

**ÖKÜZGÖZÜ ÜZÜMÜNDEN
ŞARAP ÜRETİMİNDE
FERMANTASYON ŞARTLARININ
ANTİOKSİDAN AKTİVİTE VE POLİFENOLLER
ÜZERİNE ETKİSİ**

Alev AKPINAR BORAZAN
Doktora Tezi

Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Şubat 2008

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Alev AKPINAR BORAZAN'ın "Öküzgözü Üzümünden Şarap Üretiminde Fermantasyon Şartlarının Antioksidan Aktivite ve Polifenoller Üzerine Etkisi" başlıklı Kimya Mühendisliği Anabilim Dalındaki Doktora Tezi, 04.02.2008 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı- Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı):	Yard. Doç.Dr. BERRİN BOZAN
Üye	: Prof. Dr. NURAN AY
Üye	: Prof. Dr. ERCENGİZ YILDIRIM
Üye	: Prof. Dr. METE KOÇKAR
Üye	: Yard. Doç. Dr. NEZİHE AZCAN

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

DOKTORA TEZİ

ÖKÜZGÖZÜ ÜZÜMÜNDEN ŞARAP ÜRETİMİNDE FERMANTASYON ŞARTLARININ ANTIOKSİDAN AKTİVİTE VE POLİFENOLLER ÜZERİNE ETKİSİ

Alev AKPINAR BORAZAN

Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Yard. Doç. Dr. Berrin BOZAN
2008, 162 sayfa

Bu çalışmada, farklı fermantasyon ve şarap üretim tekniklerinin Öküzgözü üzümünden üretilen şarabın fenolik bileşen ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir.

Öküzgözü şarabı, doğal (maya ve enzim ilavesiz), klasik (maya ilaveli), enzim ilaveli (maya ve enzim) ve sıcak maserasyon (maya ilaveli, fermantasyondan önce 65°C da 8 sa maserasyon) fermantasyon yöntemleri kullanılarak beş gün 25 °C de, kabuk ve kabuk + çekirdek cibre fermantasyonu ile üretilmiştir. Fenolik bileşikler ve antosiyaninler spektrofotometrik ve YBSK yöntemleri ile belirlenmiştir. Antioksidan aktivite ise DPPH serbest radikal süpürücü aktivite üzerinden değerlendirilmiştir.

Fermantasyonun sonunda, çekirdek ve kabuğun beraber kullanıldığı cibre fermantasyonundan elde edilen şarapların toplam fenolik ve toplam flavanol, sadece kabuğun kullanıldığı şarapların ise antosiyanin bileşiklerince zengin olduğu görülmüştür. En yüksek toplam fenolik bileşen miktarı ve antioksidan aktivite fermantasyon işleminden önce 65°C da 8 saat ön maserasyonun gerçekleştirildiği, sıcak maserasyon işlemi ile elde edilen şaraplarda gözlenmiştir. Fenolik bileşen miktarları ve antioksidan aktivite, fermantasyondan işleminden sonra gerçekleştirilen şarap prosesinin her kademesinden etkilenmişlerdir.

Anahtar Kelimeler: Öküzgözü, Fermantasyon, Fenolik bileşikler, Antosiyanin, Flavanol, Antioksidan aktivite

ABSTRACT

PhD Dissertation

THE EFFECT OF FERMENTATION CONDITIONS ON POLYPHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ÖKÜZGÖZÜ WINES

Alev AKPINAR BORAZAN

Anadolu University
Graduate School Of Sciences
Chemical Engineering Program

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Berrin Bozan
2008, 162 pages

In this study, the effect of different fermentation and winemaking techniques on the phenolic contents and antioxidant activity of okuzgözü wines has been investigated.

Öküzgözü red wines were made by different fermentation techniques such as spontan (without yeast and enzyme addition), classic (with yeast addition), fermentation with enzyme preparation (with yeast and enzyme addition) and heated maceration (with yeast, pre-heating at 65°C for 8 h) with skin and skin+seed contact for five days at 25°C. Phenolic compounds and anthocyanins were determined by spectrophotometric and HPLC methods. Antioxidant activity was evaluated by DPPH free scavenging activity test.

By the end of fermentation, while wines made with seed and skin must contact had more phenolic compounds (total phenolic and total flavanol) than those of made by only skin must contact, anthocyanins were higher in skin must contacted wines. Highest total phenolic content and antioxidant activity were found in wines made by pre-heating at 65°C for 8 h before fermentation. All phenolic compounds were affected by wine making techniques after seed/seed+skin must fermentation.

Keywords: Öküzgözü, Fermentation, Phenolic compounds, anthocyanin, flavanol, Antioxidant activity

TEŞEKKÜR

Danışmanlığımı üstlenen, tezimin gerçekleşmesi için gerekli çalışma ortamını sağlayan, çalışmalarım boyunca beni yönlendiren her aşamada daima anlayış ve yardımlarını gördüğüm danışmanım değerli hocam Yard. Doç. Dr. Berrin BOZAN'a,

Çalışmalarımın her aşmasında büyük ilgi, destek ve yardımlarını gördüğüm değerli arkadaşım Yard. Doç. Dr. Çağlayan AÇIKGÖZ'e,

Doktora çalışmalarım süresince anlayış, destek ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Yard. Doç. Dr. Zakir POYRAZ'a,

Analizlerin yapılmasında emeği geçen B.M.Y.O Gıda Programı Öğretim Görevlisi Ebru GÜNEY'e, Gıda Programı Teknikeri Meral CÖMERT'e, Kimyager Raşide YÖRÜK'e, Kimya Mühendisleri Serkan OBAN'a, Göksel TOSUN'a, Derya ÖZCAN'a, Kimya teknikeri Ebru TUNA'ya ,

Tezimin yazımı aşamasında yardımlarını gördüğüm Makine Programı Öğretim Görevlisi Telat TÜRKYILMAZ ve Bülent TURAN'a,

Her zaman manevi desteklerini gördüğüm Bilecik Üniversitesi M.Y. Okulu çalışanlarına,

Ayrıca her zaman yanımda olan, hoşgörü ve destekleriyle bana güç veren sevgili aileme ve eşim Ferhat BORAZAN'a en içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Alev AKPINAR BORAZAN

Şubat, 2008

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv

1. GİRİŞ	1
2. POLİFENOLLER	5
2.1. Fenolik Asitler	7
2.1.1. Hidroksisünamik asitler	8
2.1.2. Hidroksibenzoik asitler	8
2.2. Flavonoidler	10
2.2.1. Antosiyanidinler	11
2.2.2. Flavon ve flavonoller	13
2.2.3. Flavanonlar	13
2.2.4. Kateşinler ve lökoantosiyadinler	15
2.2.5. İzoflavonlar	17
2.3. Tanenler	18
2.4. Fenolik Bileşiklerin Analizi	20
3. OTOOKSİDASYON VE ANTİOKSİDANLAR	21
3.1. Serbest Radikaller	22
3.2. Yağların Oksidasyonu	24
3.3. Antioksidanlar	27
3.3.1. Sentetik antioksidanlar	27
3.3.2. Doğal antioksidanlar	30
3.3.2.1. Tokoferoller	30

3.3.2.2. Askorbik asit ve tuzları.....	32
3.3.2.3. Fenolik bileşikler ve polifenoller	32
3.3.2.4. Amino asitler, peptidler, proteinler	32
3.4. İdeal Antioksidan Özellikleri	33
3.5. Antioksidan Aktivite Tayini.....	33
3.6. Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayin Yöntemleri.....	34
3.6.1. DPPH radikal testi	34
3.6.2. TRAP testi	34
3.6.3. FRAP testi.....	35
3.6.4. Süperoksit anyon süpürücü.....	35
4. FERMENTASYON.....	36
4.1. Etil Alkol Fermantasyonu	41
5. ŞARAP TEKNOLOJİSİ.....	46
5.1. Şarabın Tanımı	46
5.2. Üzüm ve Özellikleri	46
5.3. Üzümün Bileşimi	47
5.3.1. Şıranın bileşimi	49
5.3.2. Şıranın bileşimine etki yapan faktörler.....	52
5.4. Üzüm Çeşitleri ve Özellikleri.....	53
5.5. Şaraplık Üzüm ve Şarap Çeşitleri	54
5.5.1. Şarap Çeşitleri.....	54
5.5.1.1. Renklerine göre şarap çeşitleri	54
5.5.1.2. Kalitesine göre şarap çeşitleri.....	55
5.5.1.3. Tatlarına göre şarap çeşitleri	56
5.5.1.4. Üretim biçimine göre şarap çeşitleri	56
5.6. Ülkemizde ve Dünyada Şarap Endüstrisinin Durumu	57
5.7. Şarap Üretiminde Etkili Faktörler.....	61
5.7.1. Çeşidin etkisi	61
5.7.2. İklim.....	61
5.7.3. Toprak yapısı	61
5.8. Şarabın Üretimi	62

5.8.1. Hasat	62
5.8.2. Salkım Ayrımı	62
5.8.3. Ezme	62
5.8.4. Fermantasyon.....	62
5.8.5. Olgunlaştırma	63
5.8.6. Şişeleme / Saklama	63
5.9. Şarapta Etil Alkol Fermantasyonunu Etkileyen Faktörler	64
5.9.1. Fermantasyon sıcaklığının etkisi	64
5.9.2. Karbondioksitin etkisi	66
5.9.3. Havanın (Oksijenin) etkisi	67
5.9.4. Şeker konsantrasyonunun etkisi.....	68
5.9.5. Alkol konsantrasyonunun etkisi	69
5.9.6. Sülfüroz asidin etkisi	69
5.9.7. Fermantasyon sıvısının pH'sının etkisi	70
5.9.8. Maya suşunun ve aşılama oranının etkisi	70
5.9.9. Besin maddelerinin etkisi	71
5.9.10. Kükürt dioksit	72
5.9.11. Metaller.....	73
5.9.12. Asitler	73
6. MATERYAL VE YÖNTEM.....	74
6.1. Hammadde	74
6.2. Yöntem.....	76
6.3. Üzüm, Şıra ve Şarapta Uygulanan Analizler	82
6.3.1. Üzüm, şıra ve şarapta genel analizler	83
6.3.1.1. Yoğunluk analizi	83
6.3.1.2. pH analizi	83
6.3.1.3. Toplam asitlik (Bromtimol mavisi indikatörü ile titrasyon yöntemi)	83
6.3.1.4. Refraktif indeksle şeker ölçümü.....	83
6.3.1.5. İndirgen şeker analizi	84
6.3.1.6. Alkol (% hacim) derecesi tayini (Alkolometrik yöntem)	85

6.3.1.7. Toplam kükürt ve serbest kükürt miktar tayini (iyodometrik titrasyon yöntemi)	85
6.3.2. Üzüm, şıra ve şarapta toplam fenol, toplam antosiyanin ve toplam flavanol analizleri	86
6.3.2.1. Toplam fenol tayini	87
6.3.2.2. Toplam antosiyanin tayini	87
6.3.2.3. Toplam flavanol analizi	88
6.3.3. DPPH serbest radikal süpürücü aktivite tayini	89
6.3.4. Şarapta Fenolik asit, Flavanol ve Antosiyaninlerin YBSK ile Analizi	90
6.3.5. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan istatistiksel analizler	91
7. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA	92
7.1. Şarap Üretiminde Kullanılan Hammaddenin Fiziksel ve Kimyasal Analizleri	92
7.2. Şıra Analiz Sonuçları	93
7.3. Ham ve Olgunlaşmış Şarapta Fiziksel Analiz Sonuçları	95
7.4. Şarap Üretiminde Uygulanan Proseslerin Fenolik Bileşen Miktarı ve Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi	98
7.4.1. Doğal fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda uygulanan proseslerin fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerine etkisi	98
7.4.2. Klasik fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerine etkisi ..	100
7.4.3. Enzim ilaveli fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerine etkisi	102
7.4.4. Sıcak maserasyon fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerine etkisi	104
7.5. Uygulanan Fermantasyon Yöntemlerinin Şarap Üretim basamaklarında Alınan Ürünlerin Toplam Fenolik Bileşen Miktarı ve Antioksidan Aktiviteleri Üzerine Etkisi	106

7.6. Uygulanan proseslerin YBSK yöntemi ile belirlenen fenolik bileşenlerin miktarları üzerine etkisi	119
7.7. Uygulanan proseslerin YBSK yöntemi ile belirlenen antosiyanin miktarları üzerine etkisi	125
8. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	132
KAYNAKLAR	137

ŞEKİLLER DİZİNİ

2.1. a) hidroksibenzoik asit b) hidroksisinamik asit c) hidroksifenilasetik asit yapıları	8
2.2. Hidroksisinamik asit ve bazı önemli türevlerinin yapısal formülleri.....	9
2.3. Hidroksibenzoik asit ve bazı önemli türevlerinin yapısal formülleri.....	9
2.4. Flavan (C ₆ -C ₃ -C ₆) iskeleti ve numaralama sistemi	10
2.5. Antosiyanidin (flavyum katyonu)	11
2.6. Antosiyanidinlerin kimyasal yapıları	12
2.7. Bazı flavonların kimyasal yapıları	13
2.8. Bazı flavonollerin kimyasal yapıları	14
2.9. Flavanon ve dihidrokalkonun yapıları	14
2.10. Bazı meyvelerdeki flavanon yapıları; aktif merkez yıldızla gösterilmiştir	15
2.11. Kateşin yapısı	15
2.12. Kateşinlerin (flavan-3-ols) yapıları	16
2.13. Lökoantosiyanidinlerin yapıları	17
2.14. İzoflavonların yapıları	17
2.15. Kondense tanenler	19
2.16. Hidrolize edilebilir tanenler	19
2.17. Florotanenler	20
3.1. Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hastalık ve hasarlar	21
3.2. Hastalıklarda reaktif oksijen türlerinin sonuçları ve fenoliklerin önleyici rolleri.	23
3.3. Çoklu doymamış yağ asidi (RH) içeren lipidlerin otoksidasyonunun genel şeması.....	24
3.4. BHA ve BHT' nin kimyasal yapıları	28
3.5. TBHQ' nin kimyasal yapısı	29
3.6. Propil gallat'ın kimyasal yapısı.....	30
3.7. Tokoferol ve ilgili bazı bileşiklerin kimyasal yapısı.....	31
4.1. EMP Yolu	37
4.2. Pirüvik asit metabolizması	40
6.1. Öküzgözü üzüm çeşidi	74

6.2. Öküzgözü üzümünden farklı fermantasyon uygulamalarıyla şarap üretim akım şeması	77
6.3. İnokülasyon kültürünün hazırlanması	79
6.4. Durultma deneme çözeltisi hazırlanması	80
6.5. Jelatin durultma testi sonuçları.....	81
6.6. Gallik asit konsantrasyon-absorbans kalibrasyon eğrisi	87
6.7. Kateşin konsantrasyon-absorbans kalibrasyon eğrisi.....	89
6.8. DPPH konsantrasyon-absorbans kalibrasyon eğrisi.....	90
7.1. Farklı yöntemlerle şarap üretiminde cibre fermantasyonu prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi	107
7.2. Farklı yöntemlerle şarap üretiminde alkol fermantasyonu prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi	108
7.3. Farklı yöntemlerle şarap üretiminde dinlendirme prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi.....	108
7.4. Farklı yöntemlerle şarap üretiminde durultma prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi	109
7.5. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda olgunlaştırma prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi.....	109
7.6. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda cibre fermantasyonu prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi	110
7.7. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda alkol fermantasyonu prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi	111
7.8. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda dinlendirme prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi	111
7.9. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda durultma prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi	112
7.10. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda olgunlaştırma prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi.....	112
7.11. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda cibre fermantasyonu prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi.....	114
7.12. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda alkol fermantasyonu prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi.....	114

7.13. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda dinlendirme prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi	115
7.14. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda durultma prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi	115
7.15. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda olgunlaştırma prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi	116
7.16. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda cibre fermantasyonu prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi	117
7.17. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda alkol fermantasyonu prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi	117
7.18. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda dinlendirme prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi	118
7.19. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda durultma prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi	118
7.20. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda olgunlaştırma prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi	119
7.21.Çekirdekli fermantasyon yöntemi ile elde edilen şarabın örnek YBSK kromatogramı.....	120
7.22. Çekirdeksiz fermantasyon yöntemi ile elde edilen şarabın örnek YBSK kromatogramı (1.Gallik asit; 2. Protokateşik asit, 3. Hidroksi sinnamik asit türevi, 4. Klorojenik asit, 5 Parakumarik asit, 6. Ferulik asit).....	120
7.23.Çekirdeksiz fermantasyonla elde edilen olgun şarabın (3.ay) fenolik asit bileşimi.....	121
7.24. Çekirdekli fermantasyonla elde edilen olgun şarabın (3.ay) kateşin ve epikateşin miktarları	123
7.25. Farklı fermantasyon yöntemlerinde şarap üretim prosesinin kateşin miktarı üzerine etkisi	124
7.26.Farklı fermantasyon yöntemlerinde şarap üretim prosesinin epikateşin miktarı üzerine etkisi	124
7.27. Çekirdeksiz fermantasyon yöntemi ile elde edilen şarapta bulunan monomerik antosiyaninlerin YBS Kromatogramı.....	126

