

## **Kaliteli Kırmızı Şaraplarda Bazı Antioksidan Fenolik Bileşikler**

Ebru Kızılet, R.Ertan Anlı\*

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Müh. Bölümü, Ankara

\* anliertan@yahoo.com

### **Özet**

Çalışmada, Ankara Üniversitesi Deneme Bağı'ndan 2003 hasat döneminde elde edilen Merlot, Pinot Noir, Syrah, Carignan ve Cabernet Sauvignon üzüm çeşitlerinden, yine Ankara Üniversitesi Şarap İşletmesi'nde mikrovinifikasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda *trans*-resveratrol, kuersetin, kateşin, epikateşin gibi antioksidan özellik gösteren fenolik bileşenler GC-MS (gaz kromatografisi kütle spektrometresi) yöntemleri kullanılarak saptanmıştır. İspanyol kökenli üzüm çeşidi Carignana (Carignan), Fransız kökenli üzüm çeşitleri Merlot, Pinot Noir, Cabernet Sauvignon ve İran kökenli, günümüzde dünya çeşidi haline gelen Syrah, şaraplık kalitelerini kanıtlamış üzümlerdir.

**Anahtar kelimeler:** GC-MS, antioksidan, şarap, fenolik bileşikler

### **Giriş**

Kırmızı şarabın fenolik bileşenleri ve bunların sağlık üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar son yıllarda giderek artmaktadır. Fenolik bileşenlerin özellikle kırmızı şarapta önemli fonksiyonları vardır. Şarapların acı ve buruk tadı, rengi ve antioksidan etkisi bu bileşenlerden ileri gelmektedir. (1, 2). Şarabın fenolik bileşen miktarı ve dağılımı; üzüm çeşidi, üretim sırasında uygulanan işlemler, iklim koşulları yıllandırma süresi ve sıcaklığı ile değişiklik göstermektedir (3).

Şarap polifenollerinin antioksidan olarak en önemli rolleri; serbest radikal yokedici etkileri, LDL oksidasyonunu önleme güçleri, hücreleri oksidatif strese karşı koruma özellikleri ve toplam kan antioksidan aktivitesini geliştirme yetenekleriyle açıklanmaktadır (4). Fransa'da yüksek doymuş yağ tüketimine rağmen kalp damar hastalıklarından ölüm oranının düşük olması "Fransız Paradoksu" olarak adlandırılmış ve bu durum yüksek şarap tüketimine bağlanmıştır (5).

Fenolik bileşenler üzerine yapılan çalışmalarda daha çok HPLC tekniklerinin kullanıldığı görülmektedir. Ancak son zamanlarda GC (gaz kromatografisi) yöntemleri de kullanılmaya başlanmıştır.

### **Materiyal ve Yöntem**

Çalışmada, kaliteli kırmızı şarap için beş farklı yabancı üzüm çeşidinden eşit koşullarda kontrollü mikrovinifikasyon yöntemiyle üretilen şaraplar kullanılmıştır.

Ekstraksiyon: Dietileter ve etil asetat kullanılarak şarap flavonoid fraksiyonu ve şarap fenolik asit fraksiyonu elde edilmiştir (6).

Türevlendirme: Fenolik asit ve flavonoid fraksiyonları TMS (trimetilsilil) türevleri elde edilmiştir (7).

GC-MS analizleri: Fenolik madde analizleri, Shimadzu Model QP 5000 GC-MS cihazı ve 30m x 0,25mm i.d., 0,25µm boyutlarındaki TC-5 kapiler kolon ile yapılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1,5 mL/dak. akış hızında helyum gazı kullanılmıştır. Türevlendirilmiş ekstrakt, 1 µL olarak, tam tarama modunda 50-700 amu aralığında gaz kromatografisi kütle spektrometresi dedektörü (GC-MSD)'ne enjekte edilmiştir. Kalitatif olarak kumarik asit, gallik asit, ferulik asit, kafeik asit, *trans*-resveratrol, epikateşin, kateşin ve kuersetin tayin edilmiştir. Kantitatif olarak ise, *trans*-resveratrol, epikateşin, kateşin ve kuersetin tayin edilmiştir. Kalitatif tayinde aygıtın WILEY Kütüphanesi'nden yararlanılmıştır. GC sıcaklık programı Çizelge 1'de görülmektedir (8).

