

FABAD Farm. Bil. Der.  
15,107-112, 1990

FABAD J. Pharm. Sci.  
15,107-112, 1990

## Trakya Kaynaklı Şarapların Flavonoit İçeriği \*\*

Erendiz ATASÜ (\*)  
Vesile CİHANGİR (BUKET)

**Özet:** *Trakya kaynaklı şaraplar flavonoit içeriği yönünden araştırılmış; beyaz şarapların flavonoit taşımadığı; kırmızı şarapların mirisetol, kersetol, kemferol flavonollerini içerdiği, major bileşiğin kersetol olduğu tesbit edilmiştir. Kersetol üzerinden hesaplanan total flavonol miktarı 5.95 mg/lt; kersetol miktarı ise 4.6 mg/lt olarak bulunmuştur.*

### THE FLAVONOID CONTENT OF WINES FROM "TRAKYA" REGION

**Summary:** *Wines of Trakya origin were screened for flavonoid contents; white wines were found not to carry flavonoids; whereas red wines contained flavonols such as myricetin, quercetin, and kaempferol. The major flavonol was quercetin. Total flavonol assay calculated over quercetin was 5.95 mg/lt; and quercetin assay was 4.6 mg/lt.*

**Key Words:** *Red wine, flavonol, quercetin, kaempferol, myricetin, total flavonol assay.*

### GİRİŞ

"Taze üzüm (*Vitis vinifera* L.) şirasının fermantasyonu ile elde edilen alkollü bir içki" \*\*\* olarak tanımlanan şarap hem tonik hem de çözücü olarak TK 1948, Pharmacopée Française VIII

ed. 1965, Pharmacopoea Helvetica Ed. Sexta 1971, The Pharmacopoeia of Japan Ninth Ed. 1976 gibi çeşitli kodeks ve farmakopelerde kayıtlıdır.

Tarihi m.ö. 3500 yıllarına ve Asur uygarlığına dayanan şarapçılık

Başvuru Tarihi: 1.9.1989

Kabul Tarihi: 3.2.1990

(\*) A.Ü. Eczacılık Fak. Farmakognozi Anabilim Dalı.

(\*\*) Vesile Cihangir'in A.Ü. Eczacılık Fak. Farmakognozi Anabilim Dalında 1985'de hazırladığı "Şarap Flavonoitlerinin İncelenmesi" konulu Yüksek Lisans tezinden.

(\*\*\*) Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı "Gıda Maddeleri ve Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazım Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük", Madde 483 (1952).

ülkemizde Cumhuriyetten sonra ilerleme kaydetmiştir (I). Gene de, 590.000 hektar bağ alanı olan Türkiye'de üretilen 3.350.000 ton üzümü yalnızca % 1.5-2'si şarap üretiminde kullanılmaktadır.\*\*

Bugüne değin yürütülmüş kimyasal çalışmalar, şarabın bileşiminde alkoller, organik asitler, ozlar ve şarabın özlet tad ve kokusunu veren aromatik ve terpenik yapıdaki uçucu bileşikler (BOUQUET bileşikleri) yanında (1, 2, 3, 4), mineraller, gazlar, fenolik bileşiklerin bulunduğunu ortaya koymuştur. Fenolik bileşikler arasında tanen ve kateşoller (3, 5, 6), fenolik asitler (3, 7, 8), antosiyanidoller (9, 10, 11), lökoantosiyanidoller (11, 12, 13) ve flavonoidler (3, 6, 14, 15) saptanmıştır. Çeşitli şaraplarda kersetol (3, 6, 14, 15), kemferol (3, 14, 15, 16), mirisetol (3, 14, 15), izokersitrin (17, 18, 19), kersitrin (6, 17, 18), izoramnetol 3-glikozit (20) gibi flavonoidler bulunmuştur.

Türk şaraplarının flavonoid içeriği üzerine herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu araştırmada Trakya kaynaklı şarapların, ilaç hammaddesi olarak önem kazanan flavonoidler yönünden incelenmesi verilmektedir.

### GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Trakya yöresinin kırmızı ve beyaz şaraplarıyla başlandı; beyaz şarabın flavonoid taşımadığı görülünce kırmızı şarapla devam edildi.

Flavonoid renk reaksiyonlarının engellenmesini önlemek için antosiyanidol taşımayan ekstratlarla çalışmak gerekiyordu. Bu amaçla şarabın 2 N HCl ile hidrolizinin ardından flavonoid aglikonları etere çekildi. Antosiyanidoller etere geçmemekteydi. Deneysel eterli ekstrat üzerinden yapıldı. Flavonoidler, karakteristik renk reaksiyonları; tanık flavonoidlerle birlikte yürütülen tek ve çift boyutlu İTK uygulamaları ile; preparatif İTK ile izole edilen major bileşik kersetol karakteristik UV absorpsiyon bantlarıyla tanındı. Total flavonoid ve kersetol miktar tayinleri gerçekleştirildi.