7.28. Şarap üretim basamaklarının ve uygulanan fermantasyon yöntemlerinin malvinidin-3-o-glukoziti miktarı üzerine etkisi	126
7.29. Polimerik antosiyanin YBSK kromatogramı	128

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1. Önde gelen üzüm üreticisi ülkeler.....	1
2.1. Bazı gıdaların polifenol (PF) miktarı	6
3.1 Sentetik antioksidanlar ve özellikleri.....	29
5.1. Öküzgözü üzümünün morfolojik özellikleri ‘	47
5.2. Üzüm salkımının kimyasal analiz sonuçları	48
5.3. Türkiye’de şaraplık üzüm yetiştirilen bölgeler ve üzüm çeşitleri.....	55
5.4. Önde gelen şarap üreticisi ülkeler	58
5.5. Önde gelen şarap ihracatçısı ülkeler.	59
5.6. Şarap üretim miktarlarının yıllar itibariyle gelişimi.....	60
5.7. Türkiye'nin yıllara göre şarap ihracatı	60
6.1. Öküzgözü Üzümünün ampelografik özellikleri ‘	75
7.1. Üzümün fiziksel analiz sonuçları	92
7.2. Üzüm kabuk ve çekirdeğinde toplam fenolik bileşen, antosiyanin ve flavanol miktarları	93
7.3. Şıra analiz sonuçları	94
7.4. Ham şarap genel analiz sonuçları.....	95
7.5. Şarapların şişelenmeden önceki genel analiz sonuçları	97
7.6. Şarapların bazı bileşim özellikleri.....	98
7.7. Doğal fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin toplam fenolik bileşen, toplam antosiyanin, toplam flavanol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi (a) çekirdekli, (b) çekirdeksiz üretim.....	99
7.8. Klasik fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin toplam fenolik bileşen, toplam antosiyanin, toplam flavanol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi (a) çekirdekli, (b) çekirdeksiz üretim.....	101
7.9 Enzim İlaveli edilerek üretilen şaraplarda farklı proseslerin toplam fenolik bileşen, toplam antosiyanin, toplam flavanol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi (a) çekirdekli, (b) çekirdeksiz üretim	103

- 7.10. Sıcak Maserasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin toplam fenolik bileşen, toplam antosiyanin, toplam flavanol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi(a)çekirdekli, (b)çekirdeksiz üretim..... 105
- 7.11. Uygulanan fermantasyon yöntemlerinin cibre fermantasyonu sonunda alınan üründe monomerik antosiyanin miktarı üzerine etkisi..... 129
- 7.12. Uygulanan fermantasyon yöntemlerinin alkol fermantasyonu sonunda alınan üründe (ham şarap) monomerik antosiyanin miktarı üzerine etkisi..... 129

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Absorbans
a	: Ağırlık
BHA	: Bütillendirilmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksitoluen
Cyn	: Cyanidin
Cyn-3-glu	: Cyanidin-3-glukozit
Df-3-glu	: Delfinidin-3-glukozit
dk	Dakika
DPPH	: 2,2- difenil-1-pikrilhidrazil
EC ₅₀	: %50 bozunmanın engellendiği antioksidan konsantrasyonu
EMPYolu	: Embden-Meyerhof Parnas yolu
FDP	: Fruktoz-di-fosfat
g	: Gram
GA	: Gallik asit
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
h	: Hacim
HBA	: Hidroksibenzoik asit
HCA	: Hidroksisinamik asit
kg	: Kkilogram
L	: Litre
LD ₅₀	: Öldürücü doz
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoproteinler
MeOH	: Metanol
mL	: Mililitre
Mvd	: Malvinidin
Mvn-3-glu	: Malvinidin-3-glukozit
µg	: Mikrogram
nm	: Nanometre
Pg	: Peonidin
Pg	: Propilgallat
Pn-3-glu	: Peonidin-3 glukozit

ppm	:	Milyonda bir kısım
PPO	:	Polifenoloksidaz
Pt-3-glu	:	Petunidin-3-glukozit
TBHQ	:	Tersiyer bütihidrokinon
UV	:	Ultraviole (morötesi) ışık
YBSK	:	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografis

1. GİRİŞ

Şarap, taze üzüm veya şirasının fermantasyonu ile elde edilen alkollü bir içkidir. Şeker içeren tüm taze meyvelerden şarap üretimi mümkün olmakla birlikte bileşim maddeleri bakımından şarap üretimine en uygun meyve üzümdür. Ayrıca ilgili yasalara göre şarap dendiğinde sadece üzümden elde edilen anlaşılakta, diğer meyvelerden elde edilmesi durumunda hammadde olarak kullanılan meyvenin adının anılması gerekmektedir ‘‘(Aktan ve Kalkan, H. 2000; Ertugay ve ark. 1994; Kılıç 1990; Akman ve Yazıcıoğlu 1960; Güven 2003; Anonim 1976; Karabayır 2005)’’.

Dünyanın en büyük 10 üzüm üreticisi arasında yer alan Türkiye (Çizelge 1.1), dünyanın en büyük 10 şarap üreticisi arasında yer almamaktadır (Tilmaç ve Çakar 2003).

Çizelge 1.1. Önde gelen üzüm üreticisi ülkeler (Tilmaç ve Çakar 2003).

Ülke adı	Üzüm üretimi 1000 ton	Dünya üretimi içindeki payı %
İtalya	9.200	15,0
Fransa	7.800	12,8
ABD	5.871	9,6
İspanya	5,038	8,2
Çin *(Tayvan Dahil)	3.630	5,9
Türkiye	3.250	5,3
Arjantin	2.460	4,0
İran	2.100	3,4
Şili	1.785	2,9
Avustralya	1.546	2,5

Bunun en büyük sebebi Türkiye'de yetişen üzüm türlerinin çoğunlukla sofralık olarak yetiştirilip tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Türkiye'nin geleneksel olarak şarap kültürüne sahip olmaması da üretimin yıllar içinde gelişmesini engelleyen en önemli faktör olmuştur.

Dünyada şarap yapımında kullanılan 400 üzerinde üzüm çeşidi bulunmakta ve her yıl ortalama 25–30 milyar litre şarap arz edilmektedir. Kişi başına düşen yıllık ortalama şarap tüketim miktarı 3–4L olarak gerçekleşmektedir. Bu rakam Türkiye'de gerçekleşen kişi başına yıllık şarap tüketiminin dört katına karşılık gelmektedir “(Tilmaç ve Çakar 2003; Duran 2003)”.

Türkiye bağ alanları ve üzüm üretimi açısından dünyanın önde gelen ülkelerinden birisidir. 2003 yılı itibarıyla ülkemizde 530.000 hektarlık alanda üzüm üretimi yapılmıştır. Söz konusu yılda üretilen 3,6 milyon ton üzüm, toplam meyve üretiminin %25,7'sini oluşturmuştur. Ülkemiz bu rakamlarla dünyada bağ alanı yönünden 4. yaş üzüm üretimi açısından ise 6. sırada yer almaktadır. Türkiye şarap üretimine uygun doğa koşullarına sahip olmasına ve büyük miktarlarda üzüm üreten bir ülke olmasına rağmen, üretilen üzümlerin %2 gibi çok küçük bir bölümü şarap üretiminde kullanılmaktadır. Bu oran Avrupa Birliği ülkelerinde %85, bağcılıkla uğraşan diğer ülkelerde ise ortalama %80 dolayındadır. Türkiye'de üretilen yaş üzümün %40'ı kurutmalık, %35'i sofralık, %23'ünün de pekmez, pestil ve sirke gibi ürünlerin üretiminde kullanıldığı görülmektedir (Karabayır 2005).

1990'lı yılların başında Fransa'da yapılan bir çalışmada, Amerikalılardan 3–4 kat fazla doymuş yağ tüketen, egzersiz yapmayan Fransızların kalp ve damar hastalıklarından ölüm oranının 2,5–3 kat daha az olduğu görülmüştür “(de Lange 2007; Renaud ve de Lorgeril 1992)”. Fransız çelişkisi (Fransız paradoksu) olarak da ifade edilen bu olayın nedeninin Fransızların ortalama 7–10 kat daha fazla şarap tüketimi olduğu sonucuna varılmıştır. Günde birkaç kadeh şarap tüketiminin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinin ortaya çıkarılması, dünyada şaraba olan ilgiyi artırmıştır. Önceleri bu etkinin alkolden geldiği düşünülmüş ise de daha sonra etkinin kaynağının şarabın içerdiği polifenolik bileşikler olduğu ortaya çıkmıştır (Manach ve ark. 2005).

Polifenoller (fenolik asitler, flavonoidler ve prosiyanidinler-kondense tanenler) bitkilerde yaygın olarak bulunan sekonder metabolitlerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bitkilerde yaygın olarak bulunan polifenollerini içeren gıdaların tüketildiklerinde, sağlık üzerinde olumlu etkilerinin olduğu gözlenmesiyle birlikte bu bileşikler üzerine bilimsel çalışmalarda hızlı bir artış

görülmüş ve bu bileşiklerin sahip oldukları antioksidan özelliklerinden dolayı pek çok dejeneratif ve yaşlanmaya bağlı hastalıkları koruyucu veya tedavi edici etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Bu hastalıklar içinde kanser ve kalp-damar hastalıkları başta gelmektedir “(Dell’Agli 2004; Philpott ve Lynnette 2004)”.

Polifenoller kimyasal yapılarında bulunan hidroksil iyonunun sayısı ve pozisyonu ile polimerleşme derecesine göre basit fenolik bileşiklerden flavonoidlere ve kompleks proantoyanidinlere kadar çok geniş bir kimyasal grubu içermektedir (Rice-Evans, 2001). Antioksidan olarak polifenollerin rolü, serbest radikal süpürücü etkileri ve metallerle kelat oluşturma etkilerinden dolayıdır. Okside olan bileşene göre daha küçük konsantrasyonlarda kullanılarak, oksidasyon reaksiyon zincirinin başında veya oluşan reaksiyonlarda meydana gelmiş serbest radikallerle reaksiyona girerek oksidasyonu geciktirebilir veya önleyebilirler. Oksidasyonu katalize eden metal iyonlarla kelat oluşturma kabiliyetlerinden dolayı da bu iyonları inaktif hale getirirler (Lu ve Foo, 2000). Antioksidan kapasiteleri in vitro olarak pek çok çalışmaya konu olmuş, molekül yapısındaki OH- iyonu sayısı ve pozisyonu ile antioksidan aktivitesinin farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Ancak yapılan çalışmaları pek çoğunda serbest radikal süpürücü etkisinin molekülde bulunan OH- iyonu sayısı ile doğru orantılı olduğu rapor edilmiştir “(Guendez ve ark.2005; Lotito ve ark. 2000)”.

Üzüm meyvesi, fenolik asitlerden, polimerik yapıda proantosiyaninlere kadar çok farklı yapılarda fenolik bileşenlere sahip kompleks bir yapıya sahiptir (Yılmaz and Toledo, 2004). Üzüm çekirdeği flavan-3-ol (kateşin)’lerin polimerleri olarak bilinen prosiyanidinlerce zengindir. Üzüm kabuğu ve suyu ise renginden sorumlu antosiyanın ve fenolik asitleri içermektedir. Bu bileşenlerin bulunma oranları üzüm çeşidine, yetiştirilme şartlarına ve toplanma zamanına bağlıdır. Bu parametrelere ilave olarak üzümde elde edilen ürünlerde (şarap, üzüm suyu, üzüm kabuğu ve çekirdeği ekstresi, vb.) proses edilme şartları, saklanma koşulları, gıdalara katılması sırasındaki işlem basamakları, polifenolik bileşenlere ve dolayısı ile antioksidan aktivitesine etki eden diğer parametrelerdir. Bu prosesler sırasında polifenoller sıcaklık, pH, oksidasyon (enzimatik veya kimyasal) gibi kimyasal ve fiziksel etkilerle yapılarını değiştirebilir ve

aktivitelerini yitirebilirler (Bonilla ve ark, 1999; Pinelo ve ark., 2005; Nicoli ve ark., 2000).

Polifenollerin miktarları ve yapıları, buna bağlı olarak antioksidan aktivite özelliğinden kaynaklanan biyoyararlanımları, şarap üretim prosesinin her aşamasından önemli ölçüde etkilenmektedir. Alkol fermantasyonu ve dinlendirme süresince oksidasyon, kondenzasyon ve polimerizasyon reaksiyonları sonucunda polifenolik bileşiklerinde değişmeler meydana gelmektedir. Üzümden klasik yolla alkol fermantasyonu tekniğinde SO₂ konsantrasyonu, kullanılan enzim ve maya çeşidi, fermantasyon sıcaklığı ve süresi şarabın kalitesine ve polifenol içeriğine etki eden önemli parametrelerdir. “(Castillo-Sanchez ve ark. 2006; Dallas ve Laureano 1994; Gao ve ark. 1997; Perez-Lamela ve ark. 2007)”.

Bu çalışmada, farklı fermentasyon yöntemlerinin Öküzgözün'den elde edilen şarapta bulunan polifenolik bileşen içeriğine ve antioksidan aktivitesi üzerine etkileri ile cibre fermantasyonu, alkol fermentasyonu, dinlendirme, durultma ve olgunlaştırma aşamalarındaki değişimleri gözlenmiştir.

2. POLİFENOLLER

Polifenolik bileşikler bitkilerde aromatik aminoasit metabolizması sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitler olup doğada yaygın olarak bulunurlar “(Huang ve ark.1992; Saldamlı 1998; Shahidi ve Nacz. 2003; Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Makris ve ark. 2006)”. Bunlar meyveler, sebzeler, içkiler ve tahıllarda antioksidan aktivite, duysal (renk, lezzet, tat vb.) ve beslenme kalitesine katkıda bulunurlar. Genellikle meyvelerde polifenolik bileşikler sebzelerden daha fazla bulunur “(Wrolstad ve ark. 2005; Huang ve ark. 1992; Saldamlı 1998; Shahidi ve Nacz. 2003; Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Rice-Evans ve Packer 1998; Karadeniz ve Ekşi 2002)”. Yapılan araştırmalar da kırmızı eriklerin, çileklerin antosiyanince zengin; portakal ve üzümü meyvelerin flavanon bileşiklerince zengin; yeşil elma, soğan, marul brokoli, ıspanak, kabak gibi sebze ve meyvelerinse flavonol bileşiklerince daha zengin; ve bezelye, domates ve şeftalilerin hidroksisinamik asitlerce daha zengin olduğu belirlemiştir (Makris ve ark. 2006).

Çizelge 2.1. de bazı gıdalarda bulunan toplam fenolik bileşen miktarları verilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi siyah üzüm meyvesi bu maddelerce en zengin gıda maddelerinden birisidir.

Fenolik bileşiklerin önemli bir bölümü bu ürünlerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda buruk bir izlenim bırakmasında etkilidir. Diğer taraftan bir kısım fenolik maddeler örneğin antosiyaninler, meyve ve sebzelerin kendine özgü renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar. Bütün bunlara ek olarak, birçok fenolik madde, polifenoloksidaz (fenoloksidaz-PPO) enzimlerinin katalize ettikleri reaksiyonlarla, meyve ve sebzelerden elde edilen ürünlerin esmerleşmesine neden olabilmektedirler. Aynı şekilde berrak meyve suları ve şaraplar gibi içeceklerin bulanmalarında ve tortu oluşturmalarında fenolik bileşikler rol oynamaktadırlar “(Wrolstad ve ark. 2005; Huang ve ark. 1992; Saldamlı 1998; Shahidi ve Nacz. 2003; Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Rice-Evans ve Packer 1998; Karadeniz ve Ekşi 2002;Yıldız ve Baysal 2003)”

Çizelge 2.1. Bazı gıdaların polifenol (PF) miktarı (Karadeniz ve Ekşi 2002).