Çizelge 1. GC sıcaklık programı

GC sıcaklık programı; enjektör, 280 °C; detektör, 320 °C; fırın dengeleme zamanı, 1,0 dak.; başlangıç sıcaklığı, 80 °C; başlangıç zamanı, 1 dak.			
Seviye	Oran (°C/dak.)	Son sıcaklık (°C)	Bitiş zamanı (dak)
1	20.0	250	1.0
2	6.0	300	2.0
3	20.0	320	4.0
Toplam analiz süresi: 25.8 dak.			

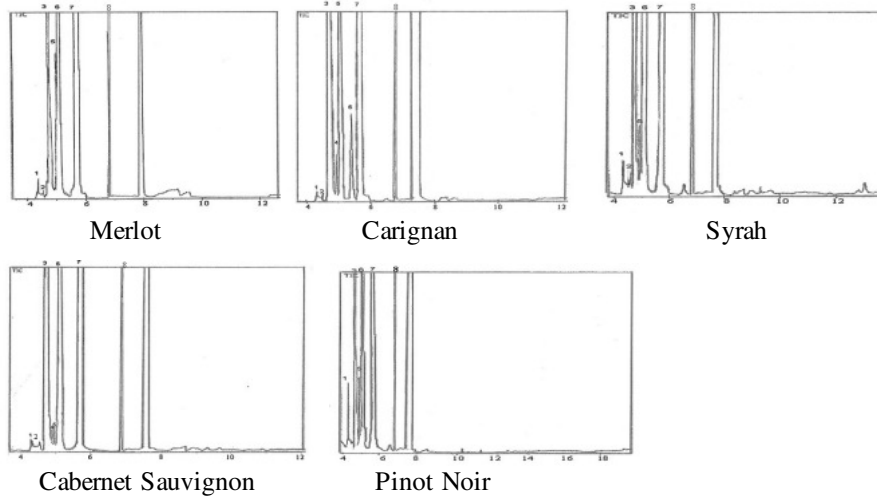
Çizelge 2. Çeşit şaraplarında belirlenen bazı fenoller

Çeşit	N	Kateşin		Epikateşin		Kuersetin		<i>t</i> -resveratrol	
		Ort.	±Std S.	Ort.	±Std. S.	Ort.	±Std S.	Ort.	±Std S.
Merlot	3	10.15B	0.076	8.52B	0.180	3.14A	0.023	2.52B	0.075
Carignan	3	9.6C	0.057	5.5D	0.115	3.11A	0.011	1.56C	0.047
Syrah	3	11.3A	0.057	9.42A	0.039	2.78B	0.015	3.93A	0.043
Pinot Noir	3	8.72E	0.060	9.58A	0.133	2.66C	0.018	0.96D	0.058
Cabernet Sauvignon	3	9.32D	0.039	7.61C	0.257	2.83B	0.012	1.08D	0.005

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen iki ortalama arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0.01).

### Bulgular ve Tartışma

Merlot, Carignan, Syrah, Cabernet Sauvignon ve Pinot Noir şaraplarının GC-MS kromatogramları Şekil 1'de sırasıyla verilmiştir. Buna göre; kumarik asit (1), gallik asit (2), ferulik asit (3), kafeik asit (4), *trans*-resveratrol (5), epikateşin (6), kateşin (7) ve kuersetin (8) olacak şekilde numaralandırılmıştır.