Renk Reaksiyonları: Schinoda, Nötral Kurşun asetat ve Amonyak testleri uygulandı (21).

İTK: Stahl'a göre (22) hazırlanan Mikrokrystal Seluloz (Merck) adsorbantı ile kaplanmış 20x20 cm boyutlarında plaklar kullanıldı.

Tek boyutlu İTK solvanı: Kloroform-Asetik Asit-Su 50-45-5

Çift boyutlu İTK solvanları: i) İzomil alkol-Asetik Asit-Hekzan-Su 3-1-3-3; alt faz (18).

ii) t-amil alkol-Su 1-1- üst faz.

Revelasyon: Lekeler  $AlCl_3$  belirteci ile; preparatif çalışmalarda ise amonyak buharı uygulanmasıyla görünür hale geçirildi. Plaklar uygulamalardan önce ve sonra gün ışığında ve 366 nm UV'de incelendi.

(\*\*) DİE Üretim İstatistikleri

Total Flavonoit (Flavonol) Miktar Tayini: 100 ml kırmızı şarap yedi kez 50'şer ml eterle ekstre edildi.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  üzerinden kurutulmuş eterli kısım  $35^\circ\text{C}$ 'de 3 ml'ye yoğunlaştırıldı. 500  $\mu\text{l}$  eterli ekstre preparatif İTK'da temizlendi ve flavonol bantı spektroskopik metanolla elue edildi. 10 ml'ye tamamlanan eluatın 370 nm'deki UV absorbansı, konsantrasyon-absorbans korelasyonunun geçerli olduğu 0.01 mg-0.1 mg/10 ml aralığında Pye Unicam Sp 8-100 UV spektrofotometresinde ölçüldü ve tanık kersetol'un konsantrasyon aralığında çizilmiş kalibrasyon eğrisi üzerinden hesaplama yapıldı.

Kersetol İzolasyonu ve Miktar Tayini: 500  $\mu\text{l}$  eterli flavonoit (flavonol) ekstresi preparatif İTK'da ayrıldı. Adsorban = Mikrokrystal Seluloz; Solvanlar: i: İzo Amil Alkol-Asetik Asit-Hekzan-Su 3-1-3-3; alt faz

ii: Kloroform-Asetik Asit-Su 50-45-5 Kersetol bantı spektroskopik metanolla elue edildi. Metanollü eluatın UV absorbans bantları MABRY (23)'nin kersetol için verdiği değerlere uymaktaydı (255, 270, 300, 370 nm; maksimum absorbans 370 nm). 10 ml'ye tamamlanan eluatın 370 nm'deki UV absorbansı PYe Unicam SP 8-100 UV spektrofotometresinde ölçülüp, konsantrasyon tanık kalibrasyon eğrisi üzerinden hesaplandı.

## BULGULAR

Yapılan renk reaksiyonları ve İTK beyaz şarapta flavonoit bulunmadığını gösterdi.

Kırmızı şarabın 2N HCl (1:4) ile hidrolizinden önce ve sonra hazırlanan ince tabaka kromatogramlarında flavonoidlere ait leke adedinin,  $R_f$  değerlerinde ve lekelerin renk şiddetinde hiç bir değişikliğin kaydedilmemesi kırmızı şarap flavonoidlerinin heterozit değil, aglikon yapısında olduğunu belirtiyordu. Şarabın hidrolizden önce ve sonra etere çekilmesiyle hazırlanan antosiyanidolsüz flavonoit ekstraları İTK açısından tümüyle idantik idi. Antosiyanidolsüz flavonoit ekstralarının Schinoda reaksiyonu (21) karakteristik gül kırmızısı renk vermesi aglikonlarının flavonol yapısında olduğunu ortaya koydu.

### İTK Sonuçları:

#### 1. Çift boyutlu İTK:

Adsorban: Mikrokrystal Selüloz

1. Solvan: İzo Amil Alkol-Asetik Asit-Hekzan-Su 3-1-3-3; alt faz

Sonuç: Flavonol karışımı büyük sarı bir leke olarak ayrıldı.

2. Solvan: t-Amil Alkol-Su 1-1; üst faz

Sonuç: Kersetol, Kemferol lekeleri ayrıldı.