Gıda	PF(mg/100g)	Gıda	PF(mg/100g)
Patlıcan	133–500	Elma	50–1100
Domates	45–57	Armut	123–400
Şeftali	28–180	Vişne	200
Erik	167–200	Çay demi	149
Üzüm (beyaz)	100–350	Türk kahvesi	239
Üzüm (siyah)	900–950	Şarap (Kırmızı)	180

Fenolik bileşikler ve daha yaygın olarak kullanılan ismiyle polifenoller, benzen halkası içeren maddelerdir. Bilindiği gibi bir tane hidroksil grubu içeren benzen, hidroksi benzen, en basit fenolik bileşiktir, fenol olarak anılır. Diğer tüm fenolik maddeler bundan türemişlerdir. Şimdiye kadar, binlerce bitkisel fenolik bileşik izole edilip tanımlanmıştır. Buna devamlı olarak bulunan yeni fenolikler eklenmektedir. Fenolik bileşiklerin bu kadar karmaşık ve fazla olması, onların belirgin bir sistematiğinin oluşmasını da geciktirmiştir. Başlangıçta oluşturulan sistematik zaman içinde değiştirilip, geliştirilmiştir “(Wrolstad ve ark. 2005; Huang ve ark. 1992; Saldamlı 1998; Shahidi ve Naczk. 2003; Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Rice-Evans ve Packer 1998; Karadeniz ve Ekşi 2002, Shahidi ve Naczk 1995; Cemeroglu ve Acar 1986; Yıldız ve Baysal 2003)”. Özellikle YBSK tekniğinin laboratuvarlara yerleşmesiyle ve uygun dedektörlerin geliştirilmesiyle fenolik bileşiklerin yapıları hızla aydınlanmıştır.

Fenolik bileşiklerin fizyolojik açıdan ise en önemli özelliği, antioksidan etkiye sahip olmaları gösterilmektedir. Oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun, kalp damar hastalıkları, kanser ve kronik iltihaplanma gibi hastalıkların en önemli etkenleri olduğu flavonoidlerin birçoğunun lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin ve lipid peroksi radikallerinin oluşumunu engellediği ve metal iyonlarını bağlayarak lipidlerin oksidasyonunu önleyebildiği ve radikallerin oluşumunda görev yapan enzim sistemlerini inhibe edebildiği

belirlenmiştir “(Wrolstad ve ark. 2005; Huang ve ark.1992; Shahidi ve Naczk. 2003; Rice-Evans ve Packer 1998; Pour Nikfardjam ve ark. 2006)’’.

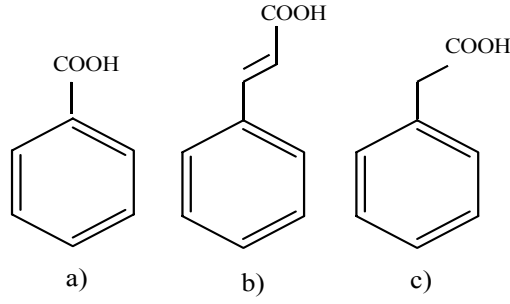
Ayrıca bu bileşiklerin hücre metabolizmasında rol alan regülasyon faktörleri olduğu belirtilmektedir. Bazı çalışmalar flavonoidlerin mutajen (Yıldız ve Baysal 2003) ve kanserojen olduğu belirtilmekle birlikte birçok çalışmada elde edilen bulgular flavonoidlerin antimutajen ve antikanserojen olduğunu desteklemektedir “(Shahidi ve Naczk 1995; Cemeroğlu ve Cemeroğlu. 1998; Wanasundra ve Shahidi 1998; Yılmaz ve Toledo 2003; Makris ve ark. 2006)’’.

Günümüzde bitkisel kaynaklarda olduğu bilinen doğal polifenolikler 8000 den fazladır. Polifenoliklerin en yaygın ve en bilinen grubu 4000 den fazla yapısıyla; flavonoidler ve onların türevleridir “(Wrolstad ve ark.2005; Huang ve ark.1992; Saldamlı 1998; Shahidi ve Naczk. 2003; Bilaloğlu ve Harmandar 1999)’’.

Polifenolikler terimi fonksiyonel türevler içeren hidrosil (-OH) guruplarıyla dallanmış aromatik benzen halka(lar) içeren bileşikler olarak tanımlanır. Antioksidan etki, fenol halkasında OH grubu sayısı arttıkça artmakta ve aynı bileşikte ise bu etki, meta,- orto -, ve para- sırası ile yükselmektedir (Saldamlı 1998). Polifenolikler üç önemli gruba ayrılır: Fenolik asitler, flavonoitler ve tanenler.

2.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler genel olarak serbest halde bulunmazlar. Karboksil gurupları karbonhidratlar, glikozitler, amino asitler veya proteinlerle reaksiyona girebilirler ve alkollerle fenol esterler, amino bileşikleri ile de amidleri oluştururlar. Fenolik asitler; hiroksisinamik asit (C₆-C₃), hidroksibenzoik (C₆-C₁) asitler ve hidroksifenilasetik asit(C₆-C₂) guruplarını içerir. Şekil 2.1’ de bu bileşiklerin kimyasal yapıları verilmektedir. Fenolik asitlerin fenolik hidroksil gurupları da çok aktif olup, şekerlerle birleşerek glikozitleri oluştururlar. “(Wrolstad ve ark.2005; Makris ve ark. 2006)’’.



Şekil 2.1. a) hidroksibenzoik asit b) hidroksisinamikasit c) hidroksifenilasetikasit yapıları (Wrolstad ve ark.2005).

2.1.1. Hidroksisinamik asitler

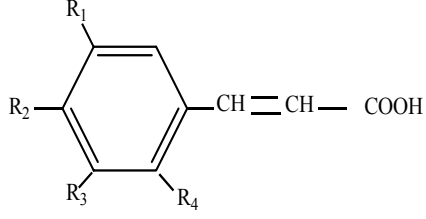
Hidroksisinamik asit (HCA) türevleri bitki dokularında yaygın olarak bulunurlar ve fenilpropan halkasına bağlanan hidroksil gurubunun konumu ve sayısına göre farklı özellik gösterirler.

HCA arasında ferulik asit, kafeik asit, p-kumarik asit ve sinapik asit önem taşımaktadır (Şekil 2.2.). HCA şaraplarda flavonoid olmayan fenoller içinde önemli miktardadır. Bunlar üzümde sadece tartarik asit esterleri olarak oluşurlar, hidroksisinamik asitlerin serbest formları üzümde oluşmaz. Ancak şarap yapımında enzim ve asit hidrolizi esnasında oluşurlar. Hidroksisinamik asitler taze sıkılmış üzüm suyunda yüksek miktardadır. Kabukta bulunan hidroksisinamik asit miktarı düşüktür.

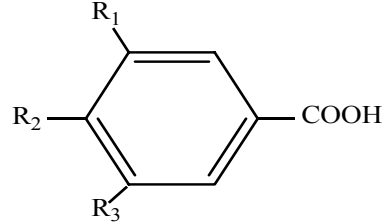
2.1.2. Hidroksibenzoik asitler

Hidroksibenzoik asitler (HBA) C_6-C_1 fenilpropan yapısındadır. HBA bitkisel gıdaların yapısında genellikle az miktarlarda (10 ppm kadar) bulunur veya hiç bulunmayabilirler. Bunlar arasında salisilik asit, m-hidroksibenzoik asit, sirinjik asit, p- hidroksibenzoik asit, gallik ve vanilik asit gibi asitler sayılabilir (Şekil 2.3).

Üzüm ve şaraplarda bulunan p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, sirinjik asit lignin yapısındadır. Bunlar meşe fiçılardan gelen önemli fenol ekstratlarıdır ve aldehitleri oksidasyon ürünü olarak görülür. Gallik asit ve dime elaik asit meşe malzemelerde önemli hidrolize edilebilir tanenlerdir. Gallik asitler *Vinifera* üzüm cinslerinde olurken elaik asit bu cins üzümde bulunmaz.

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Sinnamik asit	H	H	H	H
Kafeik asit	OH	OH	H	H
o-Kumarik asit	H	H	H	OH
p-Kumarik asit	H	OH	H	H
Ferulik asit	OCH ₃	OH	H	H
Sinapik asit	OCH ₃	OH	OCH ₃	H

Şekil 2.2. Hidroksisinnamik asit ve bazı önemli türevlerinin yapısal formülleri

	R ₁	R ₂	R ₃
Gallik asit	OH	OH	OH
Protokateşuik asit	H	OH	OH
Sirinjik asit	OCH ₃	OH	OCH ₃
Vanilik asit	H	OH	OCH ₃
izovanillik asit	H	OCH ₃	OH
m-Hidroksibenzoik asit	H	OH	H
α -Rezorsilik asit	OH	H	OH

Şekil 2.3. Hidroksibenzoik asit ve bazı önemli türevlerinin yapısal formülleri

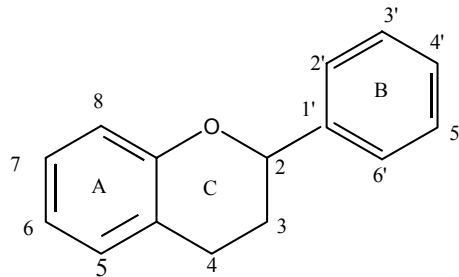
Şarapçılıkta kullanılan *Vinifera* cinsi dışındaki bazı üzümelerde elaiik asit bulunabilir. Gallik asit oldukça düşük redoks potansiyeline sahiptir ve şarapta kolayca kinonlara, hidrojen perokside okside olabilir. Gallik asit ayrıca üzüm çekirdeklerinde de epikateşinle birleşerek epikateşin-3-o-galat biçiminde bulunur bu da üzümelerde kondense tanen oluşumuna yol açar. Hidroksibenzoik asitler

kırmızı şaraplarda antosiyanin ürünlerinde degradasyona neden olur (Parley 1999).

2.2. Flavonoitler

Flavonoitler, bitkisel ürünlerde insan sağlığına potansiyel faydalarıyla son zamanlardaki en fazla araştırmaya konu olmuş doğal bileşiklerin başındadır. Bu bileşikler bitkilerin ikincil metabolitleri olup insanların dietlerinin önemli bir parçasıdır (Rice-Evans ve Packer 1998). Başlangıçta sadece sarı renk grublarını içerenler flavon çekirdeğine sahip bileşiklere dahil edilirken, günümüzde terimin içeriği ve kapsamı genişlemiştir; renksizden (flavan-3-ol) daha az renkli (flavanon) bileşikler kadar kırmızı mavi antosiyaninlerden oluşmaktadır (Shi ve ark. 2002; Gökalp ve ark. 2002).

Flavonoitlerin karbon iskeletini, iki fenil halkasının propan zinciriyle birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren C₆-C₃-C₆ difenilpropan yapısı oluşturur. Ayrıca fenil grupları arasındaki üçlü karbon köprüsü, oksijenle halka oluşturmaktadır. Şekil 2.4’de flavan iskeleti ve numaralama sistemi verilmiştir. Flavan (2-fenol-benzo-dihidro-piran) yapısındaki aromatik halka A ve B, hetero halka ise C olarak gösterilir “(Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Rice-Evans ve Packer 1998; Shi ve ark. 2002; Parley 1999)”. A ve C halkalarındaki (benzopiran çekirdeğinde) karbon atomları oksijen atomundan başlayarak numaralandırılır. B halkasının atomları ise, üssü (') rakamlarla numaralandırılır.



Şekil 2.4. Flavan (C₆-C₃-C₆) iskeleti ve numaralama sistemi

Flavonoitler molekülde bulunan aromatik halkalara bağlanan substituentlerinin sayısı, özelliği, bağlanma pozisyonlarına göre farklı kimyasal

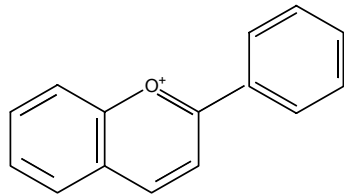
yapılara ve fizyolojik etkilere sahiptir. Antosiyanidinler, flavon ve flavonoller, flavanonlar, kateşin ve lökoantosiyanidinler, ve isoflavonlar olmak üzere beş gruba ayrılırlar “(Huang ve ark.1992; Saldamlı 1998; Makris ve ark. 2006).

2.2.1. Antosiyanidinler

Antosiyanidinler, doğal olarak genellikle antosiyanin adı verilen glikozit formunda bulunmaktadır “(Shi ve ark. 2002; Saldamlı 1998; Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Gökalp ve ark. 2002)”. Glikozitlerin yapısında çok çeşitli şeker kalıntıları bulunabilir. Bunlar: mono-, di-, ve trisakkaritlerdir. Şekerler genelde antosiyanidin, flavon veya flavonol veya gruplarına β -glikozidik bağlarla bağlanmıştır. Antosiyaninler görünür ışığı iyi absorbe ederler, sonuçta meyve ve sebzelerin; (üzüm ve üzüksü meyvelerdeki karakteristik turuncu/kırmızı/mavimsi renkler) kırmızıdan mora kadar değişen tipik renkleri bu glikozitlerden kaynaklanmaktadır.

Antosiyanin yapısındaki şeker kalıntı ya da kalıntılarının bir ya da birkaç hidroksil grubunun, organik asitlerle esterleşmesinden oluşan bileşiklere açillenmiş antosiyanin denir. Antosiyaninlerin asetik asit, hidroksisinnamik asit ve hidroksibenzoik asitler ve bazı dikarboksillik asitlerle açillenmiş olduğu gözlenmiştir “(Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Shi ve ark. 2002; Gökalp ve ark. 2002)”. Kırmızı şaraplarda olgunlaşma boyunca monomerik antosiyaninler geri dönüşümsüz olarak polimerik antosiyaninlere dönüşürler. Bunlar da pH düşüşlerine daha az hassastır.

Antosiyanidin aglikonu iki halka yapısından oluşmuş (Şekil 2.5), benzopiran fenil halkasına bağlanmıştır. Bunların yapılarında heterosiklik bir halka olan flavilyum katyonu bulunur. Flavilyum, yapısında pozitif yüklü oksijen olan bir oksonium iyonudur.

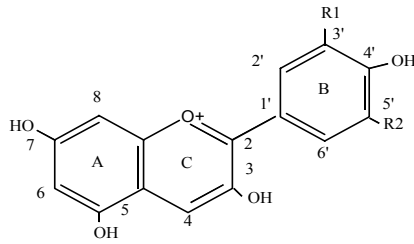


Şekil 2.5. Antosiyanidin (flavilyum katyonu)

Başlıca antosiyanidinler; pelargonidin, siyanidin, delfinidin, peonidin, petunidin ve malvidindir. Şekil 2.6’ de doğada bulunan başlıca antosiyanidinlerin kimyasal yapıları verilmektedir “(Duran 2003; Saldamlı 1998; Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Shi ve ark. 2002; Gökalp ve ark. 2002)”.

Antosiyaninlerin aglikon kısmını oluşturan fenolik bileşiklerin molekülünde –OH grubu sayısı arttıkça renkte mavilik, –OCH₃ grubu sayısı arttıkça kırmızılık artmaktadır.

Oksonium iyonları şeklinde gösterilen antosiyanidinlerden; siyanidin, pelargonidin, delphinidin ve malvinidin bitkilerde daha yaygındır. Peargonidin portakal ve çilek kırmızısı rengi veren antosiyanindir. Siyanidin kırmızı gül, krenberi, incir, koyu kırmızı vişne, siyah dut, böğürtlen, kuş üzümü gibi meyvelerdeki rengi oluşturur. Delfinidin patlıcan rengini verir, peonidin krenberry de saptanmıştır “(Saldamlı 1998; Shi ve ark. 2002; Gökalp ve ark. 2002)”.



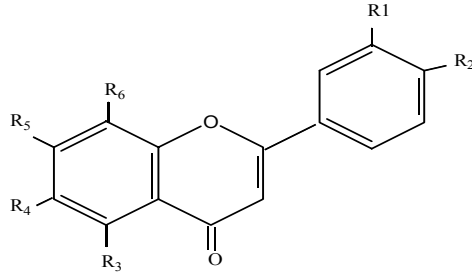
Aglikon	R ₁	R ₂
Pelargonidin	H	H
Siyanidin	OH	H
Delfinidin	OH	OH
Peonidin	OCH ₃	H
Petunidin	OCH ₃	OH
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃

Şekil 2.6. Antosiyanidinlerin kimyasal yapıları

Çeşitli glikozitlerin sergiledikleri renkler üzerinde hücrenin sahip olduğu fizyolojik pH'nın önemi vardır. Bunlar farklı pH koşullarında farklı renk göstermektedir.

2.2.2. Flavon ve flavonoller

Flavon ve flavon glikozitleri hemen her bitkide bulunurlar. Bu bileşiklerin hetero halkasında C₂ ve C₃ atomları arasında çift bağın bulunmaması karakteristiktir. Flavonlar flavononların 2,3-dehidro türevleridir. Bitkilerde hem serbest hem de glikozitleri halinde bulunurlar. Karakteristik renkleri, fenil ve benzopiran halkasına veya her ikisine hidroksi veya metoksi gruplarının bağlanmasıyla meydana gelir, ancak genelde açık sarı renkli bileşiklerdir. Flavonlar ile flavonollerin arasındaki fark orta halkadaki C₃ atomunda -OH grubunun bulunmaması, bunun yerine bir -H'nin yer almasıdır (Şekil 2.7 ve 2.8).



