Analytical Chemistry I1.1.1-I1.1.8 John Wiley & Sons, Inc.