2. a) Adsorban: Mikrokrystal Selüloz

Solvan: İzo Amil Alkol-Asetik Asit-Hekzan-Su 3-1-3-3; alt faz

Sonuç: Total flavonol lekesi

b) Total flavonol lekesinin Mikrokrystal Selüloz plağından metanol ile elusyonu

c) Total flavonol eluatının İTK'ya uygulanması

Adsorban: Mikrokristal Selüloz

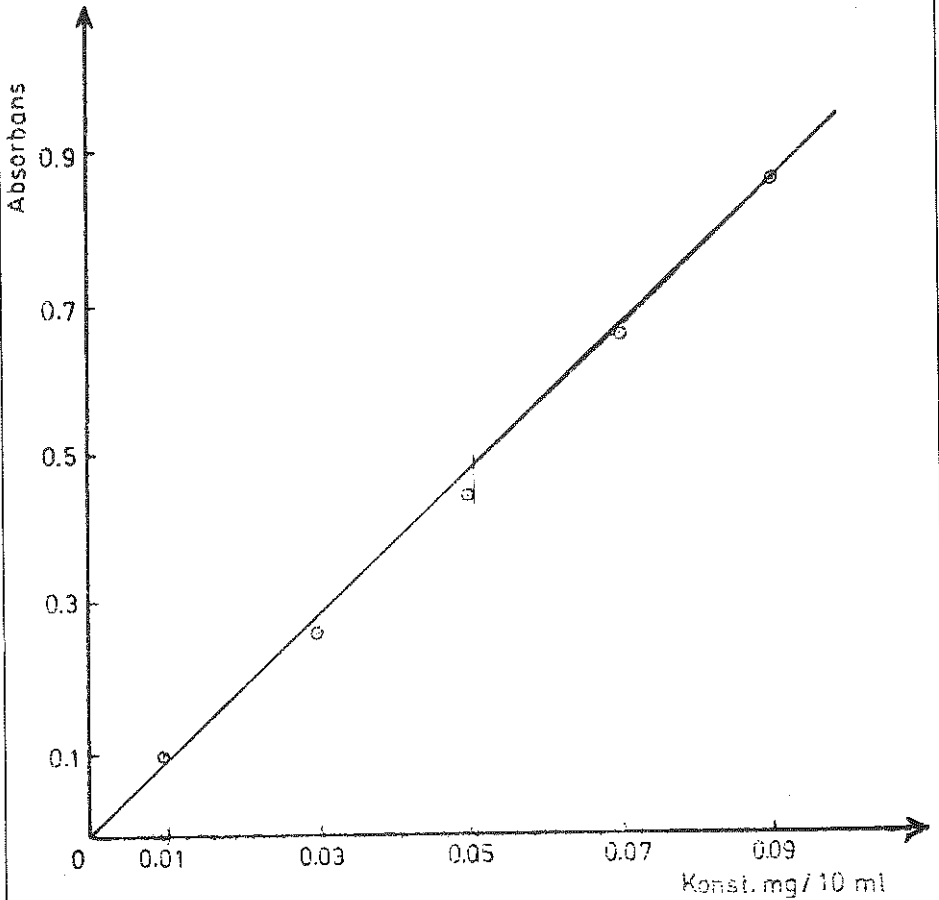
Solvan: Kloroform-Asetik Asit-Su  
50-45-5

Sonuç: Mirisetol (Rf 0.06);  
Kersetol (Rf 0.26); Kemferol (Rf 0.67)

**Kersetol İzolasyonu ve Miktar Tayini**

Çift boyutlu preparatif İTK'nın

birinci aşamasında ayrılan flavonol karışımı preparatif İTK'ya (Adsorban: Mikrokristal Selüloz; Solvan: Kloroform-Asetik Asit-Su 50-45-5) uygulandı. Rf 0.26'daki bant spektroskopik metanolle elue edildi. Eluatın 370 nm'deki (23) spektroskopik tayini sonucu total kersetol miktarı 4.60 mg/lit olarak bulundu (Şekil 1).



Şekil 1 - Kersetolün Kalibrasyon Eğrisi

### Total Flavonoit (Flavonol) Miktar Tayini:

Çift boyutlu İTK'nin birinci aşamasında ayrılan total flavonol bandı spektroskopik metanolle elue edildi. Eluatın tanık kersetol karşısında 370 nm'deki UV absorbansının ölçülmesiyle kersetol üzerinden total flavonol miktarı 5.95 mg/lt olarak tayin edildi (Şekil 1).