Flavon	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
Apigenin	H	OH	OH	H	OH	H
Luteolin	OH	OH	OH	H	OH	H
Krizoriyol	OCH ₃	H	OH	H	OH	H

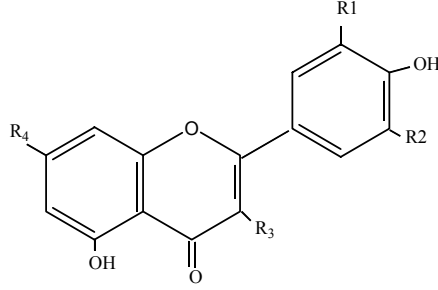
Şekil 2.7. Bazı flavonların kimyasal yapıları

Flavonların çoğu alkol, su, alkali ve seyreltik mineral asitlerde çözünürler. Flavonol grubu bileşikler de gıdalarda glikozit formunda yaygın olmaktadır. Bunların başlıcaları, kamferol, kersetin, mirsetin ve izoramnetin'dir. Flavonoller ve glikozitleri, üzümü meyve ve ürünlerine özgün tat karakteristiklerini (acılık, burukluk) verirler.

2.2.3. Flavanonlar

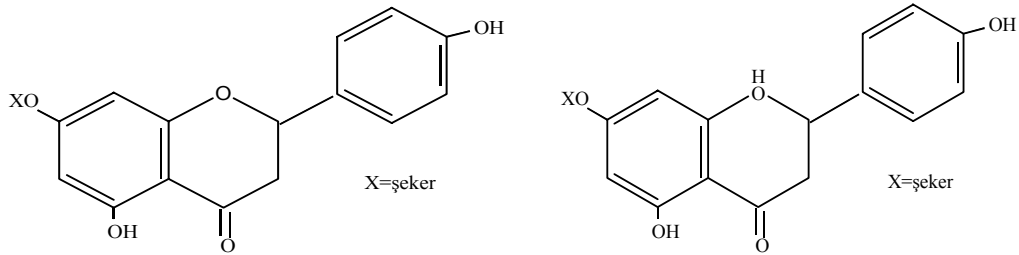
Flavanonların flavonlardan farkları, orta halkada yer alan bir çift bağıdır. Flavanonların çekirdek yapısını dayanıksız dihidro- γ -piron halkası oluşturur. Bu nedenle baz veya asit etkisiyle kolayca parçalanarak kalkonlara dönüşürler (Şekil

2.9). Flavon glikozitleri turunçgil meyvelerinde çok yaygın olarak bulunurlar; naringin, hesperidin, naringenin vb.



Flavonol	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Kamferol	H	H	OH	OH
Kersetin	OH	H	OH	OH
Mirsetin	OH	OH	OH	OH
İzoramnetin	OCH ₃	H	OH	OH
Kercitrin	OH	H	O-ramnozit	OH
Rutin	OH	H	O-rutinozit	OH

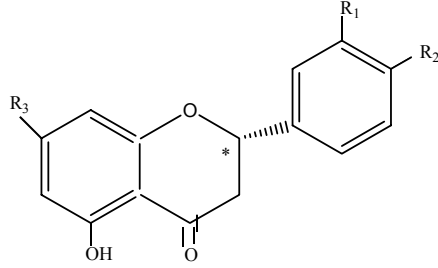
Şekil 2.8. Bazı flavonollerin kimyasal yapıları



Şekil 2.9. Flavanon ve dihidrokalkonun yapıları

Şekil 2.10'da bazı meyvelerdeki flavanon yapıları verilmiştir. Bu bileşiklerden naringenin, portakalgillerde acımsı (bitter) tada neden olduğu halde naringenin, dihidrokalkona dönüşmesi ile oluşan bileşik tatlıdır. Bu nedenle kalkon tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Dihidrochalcon yapısındaki bileşiklerden gıda bileşeni olarak önem taşıyanları fletin ve floridzin'dir

özellikle elma ve armutlarda önemi miktarlarda bir dihidrokalkon glikozidi olan floridzin bulunur.

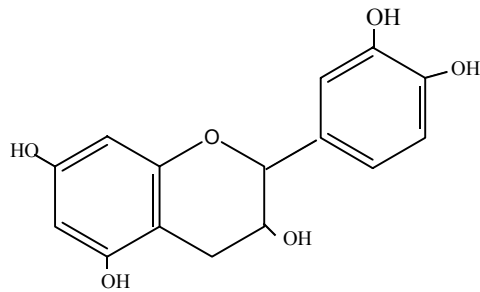


	R ₁	R ₂	R ₃
Hesperetin	OH	OCH ₃	OH
Hesperidin	OH	OCH ₃	O-rutinozit
Naringenin	H	OH	OH
Naringin	H	OH	O-neohesperidoz
Narirutin	H	OH	O-rutinozit
Neohesperidin	OH	OCH ₃	O-neohesperidoz

Şekil 2.10. Bazı meyvelerdeki flavanon yapıları; aktif merkez yıldızla gösterilmiştir

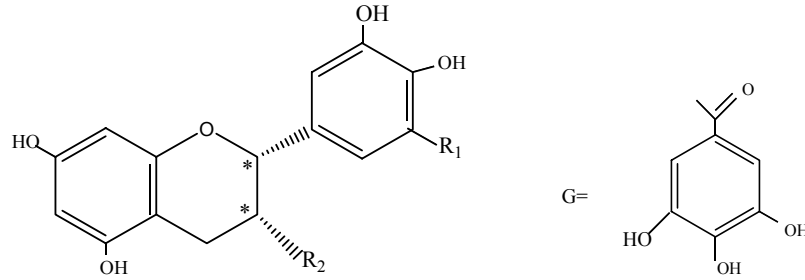
2.2.4. Kateşinler ve lökoantosiyadinler

Kateşinler, flavan-3-ol'lerin, C₃ atomunda bir OH gurubu içeren monomerlerdir ve flavonoidlerin gıdalardaki en yaygın gurubunu oluştururlar (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Kateşin yapısı

Bu bileşiğin yapısında iki asimetrik karbon atomu (C_2 ve C_3) vardır ve dört izomer oluşturur. Buradaki karbon atomlarındaki hidrojen trans konfigürasyonunda ise (+)-kateşin ve (+)-gallokateşin, cis konfigürasyonunda ise (-)-epikateşin ve (-)- epigallokateşin adı verilmektedir (Şekil 2.12).

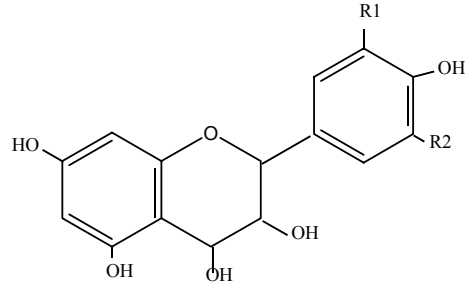


Kateşin	R ₁	R ₂
(+)-Kateşin	H	OH
(-)-Epikateşin	H	OH
(+)-Gallokateşin	OH	OH
(-)-Epigallokateşin	OH	OH
Epigallokateşin gallat	OH	OG
Epikateşin gallat	H	OG

Şekil 2.12. Kateşinlerin (flavan-3-ols) yapıları, aktif merkezler yıldızla gösterilmiştir. (G; galloyl).

Kateşinler havanın oksijeni ile kolaylıkla reaksiyona girerler, kimyasal ve enzimatik olarak oligomer ve polimerlere kondense olarak proantosiyanidinlerini oluştururlar. Lökoantosiyanidinler (Şekil 2.13), flavan-3,4-diol olup C_3 ve C_4 atomlarında birer adet OH grubu içerirler.

Lökoantosiyanidinler gıdalarda serbest halde bulunmazlar ancak eski kaynaklarda gıdalarda buldukları bildirilmektedir. Bugün gıdalar da bulunan bu bileşiklerin proantosiyanidin olduğu ortaya konmuştur.

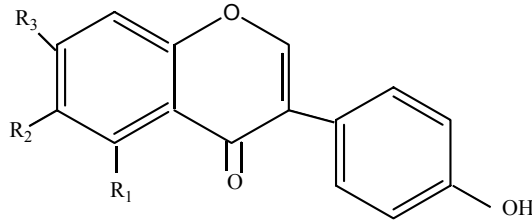


R1	R2	Löykoantosiyanidinhidrat
OH	H	Löykosiyanidinhidrat
OH	OH	Löykodelfinidinhidrat

Şekil 2.13. Lökoantosiyanidinlerin yapıları

2.2.5. İzoflavonlar

İzoflavonlar (Şekil 2.14.) daha önce anlatılan flavonoitlerin yapı izomerleridir.



	R ₁	R ₂	R ₃
Daidzein	H	H	OH
Daidzin	H	H	O-Glikozit
Genistein	OH	H	OH
Genistin	OH	H	O-Glikozit
Glycitein	H	OCH ₃	OH
Glycitin	H	OCH ₃	O-Glikozit

Şekil 2.14. İzoflavonların yapıları

Daha çok soya ve soya temelli ürünlerde bulunurlar. Aromatik B halkası C₃ pozisyonunda heterosiklik 6C'lu halkayla bağlanır. İzoflavonlar dört gruba ayrılabilir: aglikonlar, glikozitler, 6''-O-asetil-glikozitler, 6''-O-malonyl-

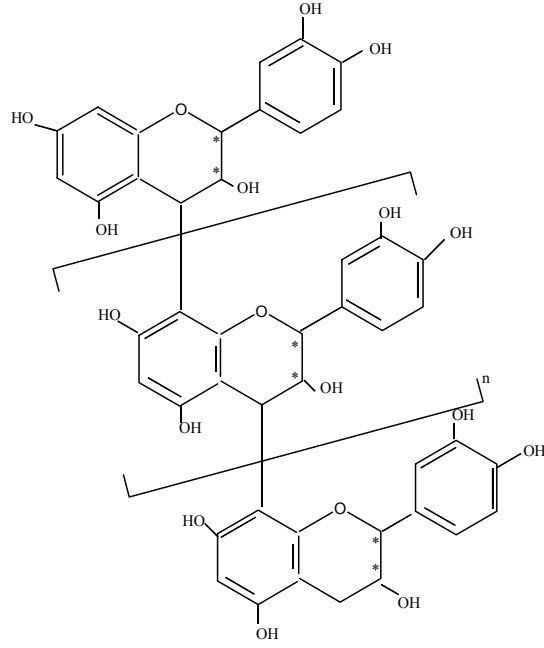
glikozitler. İzoflavonlar çoğunlukla oksijenlenmiş daidzein, genistein, glycitein ve bunların glikozitlerini (daidzin, glycitin, genistin) kapsar“(Wrolstad ve ark.2005; Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Griffith ve Collion 2001; Gu ve Gu 2001; Choi ve ark. 2000)”.’

2.3. Tanenler

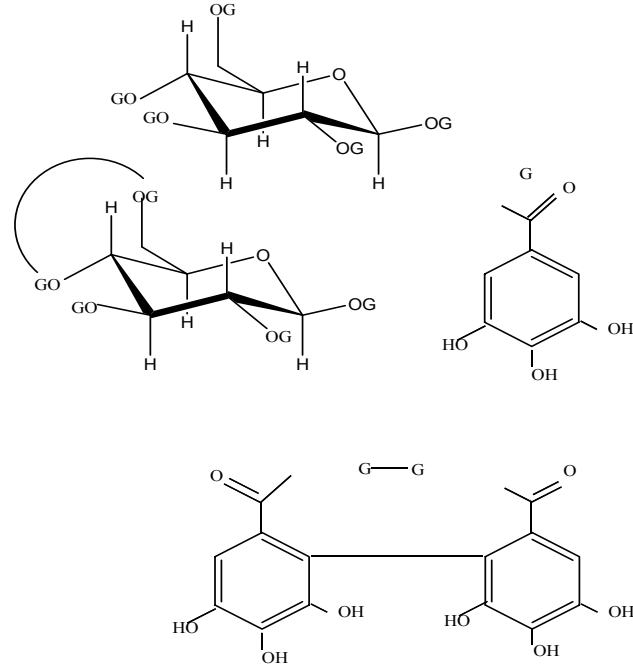
Tanenler, yüksek molekül ağırlığına sahip polifenol polimerleridir. Bunlar doğal olarak oluşabilir ve proteinlerle reaksiyon yaparlar. Tanenler üç gruba sınıflandırılır; kondense tanenler, hidrolize edilebilir tanenler ve florotanenler (Şekil 2.15 – 2.17). Kondanse tanenler (daha çok proantosiyanidin veya prosiyanidin olarak ifade edilirler.) kateşinlerin flavan-3-ol yapısının kimyasal veya enzimatik olarak dimer, oligomer ve polimerlere kondensasyonu ile oluşan bileşiklerdir. Kateşin monomerlerinin kondensasyonu genellikle C₄-C₈ bağı veya C₆'dan gerçekleşmektedir. Böylece çoğunlukla doğrusal proantosiyanidinler oluşur. Doğal olarak doğrusal olmayan C₄-C₈ proantosiyanidinlere fazla rastlanmaz. Bu bileşiklerin buruk veya acı tadı molekül ağırlıklarına bağlı olup, kısa zincir uzunluğundaki moleküller renksiz olduğu halde polimerizasyon dereceleri yükseldikçe renkleri sarıdan kahverengine dönüşmektedir. Ancak asit ortamda ısıtıldıklarında antosiyanidinlere dönüşerek tipik kırmızı-mor bir renk alırlar “(Saldamlı 1998; Kennedy 1987)”. Saf kateşin/epikateşin ünitelerinin kondensasyonu ile oluşan bileşiğe prosiyanidin adı verildiği halde, kateşin/gallo kateşin kondensatlarına prodelfinidin denilmektedir.

Hidrolize edilebilir tanenler gallik asit ya da ellagik asitin polimerleridir, sırasıyla gallotanen ve ellagitanenler üretilir. Gallik asitlerin birçoğu şeker molekülleriyle bağlanmıştır.

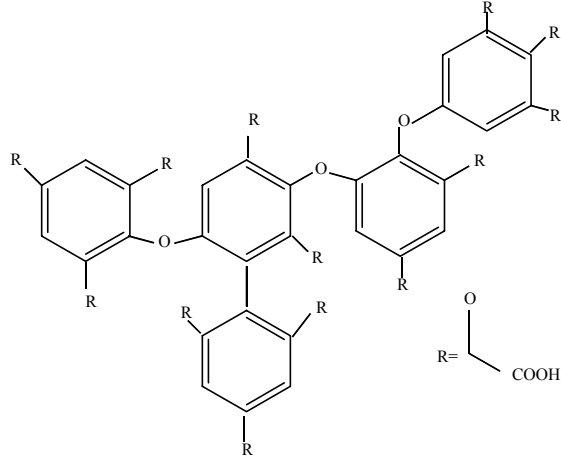
Bu bileşiklerin molekül büyüklükleri 500–3000 dalton arasında değişir ve proteinleri çöktürme ve deriyi sepilme (deri üretiminde ham derinin tabaklanması) özellikleri vardır.



Şekil 2.15. Kondense tanenler(n =alt birim sayısını gösterir), aktif merkezler yıldızla gösterilmiştir



Şekil 2.16. Hidrolize edilebilir tanenler (G;galloyl.)



Şekil 2.17. Florotanenler

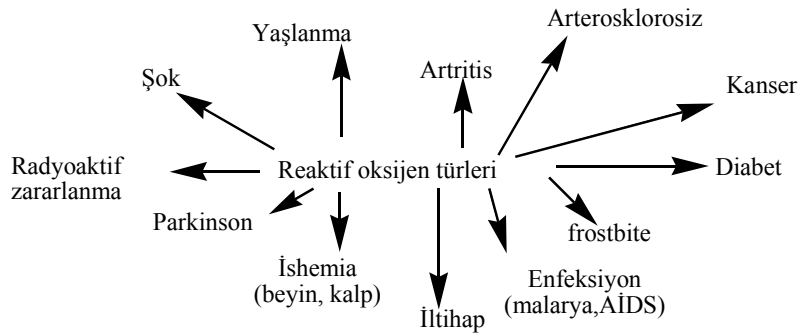
2.4. Fenolik Bileşiklerin Analizi

Fenolik bileşikler, bitkilere özgü bir bileşik grubudur. Ancak bitkilerin farklı organlarında bulunan fenoliklerin bileşenleri nitel ve nicel olarak farklıdır. Bu nedenle doğal bileşiklerin farklı sınıfları gibi, fenolik bileşiklerin de izolasyonu için evrensel bir yöntem yoktur “(Shahidi ve Naczki 1995; Shahidi ve Naczki. 2003)”. Gıda maddelerindeki fenolik maddelerin nicel ve nitel analizi için farklı yöntemler kullanılır. Bunların kapsadığı fenolik maddeler farklı olduğu için bunların adlandırılması da değişik olur “(Wrolstad ve ark.2005; Shahidi ve Naczki. 2003; Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Karadeniz ve Ekşi 2002; Shahidi ve Naczki 1995)”.