Şekil 1. Şarapların GC-MS kromatogramları

Çeşit şarapları kendi aralarında fenolik bileşen düzeyi bakımından değerlendirildiğinde farklılıklar gözlenmiştir. Örneğin Pinot Noir'da epikateşin, Merlot'da kuersetin, Syrah'da ise kateşin ve *trans*-resveratrol daha ön plana çıkmaktadır. Kateşin miktarları bakımından şaraplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir. Bununla birlikte epikateşin miktarları bakımından Syrah (9.42 mg/L) ve Pinot Noir (9.58 mg/L) arasındaki fark önemli değildir. *Trans*-resveratrol miktarları göz önüne alındığında aynı durum, Pinot Noir (0.96 mg/L) ve Cabernet Sauvignon (1.08 mg/L) şarapları için geçerlidir. Kuersetin miktarı bakımından ise; Merlot (3.14 mg/L) ve Carignan (3.11 mg/L) ile Syrah (2.78 mg/L) ve Cabernet Sauvignon (2.83 mg/L) şarapları arasındaki fark önemli değildir. Çalışmamızda elde edilen örneklerde kateşin ve epikateşin düzeyinin yabancı ülkelerdeki eşdeğer örnek ortalamalarından daha düşük, kuersetin ve *trans*-resveratrol düzeyinin ise ortalama değerler gösterdiği belirlenmiştir. Nitekim, Merlot, Cabernet Sauvignon ve Pinot Noir şaraplarıyla yapılan çalışmada *trans*-resveratrol miktarları 0.85-2.50 mg/L, kuersetin miktarları ise 2-5.26 mg/L arasında saptanmış ve *trans*-resveratrol ve kuersetin miktarlarının çeşitler arasında benzer sınırlar içinde farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada, Merlot, Cabernet Sauvignon ve Pinot Noir

## Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

şaraplarında epikateşin düzeyleri sırasıyla; 50 mg/L, 25 mg/L ve 82 mg/L olup, şarap çeşitleri arasında epikateşin miktarı bakımından benzer şekilde önemli farklılıklar gözlenmiştir (4). Carignan şarabı üzerine yapılan bir araştırmada kateşin miktarının benzer şekilde geniş bir aralıkta (4.4-23.4 mg/L) değiştiği saptanmıştır (9). Genel olarak belirtilen çeşitlerin Ankara koşullarına iyi adapte oldukları, kaliteli şarap verdikleri, antioksidanları literatürlerdeki aralıklarda bulduklarını sonucuna varılabilir. Diğer yandan, GC-MS yönteminin HPLC ile yapılan benzer çalışmalara alternatif olduğu da söylenebilir.

### **Sonuç**

Çalışma Türkiye koşullarına adapte edilen kaliteli yabancı çeşitlerin fenolik yapılarının karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve fenolik bileşenlerin GC-MS yöntemi ile başarı ile saptanabilirliğini desteklemesi bakımından önemlidir. Elde olunan veriler Türkiye'de şarap kimyası üzerine yapılabilecek bundan sonraki çalışmalarda yol gösterici nitelikte olacaktır.

### **Kaynaklar**

- 1) Aktan N, Kalkan H. 2000. *Şarap Teknolojisi*. Kavaklıdere Eğitim Yayınları No:4, 614 s, Ankara.
- 2) Anlı E. 2004. Farklı şarap işleme yöntemlerinin Kalecik Karası şarabının fenol bileşimi ve antioksidan kapasitesi üzerine etkisi. *Gıda*, 29: 451-455.
- 3) Gómez-Plaza E, Gil-Muñoz R, López-Roca JM, Martínez-Cutillas A, Fernández-Fernández JI. 2002. Maintenance of colour composition of a red wine during storage. Influence of prefermentative practices, maceration time and storage. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 35: 46-53.
- 4) Soleas GJ, Dam J, Carey M, Goldberg DM. 1997. Toward the fingerprinting of wines: Cultivar-related patterns of polyphenolic constituents in Ontario Wines. *J. Agr. Food Chem*, 45: 3871-3880.
- 5) Renaud S, De Lorgeril M. 1992. Wine, alcohol, platelets and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, 339: 1523-1526.
- 6) Gómez-Cordovés C, Bartolomé B, Vieira W, Virador VM. 2001. Effects of wine phenolics and sorghum tannins on tyrosinase activity and growth of melanoma cells. *J. Agr. Food Chem*, 49: 1620-1624.
- 7) Antonelli A, Fabbri C, Lercker G. 1996. Techniques for resveratrol silylation. *Chromatographia*, 42: 469-472.
- 8) Soleas GJ, Diamandis EP, Karumanchiri A, Goldberg DM. 1997. A multiresidue derivatization gas chromatographic assay for fifteen phenolic constituents with mass selective detection. *Anal. Chem*, 69: 4405-4409.
- 9) Landrault N, Poucheret P, Ravel P, Gasc F, Cros G, Teissedre PL. 2001. Antioxidant capacities and phenolic levels of French wines from different varieties and vintages. *J. Agr. Food Chem*, 49: 3341-3348.