#### KAYNAKLAR

1. Akman, A.V., Yazıcıoğlu, F., Şarap Kimyası ve Teknoloji, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara 1960.
2. Aktan, N. "Şarabın Bileşimini Meydana Getiren Unsurların Kaliteye Etkisi ve Türk Şaraplarının Durumu" Ege Üniv. Ziraat Fak. Der. (Seri A) , 10 (I), 189-201, 1973.
3. Amerine, M.A., Berg, H.W., The Technology of Wine Making, 2nd Ed., The Av. Publishing Co. Inc., Wespert 1967.
4. Pisarnitskii, A.F., "Some Bouquet Materials of Wine", Vinodel Vinogradorstua SSSR, 26 (3), 9-11 1966; Ref: C.A. 65, 4612 1966.
5. Bouchava, M.A., Valuiko, G.G., Flippov, A.M., "Catechols in Grapes and Red Table Wines", Prikl. Biokhim. Mikrobiol. 6 (3), 333-7, 1970, Ref. C.A. 73, 65000 b 1970.
6. Bouchava M.V., Voluiko, G.G., Strua, Z. Sh., "Presence of Phenolic Substances in Wines Prepared by Different Processes", Sadavod. Vinograd. Vinodel Mold., 26 (9), 25-7, 1970; Ref. C.A. 76, 70986 u 1972.
7. Miskov, O., Bourzeix, M., "Individual Isolation of Phenolic Acids and Catechins and Dansitometric Evaluation of Their Respective Quantity in Must and Juice of Red and White Grapes and White Wines", Int. Symp. Chromatogr. Electrophor. Lect. Pap, 6th, 481-7, 1970; Ref. C.A., 78, 146248 u 1973.
8. Henning, K., Burkhardt, R., "Detection of Phenolic Compound and Hydroxy Acids in Grapes, Wines and Similar Beverages", Amer. J. Enol. Viticult., 2 (II), 64-79, 1960.
9. Demonda, F., "Extraction of Anthocyanins from Vegetable Substances" L.T.S.U., 2, 309, 612, 20 Nov. 1976; Ref. C.A., 87, 2600 r 1977.
10. Durmishidze, S.B., "Tannins and Anthocyanins in the Grape Vine and Wine", Amer. J. Enol Vitcult., 10 (I), 20-8, 1959.
11. Ribereau-Gayon, J., Ribereau-Gayon, P., "The Anthocyanins and Leucoanthocyanins of Grapes and Wines", Amer. J. Enol. Vitcult., 9, 1-9, 1958.
12. Bourzeix, M., "Leucoanthocyanins of Grapes and White Wines", C.R. Hebd. Seances, Acad. Agr. Fr., 56 (13), 983-6, 1970; Ref: C.A., 74, 98147 d 1971.
13. Strua, Z.S., Bouchava, M.A., Valuika G.G., "Leucoanthocyanins of Grape and Wine" Prikl. Biokhim. Mikrobiol., 9 (I), 94-8, 1973; Ref. C.A. 78, 134470 x 1973.
14. Rebereau-Gayon, P., "Phenolic Compounds of Grape and Wine. Flavonoid Compounds and Anthocyanines", Anal. Physual. Vegetable, 6 (3), 211-42, 1964; Ref. C.A., 63, 2355 h 1965.
15. Christensen, E.N., Caputi, A.I., "The Quantitative Analysis of

Flavonoids and Related Compounds in Wine by Gas-Liquid Chromatography", *Amer. J. Enol. Viticult.*, 19 (4), 238-45, 1968.

16. Bourzeix, M., "Le Dosage des Flavonols du Vin ed des Extraits de Raisin", *Ann. Technol. Agric.*, 16 (4), 349-355, 1967.

17. Bouchava, M.V., Valuiko, G.G., Ulyanova, M.S., Sturua, Z.Z., "Assay of Grape and Wine Flavonols by Thin-Layer Chromatography on Cellulose", *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 7 (4), 503-6, 1971; Ref. C.A. 75, 97237 s 1971.

18. Bourzaix, M., Baniol, P., "L'isolement des Flavonols du Vin par Chromatographie sur Couche Mince de Cellulose", *Ann. Technol. Agric.* 15 (2), 211-17, 1966.

19. Strua, Z.S., Ulyanova, M.S., "Determination of Flavonols in Wines", *Vinodel, Vinograd. SSSR*, 31 (5), 23-4, 1971; Ref. C.A., 75; 150236 u 1971.

20. Wulf, W.L., Nügel, C.W., "Identification and Changes of Flavonoids in Merlot and Cabernet Avignon Wines", *J. Food Sciences*, 45 (3), 479-84, 1980.

21. Geissman, T.A., "Anthocyanins, Chalcones, Aurones, Flavones and Related Water-Souble Plant Pigments", Peach, K. Tracey, M.V. (ed), *Modern Methods of Plant Analysis Vol 3*, Springer-Verlag, Berlin 1955.

22. Stahl, E., "Apparatus and General Techniques in TLC", Stahl, E. (ed), *Thin Layer Chromatography 2. nd. Ed.* Springer-Verlag, Berlin, 1969.

23. Mabry, T.Ö., Markham, K.R., Thomas, M.B., *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, New-York 1970.

24. Harborn, Y.B., Mabry, T.J., Mabry, H., "The Flavonoids", Chapman Hall, London 1975.