Gıdalardaki fenolik madde dağılımının belirlenmesi için uygulanan yöntemlerin zamanla değiştiği görülmektedir. Başlangıçtaki araştırmalar kâğıt kromatografisi tekniğine dayanmaktadır. Bunu izleyen araştırmalarda ise kolon kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi yöntemleri uygulanmaktadır.1978 yılından sonra ise fenollerin YBSK ile analizi yaygınlaşmaktadır. Bu yöntemlerin duyarlılığı fenolik bileşenin yapısına göre %±5–10 arasında değişmektedir (Karadeniz ve Ekşi 2002). Bulguların yorumlanmasında analiz yöntemi ile birlikte serbest veya bağlı formdaki fenolikler açısından analiz örneğine hidroliz uygulanıp uygulanmadığının da dikkate alınması gereklidir “(Karadeniz ve Ekşi 2002; Gil-Munoz ve ark. 1999)”.

3. OTOOKSİDASYON VE ANTİOKSİDANLAR

Antioksidanlar gıdalarda veya vücutta bulunan, oksitlenebilir maddelere oranla daha düşük konsantrasyonda olan ve bu maddelerin oksidasyonunu önleyen veya yok eden maddelerdir. Biyolojik olarak oksijenin yaşam için vazgeçilmez olduğu bir gerçektir. Ancak oksijenin vazgeçilmez olmasının yanı sıra diğer bir yönü daha söz konusudur. Bulunduğu ortamdaki diğer moleküllerle çok kolay reaksiyona girip yapılarının bozulmalarına yol açar. Reaktif oksijen türleri denilen bu moleküller gerçekte canlı organizmanın yapısında bulunan maddelerdir ve bu moleküllerin yeterli miktarı yaşam için gerekli enerjinin sağlanmasında kullanılırken aşırısı canlı organizmaya zarar verir. Çevresel faktörler, UV ışınları, toksinler, metal varlığı, sigara ve stres gibi dış etkilerin varlığı ile organizmada bulunan bu oksijen türleri gerekenden fazla miktarda bulunurlar. Bu moleküllerin organizmada bulunan lipid, protein, karbonhidrat ve DNA gibi bileşenler ile reaksiyona girerek yapılarının bozulmasına ve dokunun hasarına neden olarak birçok hastalığa yol açtığı bilinmektedir. Kanser, karaciğer yetmezliği, şeker hastalığı ve yaşlanma bu hastalıkların başında gelmektedir (Şekil 3.1.) ‘‘(Shahidi ve Nacz. 2003; Davalos ve ark. 2004; Negro ve ark. 2003; Pour Nikfardjam ve ark. 2006; DeBeer ve ark. 2005;Yılmaz ve Toledo 2003; Wanasundra ve Shahidi 1998)’’.



Şekil 3.1. Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hastalık ve hasarlar (Shahidi ve Nacz 2003).

Reaktif oksijen türleri yaşam için vazgeçilmez diğer bir temel unsur olan besinlerin bozunmalarına da yol açan en önemli faktörlerdir. Üretim, proses, depolanma ve tüketiciye ulaştırılması sırasında, özellikle besinlerin ana bileşenlerinden birisi olan yağların bozunmalarına yol açarak tat, koku, görünüş, besleyici değerlerinin düşmesi ve zararlı kimyasal maddelerin oluşması gibi istenmeyen fiziksel ve kimyasal değişmelere neden olurlar.

Besinlerin bozunmalarını önlemek için üretim ve kullanım aşamasında oksijenle temasının kesilmesi bir yol olmasına rağmen pratikte bu pek mümkün değildir ve antioksidan denilen koruyucu katkı maddeleri ile yağların dolayısı ile besinlerin bozunması önlenmeye çalışılır. Fenolik ve polifenolik bileşikler içeren gıdalardan elde edilen doğal antioksidanların antioksidan etkileri gıdanın karakteristik yapısına göre değişmektedir.

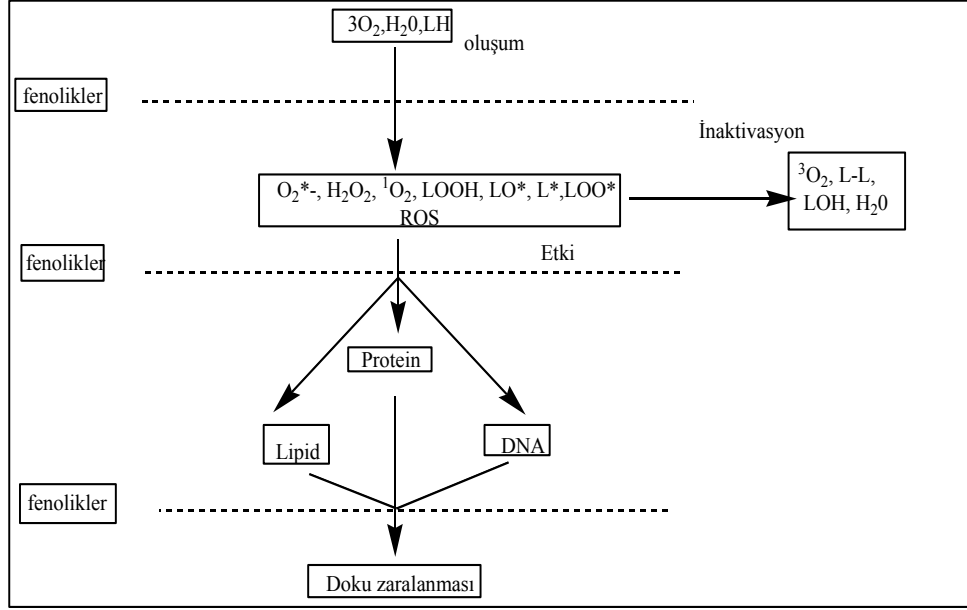
Antioksidan maddeler sentetik ve doğal olmak üzere iki ana kısımda incelenmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda toksik olabilecekleri ortaya çıkan sentetik antioksidanların gıdalarda kullanılmaları daha az tercih edilirken, doğal olmaları nedeniyle, bitki veya hayvansal kaynaklardan elde edilen antioksidanlara karşı ilgi gittikçe artmaktadır. Bitkisel gıdaları tüketenlerin sağlık açısından sağladığı faydalar fenoliklerin varlığında tanımlanmıştır (Şekil 3.2).

3.1. Serbest Radikaller

Vücudumuzda kanser ve kalp gibi hastalıklar için kontrol edilmesi gereken düşmanlardan biri de serbest radikaller. Serbest radikaller somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldıran moleküllerdir. Serbest radikal oluşumuna sigara, herbisit ve pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar, güneş ışınları, X-ışınları, hatta yiyeceklerde bulunan bazı bileşikler neden olur. Ayrıca egzersizler de oksijen kullanımındaki artışla beraber serbest radikal oluşumuna neden olur “(Gümrükçüoğlu ve Onur 2006; Floyd 1990; Louli ve ark. 2004; Yen ve Hung 2000; Minussi ve ark. 2003; Katalinic ve ark. 2004; Oktay ve ark. 2003)”.

Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ama eğer zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur. Bilim adamları

1954'den beri serbest radikallerin yaşlanma ve dejeneratif hastalıklara neden olduğunu bilmektedirler.



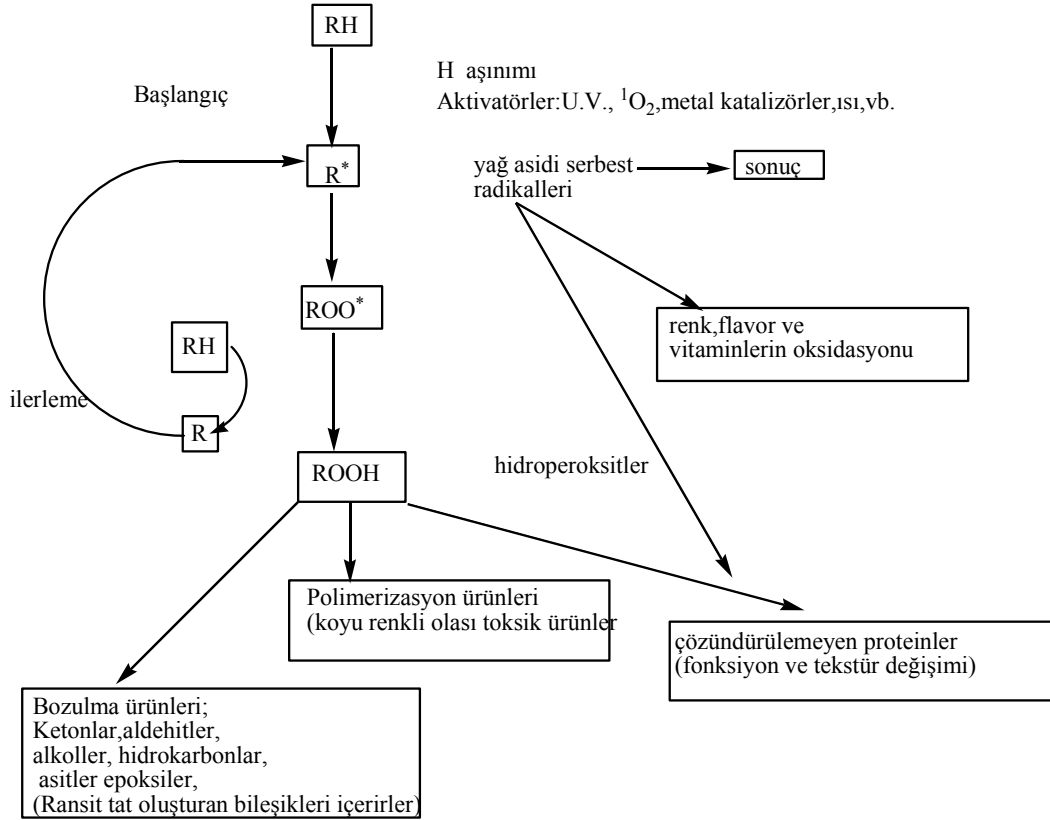
Şekil 3.2. Hastalıklarda reaktif oksijen türlerin sonuçları ve fenoliklerin önleyici rolleri (Shahidi ve Naczk. 2003).

Antioksidantlar ise serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi oluşturur. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler. Serbest radikallerin bu hasarlarının en temel nedenleri, lipid peroksidasyonu, proteinler arasında disülfid bağı oluşumu ve DNA hasarıdır.

Vücudumuz serbest radikalleri tanıyan ve etkisiz hale getiren bir sisteme sahiptir. Bu reaktif ortamın yok edilmesi veya başlangıçtan engellenmesi için gerekli olan koruma sistemlerinden biri antioksidan maddelerle koruma sistemidir. Bu koruma sisteminin işlevini yerine getirebilmesi için organizmada oksidan ve antioksidan maddelerin dengesinin mevcut olması gerekir. Bu denge oksidanların lehine gelişirse vücutta oksidatif hasarlar oluşur ve bu çeşitli hastalıklara yol açar. Bu hasarların bertaraf edilmesi antioksidan maddelerin alınması ile gerçekleşir. Eğer denge antioksidanların lehinde ise bu iyi bir beslenme veya antioksidanların düzenli ve sürekli alınması ile sağlanabilir “(Gil-Munoz ve ark. 1999; Gümrukçüoğlu ve Onur 2006)”.

3.2. Yağların Oksidasyonu

Gıdaları oluşturan temel unsurlar karbonhidrat, protein ve yağdır. Gıdalarda oksidasyon olayı da karbonhidrat oksidasyonu, protein oksidasyonu ve yağ oksidasyonu şeklindedir. Son zamanlarda. "gıda antioksidanları" terimi yalnızca yağ oksidasyonunda serbest radikal tepkimelerini engelleyen maddeler için kullanılmaktadır. Yağlar ve yağ içeren gıdalar hava oksijeninin etkisi ile oksidasyona uğramaktadırlar. Genellikle doymamış yağ asitlerinin otoksidasyonu ile uçucu bileşiklerin oluşması ve istenmeyen tat-kokuya neden olması "ransidite" olarak tanımlanır (Çakmakçı ve Çelik 1994). Bu olay başlangıç, ilerleme ve sonuç aşamalarından oluşmaktadır (Şekil 3.3)



Şekil 3.3. Çoklu doymamış yağ asidi (RH) içeren lipidlerin otoksidasyonunun genel şeması (Shahidi ve Naczki, 2003)

Antioksidanlar, zincir tepkimesinin "ilerleme" aşamasında oluşan ROO* serbest radikale hidrojen atomu vererek zincir tepkimesini durdururlar. Boland

ve ten-Have serbest radikal sonlandırıcılar için reaksiyon (5) ve (6) önermişlerdir. Buradaki yağ radikallerine hidrojen atomunun hızlı bir şekilde verilmesi ile fenolik antioksidanlar (AH) yağ oksidasyonuna engel olurlar. Son reaksiyonlar(reaksiyon 3'den 9'a kadar) zincir çoğalması ile tamamlanır.

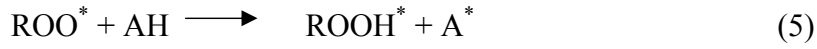
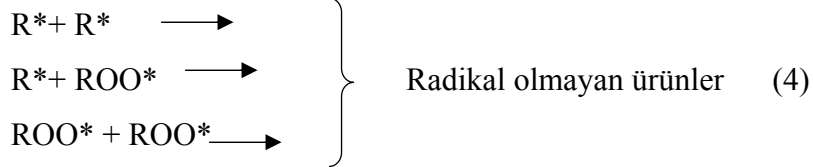
Başlama basamağı



İlerleme basamağı



Sonlandırma basamağı



RH : Yağ asidi esterleri

R^{*} : Yağ asidi serbest radikalleri

ROOH: Yağ asidi hidroperoksitleri

ROO^{*} : Peroksit yapısındaki serbest radikaller

Yukarıdaki reaksiyonlar ekzotermiktir. A-H ve R-H bağlarının parçalanma enerjileri arttıkça aktivasyon enerjisi de artar. Bu yüzden A-H bağlarının sağlamlığı azaldıkça, antioksidanların (AH) verimi artar (Shahidi ve Nacz 1995).

5.ve 6.tepkimeye göre antioksidanlar besinde oluşan radikallerle tepkimeye girerler ve fenoksi radikallerini oluştururlar ki bunlar stabil maddelerdir. Diğer taraftan bu antioksidanlar, 7. ve 8. eşitlikte görüldüğü gibi, hidrojen verdiklerinde, oluşan kendi radikalleri vasıtası ile ortamdaki alkoksi ve peroksit radikallerini de bağladıklarından, otooksidasyondaki zincir tepkimelerinin kırılmasını ve durmasını sağlarlar. Çünkü antioksidan radikalleri ile son tepkimeler sonucu oluşan ürünler de, doymamış bileşenlere kıyasla daha stabil maddelerdir. Bir antioksidan molekülü en çok iki radikalde oluşacak zincir tepkimesini bloke edebilmektedir. Ancak antioksidanlar yalnızca aktif radikal yakalamazlar, bunun yanında ortamda hidroksi ve hidroperoksitlerin oluşumunu da baskı altına alırlar “(Saldamlı 1998; Shahidi ve Naczki. 2003)”

Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sırasında meydana gelen ilk ürünler hidroperoksitlerdir. İkincil oksidasyon ürünleri karbonil ve karboksil bileşiklerdir. Bu bileşikler gıdaların istenmeyen tat ve kokularının artmasına neden olurlar (Risch ve Ho 1997). Oksidasyona yol açan veya onu hızlandıran reaktiflerin basında oksijen gelir; ayrıca ışık, sıcaklık, demir ve bakır gibi metal iyonları, bir kısım pigmentler ve doymamışlık derecesi oksidasyonu hızlandırmaktadır. Bu faktörler ortadan kalktığı takdirde oksidasyon önlenmektedir. Ancak pratikte bu mümkün olamamaktadır. Dolayısıyla oksidasyonu dışarıdan herhangi bir madde katmadan önlemek çok zordur. Oksidasyonun fiziksel yöntemlerle önlenemediği durumlarda antioksidanlar katkı maddesi olarak kullanılmaktadır “(Keskin, H. 1975; Risch ve Ho 1997; Saldamlı 1985; Altuğ 2001)”. Oksidasyon yağlar ve yağ içeren gıdalarda lezzet kaybı veya istenilmeyen bir lezzete neden olan önemli bir kimyasal reaksiyon olup, oksidatif reaksiyonun aşırı olması durumunda ise toksik yan ürünler oluşabilmektedir. Ancak genellikle yağların oksidasyonu toksik yan ürünlerin dikkate alınacağı bir noktaya kadar ilerlememektedir. Yağ oksidasyonu sonucu oluşan ürünler genellikle istenilmeyen lezzet değişimlerine neden oldukları için gıdaların pazarlanabilirliğini olumsuz yönde etkilemektedir.

3.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar, besin sanayinde bitkisel ve hayvansal yağlar ve yağ içeren gıda maddelerinin üretimi, depolanması, taşınması ve pazarlanması sırasında atmosfer oksijeninin etkisini geciktiren, besinin bozulmasını ve acılaşmasını belli bir süre engelleyen en etkili maddelerdir. Bunlar besin kalitesini arttırmayıp onlara herhangi bir yabancı tat ve koku da vermezler (Gökalp ve ark. 1997).

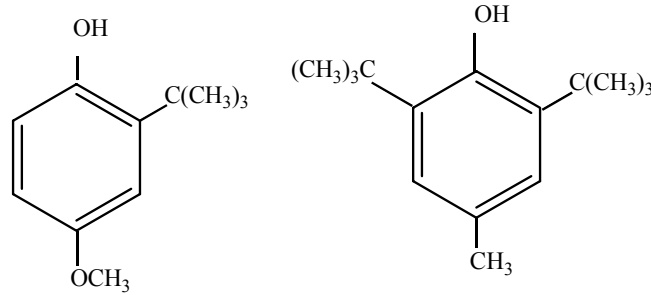
Antioksidanlar otooksidasyon olayında çoğalma basamağındaki zincir reaksiyonlarının hepsini engelleyecek konsantrasyona ve etkiye sahip olmalıdırlar. Antioksidanları çoğalma basamağında veya hidroperoksitlere bozunması sırasında oluşan serbest radikalleri süpürme etkileri oksidasyonu geciktiren faktörlerden birisidir. Bu basamakta etki eden antioksidanlar genellikle birincil (primer) antioksidanlar olarak bilinirler. Birincil antioksidanlar başlangıç basamağında zincir reaksiyonlarını engellerler. Belli bir antioksidan konsantrasyonunda radikallerin düşük konsantrasyon seviyesinde tutulması için geçen zaman inhibisyon (bozunmayı engelleme) zamanı olarak bilinir. Bu süre zarfında antioksidanlar yavaş yavaş azalır ve kritik konsantrasyona ulaşıldığında hidroperoksitlerin konsantrasyonu artmaya başlar. Artan hidroperoksitler radikallerin konsantrasyonunu da artırır ve geri kalan antioksidanlar da tamamen kullanılır. Antioksidanların tamamen tükenmesinden sonra oksidasyon prosesleri hızlanır ve ikincil oksidasyon ürünlerinin üretimi artar ki bu ürünler ürünün bozunmasını hızlandırır (Risch ve Ho 1997).

Antioksidanlar kaynakları bakımından doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar “(Altuğ 2001; Gökalp ve ark. 1997)”.

3.3.1. Sentetik antioksidanlar

Sentetik tipler arasında yiyecekleri korumak amacıyla en sık kullanılanlar; bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), tersiyer bütillhidrokinon (TBHQ) ve propilgallat (PG) 'dır “(Shahidi ve Naczki 1995; Moure, ve ark. 2001)”. Çizelge 3.1'de sentetik antioksidanların genel özellikleri verilmiştir.

BHT ve BHA monohidrik fenolik antioksidanlardır (Şekil 3.4). BHA ($C_{11}H_{16}O_2$) ticari olarak 3-tertiyer-bütıl-4-hidroksianisol (%90) ve 2-tertiyer-bütıl-4-hidroksianisol (%10) karışımıdır. İki çözültide yağlarda oldukça iyi çözüdürken suda çözüdürmezler. BHT($C_{15}H_{24}O$)'nin hayvansal yağlarda oksidasyonu engelleme özelliği bitkisel yağlara göre daha fazladır. BHA ve BHT uçucu yapılarından dolayı, yiyeceklerin içine girebildiklerinden dolgu maddesi olarak paketlenme materyalleri için önemli katkı maddeleridir (Moure ve ark. 2001). Bu nedenle ambalaj malzemesinin iç yüzeydeki mumsu tabakalarına doğrudan emülsifiye edilirler. İkisinin birlikte kullanımı sinerjistik etki yapmaktadır. BHA özellikle esansiyel yağlar için renk ve flavor, ayrıca kısa zincirli yağ asitlerinin (Örneğin; tahıl ve şekerleme ürünlerinde kullanılan Hindistan cevizi ve palm çekirdeği yağları) oksidasyona karşı korunmasında kullanışlıdır. Fındık ve fındık ürünlerinde BHT ve BHA, ikisi birlikte oksidatif reaksiyonlara karşı oldukça iyi cevap vermektedir.

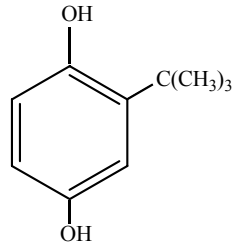


Şekil 3.4. BHA ve BHT' nin kimyasal yapıları

Terteriyer bütılhidrokinon (TBHQ), ($C_{10}H_{14}O_2$) kızartma yağlarını oksidasyona karşı korumak için kullanılan en iyi antioksidandır (Şekil 3.5). Oksidatif stabiliteyi arttırdığı için hidrojenasyona alternatif olarak alınabilir. TBHQ ham yağların stabilizesinde iyi bir performans gösterir, katı ve sıvı yağlarda erir. Propil gallat (PG) gibi, demir ve bakır iyonları ile kompleksler meydana getirmez. Buna rağmen, kızartma işleminden gıda içinde aktivitesini koruyabilme oranı yüksektir. Fırınlanmış ürünlerde iyi sonuç vermemektedir.

Çizelge 3.1 Sentetik antioksidanlar ve özellikleri (Shahidi ve Naczk. 2003)

Özellikler	BHA	BHT	PG	TBHQ
Erime noktası(°C)	50–52	69–70	146 – 148	126–128
Sinerjizm	BHT ve PG	BHA	BHA	-
Çözünürlük (w /w, %)				
Su	0	0	<1	<1
Propilen glükol	50	0	6,5	30
Mısır yağı	30	40	0	10
Gliserol	1	0	25	<1
Domuz yağı	30–40	50	1	0,5–10



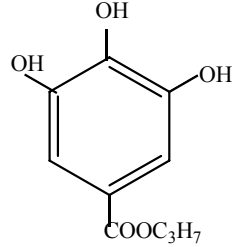
Şekil 3.5. TBHQ' nin kimyasal yapısı

Tek başına veya BHA ve/veya BHT ile kombine olarak kullanımı daha uygundur. Kullanım sınırı yağ miktarı üzerinden en fazla % 0,02 veya 200 ppm'dir. PG ile birlikte kullanımı etkisini azalttığından tavsiye edilmez. Bir kelat ile karıştırıldığında stabilize edici özellik kazanmaktadır (Shahidi ve Naczk 1995).

TBHQ ve sitrik asit kombinasyonu, genellikle bitkisel yağlar, shorteningler ve nispeten de hayvansal yağlarda kullanılmaktadır. Fındık ürünleri ve şekerleme imalatçıları tarafından da fazlaca kullanılmaktadır.

Propilgallat (PG) ticari olarak gallik asitin propil alkol ile esterifikasyonuna fazla alkolünü uzaklaştırmak için distillasyon işlemi yapılması ile elde edilir (Şekil 3.6). Hayvansal ve bitkisel yağların stabilizasyonunda kısmi olarak etkilidir. Propil gallatın 148°C'de erimesi antioksidan etkisinin ortadan kalkmasına yol açmaktadır ve bu nedenle kızartma yağları için önerilmemektedir. PG demir iyonları ile mavi-siyah kompleksler oluşturduğundan sitrik asitle birlikte

kullanılmaktadır. Gallatların uçuculuğu düşük olduğu için BHT ve BHA gibi monohidrik fenollerden daha az fenolik kokuya sahiptirler (Shahidi ve Nacz 1995).



Şekil 3.6. Propil gallat'ın kimyasal yapısı

3.3.2. Doğal antioksidanlar

Doğal kaynaklı antioksidanlar başlıca polifenolik bileşiklerden meydana gelirler ve bu bileşikler, bitkilerin her bölümünde bulunabilirler. Bitki fenolleri çok fonksiyonludur ve indirgeme ajanı, metal bağlayıcı, tekli oksijen yakalayıcı vb. olarak görev yapabilirler. Baharat ve bitkilerden oluşan bazı maddeler yüksek antioksidan etkilerine rağmen, karakteristik bitkisel aromalarını yiyeceklerde açığa çıkardıkları ve deodorizasyon basamağı gerektirdikleri için uygulamaları kısıtlıdır (Shahidi ve Nacz 1995).

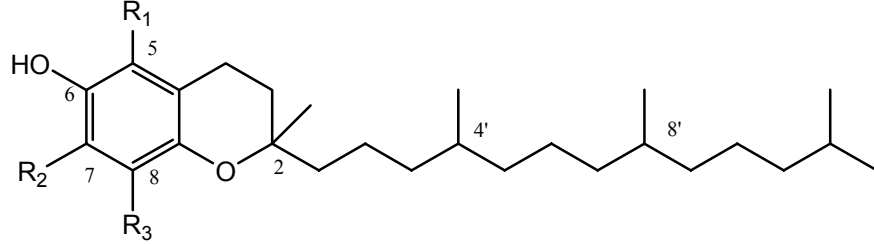
Genel bir kural olarak bitkilerden elde edilen antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda prooksidan, kritik değerlerin üzerinde ise antioksidan özellik gösterirler. Bununla beraber bazı antioksidanlarda ters etkiye mümkündür. Doğal antioksidanlar genel olarak tokoferoller, sinamik asit türevleri, kumarinler, çok fonksiyonlu organik asitler, askorbik asit ve tuzları ve flavonoidler olarak gruplandırılabilir.

3.3.2.1. Tokoferoller

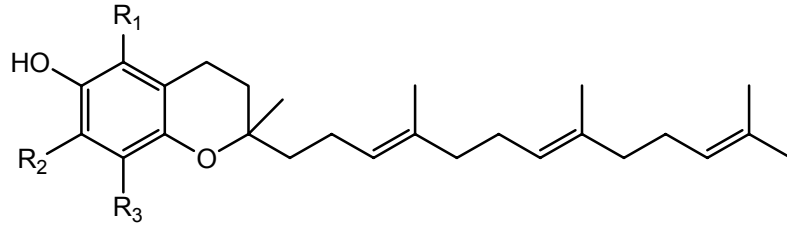
Doğada yaygın bulunan monofenolik antioksidanlardır. Tokoller ve tokotrienoller olarak adlandırılan iki ana gruba bağlı 8 farklı bileşikten oluşurlar. Tokollerde yan zincir doymuş, tokotrienoller de doymamış yapıdadır (Şekil 3.7).

Tokoferollerin antioksidan aktivitesi sıcaklıkla büyük ölçüde değişmektedir. Genel olarak antioksidan etkinliklerinin derecesi büyükten küçüğe

doğru δ , γ , β , α şeklinde sıralanabilir “(Shahidi ve Naczk 1995; Moure ve ark. 2001)”. Ancak başta sıcaklık olmak üzere bazı faktörlerden dolayı söz konusu türevlerin antioksidan aktiviteleri etkilenmekte ve birbirleriyle kıyaslandığı zaman verimlilikleri değişebilmektedir. Karanlık ortam da aydınlığa göre daha fazla etkilidir “(Saldamlı 1985; Altuğ 2001)”.



Tokol türevleri	R ₁	R ₂	R ₃
5,7,8 –trimetiltokol (α - Tokoferol)	CH ₃	CH ₃	CH ₃
7,8-dimetiltokol (β - Tokoferol)	CH ₃	H	CH ₃
5,8-dimetiltokol (γ - Tokoferol)	H	CH ₃	CH ₃
8-metil tokol (δ - Tokoferol)	H	H	CH ₃



Tokotrienol türevleri	R ₁	R ₂	R ₃
5,7,8 -trimetil tokotrienol I(α - Tokotrienol)	H ₃	CH ₃	CH ₃
7,8-dimetil tokotrienol (β - Tokotrienol)	CH ₃	H	CH ₃
5,8- dimetil tokotrienol (γ - Tokotrienol)	H	CH ₃	CH ₃
8-metil tokotrienol (δ - Tokotrienol)	H	H	CH ₃

şekil 3.7.Tokoferol ve ilgili bazı bileşiklerin kimyasal yapısı

Tokoferoller bitkisel yağlarda bulunmakta olup temel ticari kaynakları soya fasulyesidir. Hayvansal kaynaklı gıda ürünleri tokoferol ve askorbik asit gibi doğal antioksidanları çok az içermekte ya da hiç içermemektedir. Domuz yağı ve

kümes hayvanlarından elde edilen katı yağlar buna örnek olarak verilebilmektedir. Bu maddelerin antioksidan etki gösterdikleri optimum konsantrasyonlarının, doğal olarak bitkilerde bulunma oranlarına benzer olduğu ifade edilmektedir “(Saldamlı 1985; Shahidi ve Naczki. 2003; Altuğ 2001)”.

3.3.2.2. Askorbik asit ve tuzları

Birçok gıda hammaddesinde yüksek oranda, yaygın ve doğal olarak bulunan antioksidan askorbik asittir. Bu bileşikler doğrudan antioksidan olarak etkili oldukları gibi (yağ oksidasyonu dışında) normal olarak fenolik antioksidanları rejenere etmekte ve iz metalleri de bağlamaktadırlar. Bu bakımdan ilk planda sinerjistik olarak kabul edilebilirler. Doğal olarak meyvelerde ve sebzelerde yer alan C vitamini, L-askorbik asit, özellikle konserve veya şişelenmiş ürünler gibi tepe boşluğu olan gıdalarda oksijen tutucu olarak kullanılmaktadır “(Saldamlı 1985; Altuğ 2001)”.

3.3.2.3. Fenolik bileşikler ve polifenoller

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri kimyasal yapılarından etkilenmektedir. Polimerik polifenoller basit monomer fenoliklerden daha kuvvetli antioksidanlardır. Flavanollerin polimerizasyon derecesi yükseldikçe süper oksit süpürücülük özellikleri artmaktadır. Fenolikler genellikle meyvelerde, sebzelerde ve çaylarda bulunan ikincil bitki metabolitleridir. Bitkiler tüm geleneksel ilaç tedavilerinin temelini oluşturmuş olsa bile meyve ve sebzelerdeki antioksidanların pozitif etkileri de ispatlanmıştır (Jacobs ve Robert 1973)

En basit fenol modern tıpta cerrahi antiseptik olarak kullanılan, hidroksibenzen veya karbolik asit olarak adlandırılan fenol'dür. Ögenol, karvakiol ve timol ise diğer antiseptik fenollerdir (Köseoğlu ve ark. 1996).

3.3.2.4. Amino asitler, peptidler, proteinler

Bir süre önce amino asitlerin antioksidatif ve sinerjistik etkileri ortaya çıkarılmıştır. Bu konuda yapılan çeşitli araştırmalar bazı amino asitlerin antioksidan özellikler taşıdığını ortaya koymuştur. Triptofan ve peptidlerden oluşan antioksidanlar salam, sucuk ve süt ürünleri için önerilmektedir. Bazı süt

ürünlerinde depolama sırasında süt yağının oksidasyona uğramasında önleyici olarak kullanılan triptofan ve lizin'in antioksidatif etki yarattıkları saptanmıştır (Saldamlı 1985).

Bazı araştırmacılara göre aminoasitlerin antioksidan özellikleri prolin, lizin, sistein, triptofan sırasını izlemekte ancak bu amino asitlerin hiçbiri yapay bir antioksidan olan BHA kadar etkili olamamaktadır.

3.4. İdeal Antioksidan Özellikleri

Yağ ve yağ içeren besinlerin acılaşmasını önleyen antioksidanların etkileri çok değişiktir. Klorofil karanlıkta antioksidan olarak yağları koruduğu halde ışıktaki aksine prooksidan etkisi yapar.

Antioksidanların toksik etkilerinin dikkatle göz önünde bulundurulması gerekir. Antioksidanların toksik etkileri hayvanlar üzerinde tespit edilmektedir (Keskin 1975).

İdeal bir antioksidanda bulunması gereken özellikler şu şekilde sıralanabilir: Yağda kötü bir tat, renk ve koku bırakmamalıdır. Toksik olmamalıdır. Yağda kolayca çözülmelidir. Az miktarda etkili olmalıdır. Yeterli miktarda kolayca bulunabilmelidir. Yağ içeren besinlere ve yağlarda yapılan pişirme, kızartma, vs. gibi işlemlerden sonra etkisini kaybetmemelidir. Ucuz olmalıdır. Uçucu olmamalı ve sıcaklığa karşı dirençli olmalıdır.

3.5. Antioksidan Aktivite Tayini

Antioksidanların aktivitesi, yağlarda otooksidasyon sonucu oluşan birincil ve ikincil ürünlere bakılarak belirlenebilir. Genellikle hidroperoksit oluşumunda gecikme veya kimyasallar ile otooksidasyon ile ikincil ürünler üretmek gibi metotlar kullanılır. Bu yöntemler bozulmuş besinlerde de uygulanabilir. Gıdalar üzerinde yapılan çalışmalar, normal depolama koşullarında veya hızlandırılmış oksidasyon yöntemleridir. Hızlandırılmış oksidasyon yöntemlerine örnek olarak aktif oksijen metodu, Schaal fırın testi, oksijen bomba kalorimetresi ve peroksit sayısı verilebilir (Shahidi ve Naczki 1995).

Antioksidanların aktivitesi yağların trigliserol, metil ester ve serbet yağ asidi oluşuna göre değişmektedir. Antioksidanların fonksiyonu sulu çözeltide, yağın yağda ve yağ/su veya su/yağ emülsiyon sistemlerinde değişiklik göstermektedir.

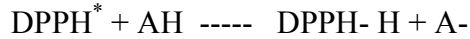
Antioksidanların aktivitesi test sistemlerinin fiziksel kompozisyonlarından etkilenirler. Polar antioksidanlar yağ sistemlerinde polar olmayan antioksidanlar su-yağ çözelti sisteminde daha aktiftirler ve buna da polar paradoks adı verilir (Frankel ve Meyer 2002).

3.6. Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidanların serbest radikal süpürücü aktivitelerini ölçebilmek için birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler kullanılarak antioksidanların kapasiteleri belirlenir. Yaygın olarak kullanılan serbest radikal yakalama yöntemleri DPPH, TRAP, FRAP ve süperoksit anyon süpürücüsüdür (Frankel ve Meyer 2002).

3.6.1. DPPH radikal testi

2,2- difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali fenolik antioksidanların aktivite tayini çalışmalarında kullanılan en eski sentetik radikallerdendir.



Yukarıdaki tepkimeye göre antioksidanlar hidrojenini DPPH* radikaline verirler. Bu testin süresi 10 dakika ile 6 saat arasında değişmektedir. Bu test polifenolik bileşiklerin antiradikal etkilerini belirlemekte kullanılmaktadır (San Chez ve ark. 1998).

DPPH testinin kullanımı sınırlıdır. Çünkü DPPH radikalleri diğer radikallerle (alkil) etkileşir ve DPPH radikalleri sabit hale gelene kadar geçen süre doğrusallıktan sapar (Frankel ve Meyer 2002).

3.6.2. TRAP testi

Toplam radikal yakalama kapasite (TRAP) testi toplam antioksidan kapasitesini ölçmek için geliştirilmiştir. Bu testte 2,2'-azobis (2- amidinopropan)

hidroklor (ABAP) plazma antioksidanlarını oksitlemek için peroksi radikallerini üretir ve bu oksidasyon olayı oksijen absorpsiyonu ile gözlenebilir (Frankel ve Meyer 2002).

3.6.3. FRAP testi

Antioksidanın demir indirgeme gücü (FRAP) olan bu test direkt olarak antioksidanın demir tripiridil-triazine kompleksini (Fe^{+3} -TPTZ) demir kompleksine (Fe^{+2} -TPTZ) indirgeyebilme kabiliyetini ölçmektedir. Bu olay düşük pH değerlerinde gerçekleşir. Bu durum antioksidanın elektron yakalama kapasitesi ile doğru orantılıdır. FRAP testi antioksidanların koruyucu özellikleri konusunda herhangi bir bilgi sağlayamaz (Frankel ve Meyer 2002).

3.6.4. Süperoksit anyon süpürücü

Süperoksit radikal anyonu (O_2^-) yağ oksidasyonunu direkt olarak başlatamaz. O_2^- süpürücüsü biyolojik ve yağ sistemlerinde oksidasyonu engelleyen tek mekanizma değildir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin O_2^- süpürücü etkileri vardır. Fakat yağ oksidasyonunu önlemek için etkili değildirler. Bu test büyük bir dikkat ile uygulanmalıdır. Çünkü süperoksit radikalleri test süresince üremeye başlarlar ve dengeye gelme söz konusu değildir (Frankel ve Meyer 2002).

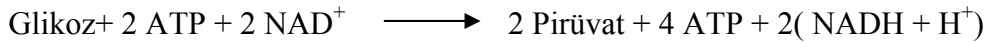
4. FERMENTASYON

Hans Buchner ve Eduard Buchner 1897 yılında, tamamen rastlantı olarak maya hücrelerinden elde ettikleri özütün, şekeri alkole dönüştürdüğünü gözlemişlerdir. Daha sonra Arthur Harden ve William Young 1905 'te glikozun maya özütü ile alkole dönüştüğünü gösterdiler ve bu tepkimelerin evrelerini ve koşullarını belirlediler “(Aktan ve Kalkan 2000; Pamir 1985; Gözükara 2001; Şahin 1995; Anonim 2007; Avcı 2004)’’.

Daha ileri yıllarda gelişmiş hayvanlarda kas hücre özütleri ile de benzer tepkimelerin olduğu saptanmış ve glikozun pirüvata yıkılması ile sonuçlanan reaksiyonlara glikoliz adı verilmiştir. Altı karbonlu glikoz molekülünün, iki tane iki karbonlu etanole (C₂H₅OH) ve iki karbondioksit molekülüne yıkılması olayına alkol fermantasyonu adı verilmektedir. Alkolik fermantasyon glikolizdeki aynı enzimatik kademelerden oluşmakta fakat üç karbonlu bileşiğin etanol ve CO₂'ye kadar parçalanması için ilave iki enzimatik kademeye gereksinim duymaktadır. Glikoliz reaksiyonlarının tamamen çözümlenmesi 1940'larda Gustav Embden, Otto Meyerhof ve arkadaşları tarafından gerçekleştirildiğinden bu reaksiyon dizisi Embden-Meyerhof yolu olarak bilinir (Şekil 4.1) ve bu yol funguslar ve bakterilerin kullandığı bir metabolik yıkım olayıdır “(Aktan ve Kalkan 2000; Pamir 1985; Gözükara 2001)’’.

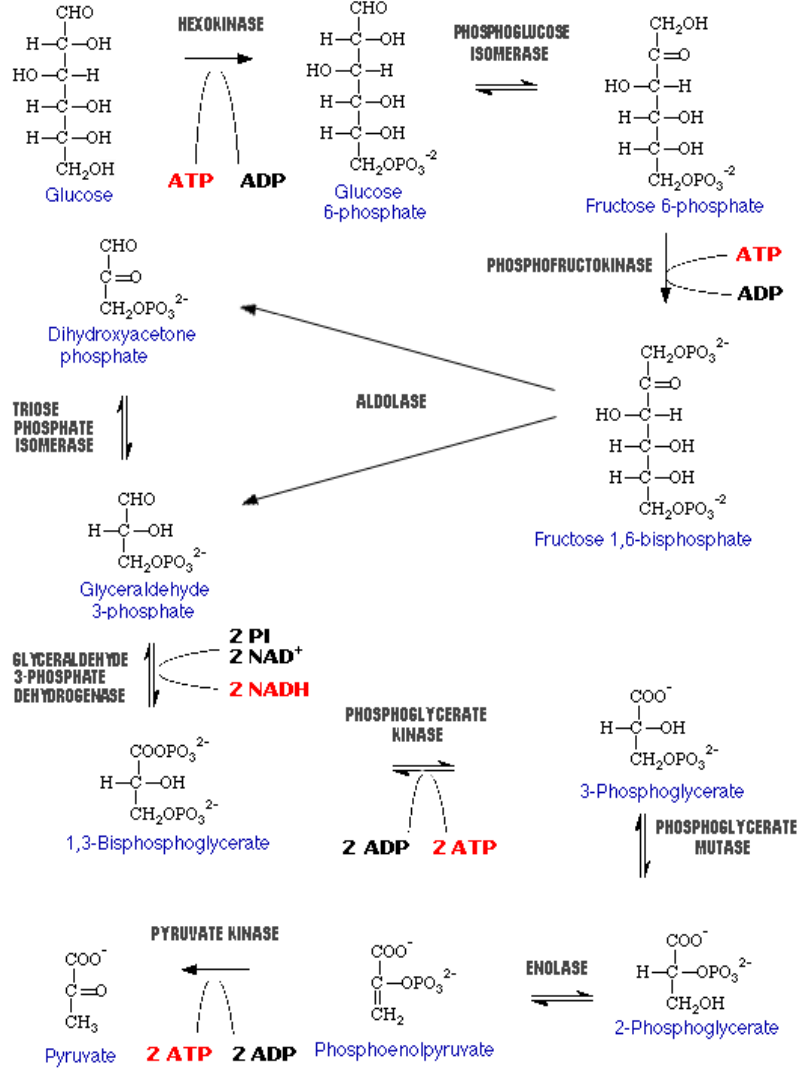
Mayalar, glikozu FDP (fruktoz-di-fosfat) yoluyla parçalamakta ve bir molekül glikozdan iki molekül pirüvik asit oluşmaktadır Bu yoldan oluşan pirüvat bir pirüvat dekarboksilaz enzimi aracılığıyla asetaldehide dönüşmekte ve daha sonra etanole indirgenmektedir (Avcı 2004).

Alkol fermantasyonu glikozun glikolize olması, yani pirüvik aside oksidasyonu ile başlar. Aşağıda verilen reaksiyon zincirine göre,



Glikoz başlangıcında ATP aracılığı ile iki aşamada aktivasyon görülür. Aktif duruma getirilen 6 karbonlu monosakkaritler önce 3 karbonlu ara bileşiklere ve sonunda pirüvik asite dönüşür. Bu arada 2 aşamada sübstrat düzeyinde fosforilasyon ile ATP yapımı sağlanır. Glikoz molekülünün tamamının glikolizis

ile yıkılması halinde, bir glikoz için iki gliseraldehid 3-fosfat reaksiyonu sürdüreceği için toplam dört ATP yapılmış olur.



Şekil 4.1. EMP Yolu (Anonim 2007; Gözükara 2001)

Başlangıçta harcanan 2 ATP de göz önüne alındığında, glikoliz reaksiyonları ile 1 mol glikozun yıkımında hücrenin net ATP kazancı 2 mol olur. Sonuçta 2 mol piruvik asit, 2 mol ATP ve 2 mol NADH₂ meydana gelir. Daha sonraki tepkimede 2 mol piruvik asidin 2 mol asetaldehit ve 2mol karbon diokside dönüşümü şeklindedir. Bundan sonra 2 mol asetaldehit, 2 mol NADH₂ ile 2 mol etanole indirgenir. Alkol fermantasyonuda diğer fermantasyonlar gibi biyokimyasal bir olaydır ve *Saccharomyces* cinsi mayalar tarafından

gerçekleştirilmektedir. Meydana gelen etanol ve karbon dioksit ürün eldesinde önem taşımakla beraber mayalar için atık maddedir ve belli konsantrasyonun üstünde toksik etkilidir (Güven 2003).

Mikroorganizmalar EMP yolunu ancak gelişme faktörleri olması halinde kullanabilir. Sadece glikoz ve besin tuzlarından oluşan basit bir besiyerinde ise gelişemezler. Bütün bu olaylar anaerobik koşullar altında geçer ve bu nedenle hücre için gerekli olan enerji serbest oksijen olmadan elde edilir.

1. Aşamada D-glikoz, D-glikoz-6-fosfata dönüşür. Bu tepkimede heksokinaz rol oynar. Glikoz bundan sonraki tepkimelere katılabilir bir duruma gelmiş olur. Heksokinaz enzimi mayadan ve *Aspergillus niger*'den izole edilmiştir. Bu enzim -O-fosfat esterleri yaparken ATP'yi bir fosfat vericisi olarak kullanır. Bu sırada iki değerli kanyonları (Mg^{+2} , Mn^{+2} ve ekseriya Ca^{+2} ve Co^{+2}) gereksinirler.

2. Aşamada D-glikoz-6-P'nin D-fruktoz-6-P'a dönüşünü fosfoglikoizomeraz yapar. Bu enzimin aktif olabilmesi için metal iyonuna veya başka bir kofaktöre gereksinme yoktur.

3. Aşamada fruktoz-6-P'tan D-fruktoz-1.6-di P'in oluşu fosfofruktokinaz (ATP: D-fruktoz- 6-P 1-fosfotransferaz) tarafından katalize edilirler. Bu enzim de diğer kinazlar gibi ATP ve Mg^{+2} , un ortamda bulunmasını ister.

4. Aşamada fruktoz-6-P iki molekül triyozfosfat'a dönüşür ki, bu tepkimede aldolaz ve triyoz-P-izomeraz rol oynar. Mikroorganizma hücrelerinden elde olunan aldolazlar tam aktif olabilmeleri için ortamda iki değerli metal iyonlarına gereksinme gösterirler.

5. Aşamada H_3PO_4 gliserinaldehit-P'nin dehidrojenasyonu ile 1.3-difosfo gliserat meydana gelir. Bu olayda gliserin aldedehit-P-dehidrojenaz rol oynar. Bu enzim çok çeşitli kaynaktan elde edilebilir, fakat fiziksel ve kimyasal özellikleri birbirine benzemez. Aktif olmaları ancak serbest halde-SH grubuna bağlı olması nedeniyle, iyotasetat, nitrofenilasetat gibi maddeler bu grubu bloke ederek enzimi inaktifleştirirler.

6. Aşamada fosfogliseraz kinaz rol oynar. 1,3-difosfogliserat ADP oluşumunda 3-fosfogliserata dönüşür. Bu tepkimede kofaktör olarak mutlaka

bulunması gerekli iki değerli katyonlar Mg^{+2} , Mn^{+2} veya Ca^{+2} iyonlarıdır. Metal iyonları ADP veya ATP ile aktifleştirici bir kompleks oluştururlar.

7. Aşamada 3-fosfogliserat mutaz 3-fosfo-D-gliseratı sekonder ester olan 2-fosfo-D-gliserata dönüştürür. Bu reaksiyon mutlaka kofaktör olarak Mg^{+2} ve diester 2, 3-difosfogliserat gerektirir.

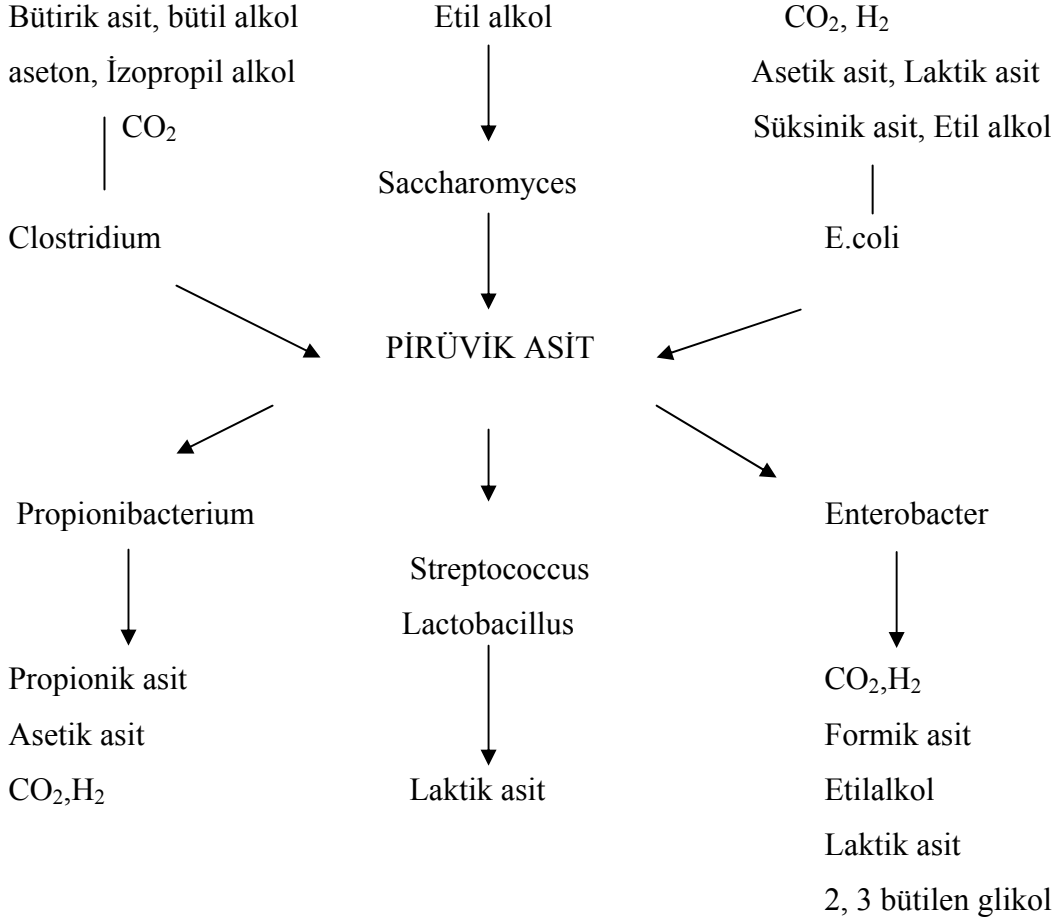
8. ve 9. Aşamalarda 2-fosfogliserat pirüvata dönüşür. Ancak önce enolaz yardımıyla bir molekül suyun çıkmasıyla fosfoenolpirüvatin meydana gelmesi gerekir. Enolaz çok yaygın bir enzim olup hepsi de Mn^{+2} , Mg^{+2} , Zn^{+2} veya Cd^{+2} gibi iki değeri katyonlara gereksinme gösterir. Ca^{+2} ve Sr^{+2} katyonları ise bunlara antagonistik etki yaparlar. F düşük konsantrasyonlarda (10^{-2} M), özellikle ortamda Pi bulunduğu zamanlarda, inaktifleştirici olarak rol oynar.

Bu tepkimenin ikinci kısmında pirüvat kinaz da aynı iki değerli metaller tarafından aktifleştirilir.

Bundan sonra glikolitik yol ile fermantatif yol birbirinden ayrılmakta ve homolaktik olan bir biçimde laktat dehidrojenazın katalize ettiği bir reaksiyon sonunda glikolitik yolun son ürünü olarak laktat meydana geldiği halde, başlıca *Saccharomyces cerevisiae* ve diğer türlerin suşlarında olduğu gibi, pirüvatin daha ileri derecede katabolizması devam eder. Bu olayların ilk aşamasında pirüvat dekarboksilazı rol oynar. Bu suretle pirüvatin tersinmez dekarboksilasyonu sonucu asetlaldehid oluşur. Bu sırada ortam da tiyamin pirofosfatın ve Mg^{+2} 'un bir kofaktör olarak bulunması gerekir. Sonraki aşamalar bir taraftan daha önce oluşan asetlaldehid alkol dehidrojenaz (NAD-oksidoredüktaz) yardımıyla indirgenerek etil alkole dönüşürken, asetat dehidrojenazın katalize ettiği bir başka tepkimeyle de etil alkol fermentasyonunun diğer yan ürünlerinden biri, asetat meydana getirilir. Pirüvik asit metabolizması Şekil 4.2.'de verilmiştir.

Pirüvik asit farklı yollardan metabolize edilebilir. Her yolda farklı bir son ürün oluşur. Ancak her reaksiyon için özel enzimlerin katkısına gereksinim duyulmaktadır. Bütün organizmalar aynı enzim sistemine sahip olmadığından, ürünler mikroorganizma türlerine bağlı bulunmaktadır. Bütün bu reaksiyonlarda hidrojen atomları glikolitik yoldaki organik bileşiklerden birinden alınır ve diğer organik bileşiğe verilir. Eğer son hidrojen akseptörü bir organik bileşik ise tüm

reaksiyon zincirine fermentasyon adı verilir. Fermentasyon anaerobik koşullar altında meydana gelir.

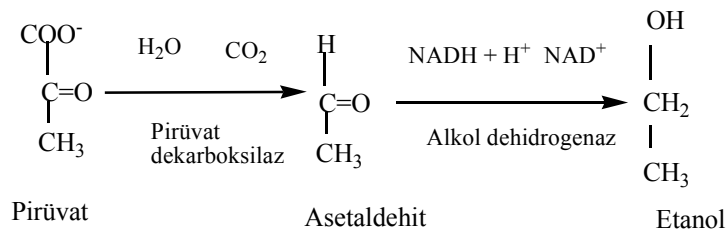


Şekil 4.2. Pirüvik asit metabolizması

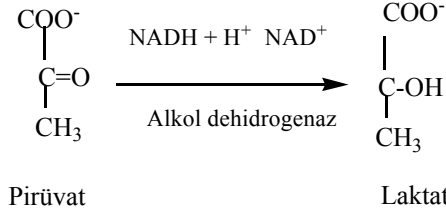
Glikoliz sonunda oluşan pirüvat molekülü, oksijenli ortamda canlılığın sağlayan hücrelerde (aerob) ve oksijensiz ortamı benimsemiş hücrelerde (anaerob) farklı reaksiyonlara girer. Bu reaksiyon dizileri sırasıyla:

a) oksijenli solunum reaksiyonları;

b) oksijensiz solunum reaksiyonları olarak bilinir. Maya hücrelerinin oksijensiz solunumu sonucu pirüvat, etil alkole dönüşür (Alkol fermentasyonu);



Gelişmiş hayvanlarda iskelet kas hücrelerinde veya laktik asit bakterilerinde, oksijensiz koşullarda pirüvik asit laktik asite dönüşür, (laktik asit fermentasyonu)



Fermantasyon reaksiyonları glikoliz sırasında redüklenmiş olan NAD^+ 'nin oksitlenerek tekrar kazanılmasını sağlar. Bu dönüşümlerin ATP sentezi ile direkt ilişkisi yoktur. Glikoz gibi diğer birçok karbohidrat da çeşitli yollardan glikolitik reaksiyon dizisine girer ve yıkılır. Bu grupta en önemlileri, glikojen, nişasta (polisakkarit), maltoz, laktoz, sükroz (disakkarid), fruktoz, mannoz ve galaktoz (monosakkarit) oluşturur.

4.1. Etil Alkol Fermantasyonu

Etanol, başta maya olmak üzere bazı mikroorganizmalar tarafından şekerin fermantasyonu sonucunda oluşmaktadır. Etanolün bazı anaerobik ve fakültatif aerobik bakteriler tarafından üretildiği, aerobik koşullarda birçok fungusun da alkol üretebildiği belirlenmiştir.

Alkol fermantasyonunu 1815'de açıklayan Gay-Lussac'ın genel formülüne göre glikozdan anaerobik koşullarda etanol ve CO_2 oluşmaktadır;



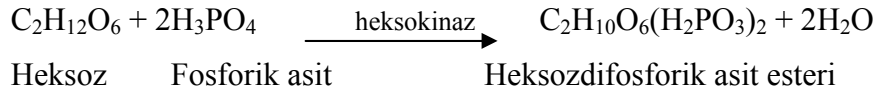
Şarap hazırlamasında önce üzümden şıra elde edilmesi ve sonra şarabın tipine göre şarap yapma işlemi başlar. Ancak hangi çeşit üzüm işlense de ve hangi tip şarap yapılacak ise de fermantasyon çok önemlidir.

Alkol fermantasyonunun gidişi bütün ayrıntıları tam açıklanmış olmayan aşağıdaki kademeler şeklinde olmaktadır:

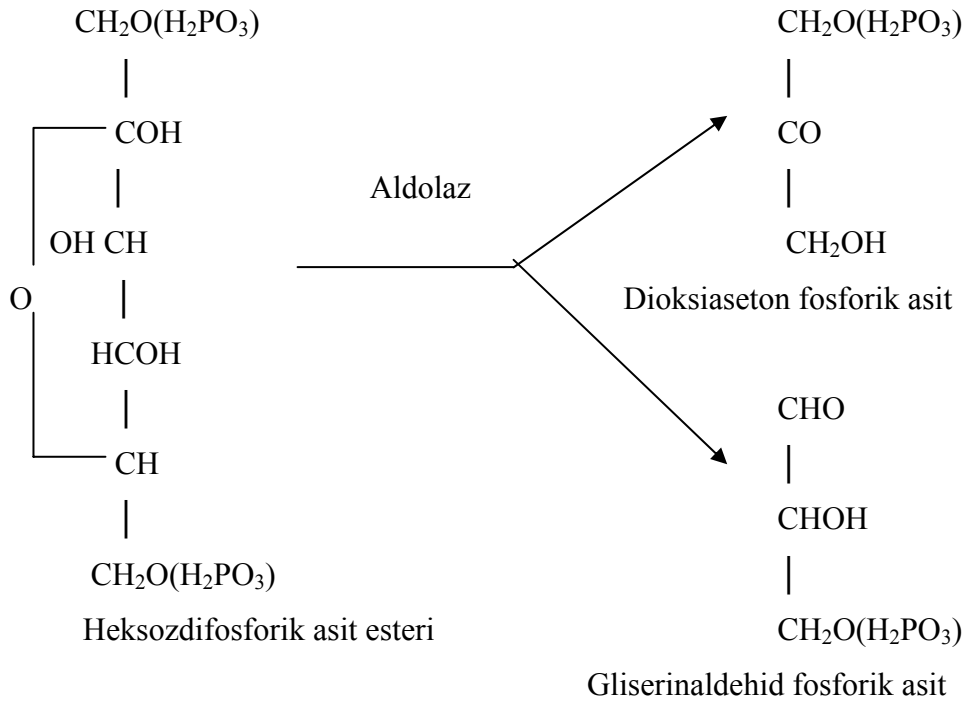
1. Esterleşme
2. Heksozun Parçalanması
3. Oksidoredüksiyon

4. Defosforilizasyon
5. Dekarboksilasyon
6. Redüksiyon

1. Esterleşme; Heksokinaz (fosfataz) enzimi ile glikoz ve fosforik asitten ara kademeler olarak ester üzerinden früktoz 1,6-fosforik asit esteri oluşur (fosforilasyon).

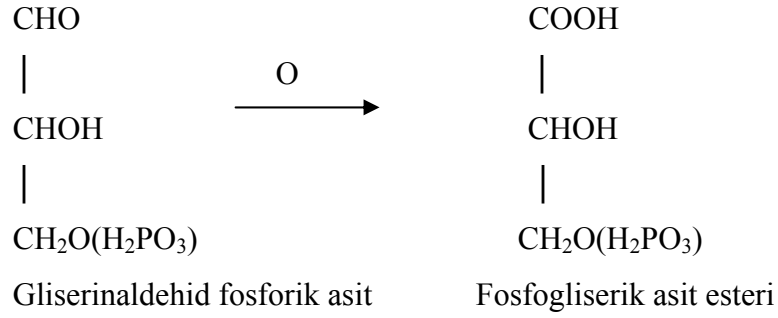
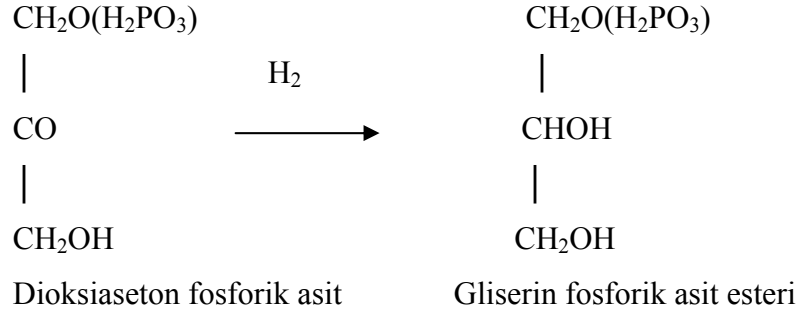


2. Heksozun Parçalanması; Fruktoz difosforik asit esteri aldolaz etkisi ile iki molekül triyozfosforik asit esterine parçalanır. Bunlar bir molekül dioksiasetonfosforik asit esteri ve bir molekül gliserinaldehid fosforik asit esteridir. Bunlar arasında izomeraz yoluyla enzimatik kontrol edilen tersinir denge mevcuttur.

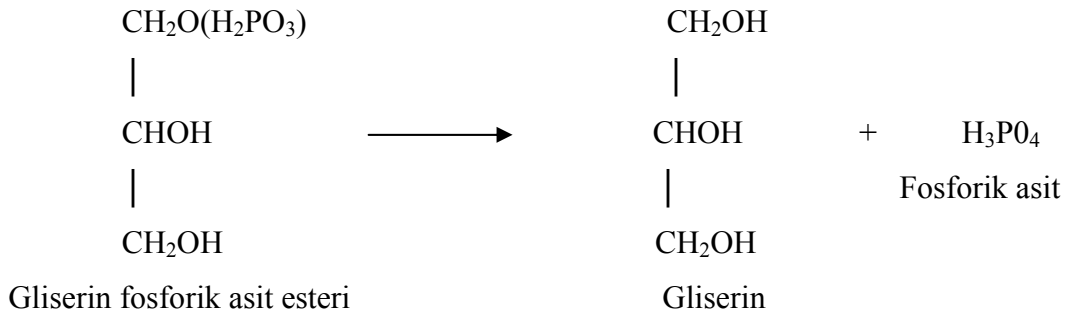


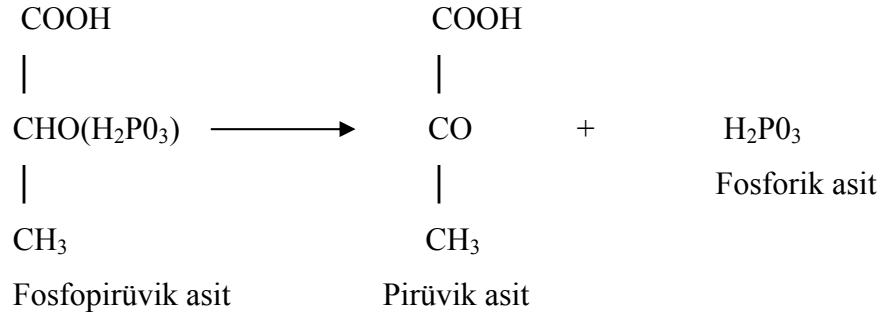
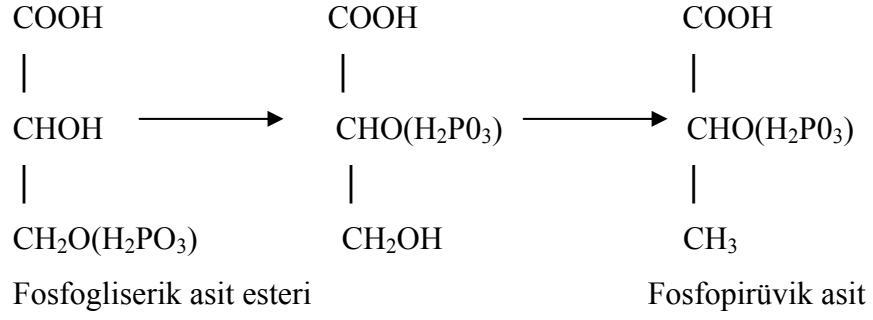
3. Oksidoreduksiyon; Üçüncü kademedeki reaksiyon formundaki her iki ester kozimaz enzimleri, kodehidraz ve dihidro-kozimaz'nın etkileriyle parçalanmaya devam ederler. Bu esnada gliserinaldehid fosforik asitten oksidasyonla

fosfogliseric asit esteri ortaya çıkmaktadır. Dihidroksiasetonfosforikasit esterinden redüksiyon ile gliserin fosforik asit esteri meydana gelir. Burada, oksidoredüksiyonda bir yandan oksidasyon diğer yandan redüksiyon yanyana gelişir.

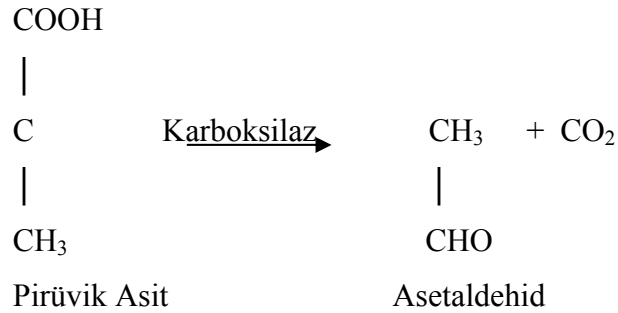


4. Defosforilasyon; Fermentasyonun devamında bir fosfataz enziminin etkisi ile gliserin fosforik asit, gliserin ve fosforik asite bölünür. Fosforik asit enolaz enzimi ile fosfopirüvik asit ve nihayet pirüvik asit ve fosforik aside dönüşür. Gliserin oluşmuşsa her iki olayda da fosforik asit ortaya çıkmıştır.





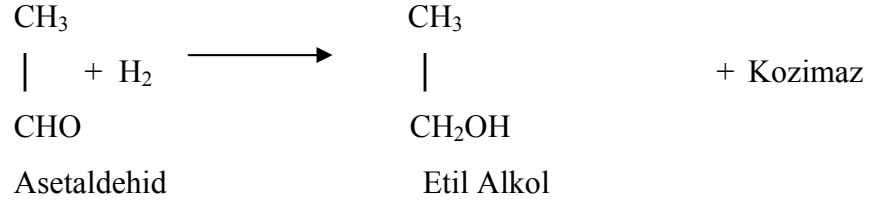
5. Dekarboksilasyon; Pirüvik asit karboksilaz enzimleri etkisi ile asetaldehid ve karbondioksitde parçalanır. Karbondioksit alkol yanında en kuvvetli fermentasyon ürünü olarak görülür. Karboksilaz enzimi burada pirüvik asitten bir oksidasyon etkisi olmadan karbonil grubunu dışarı çeker.



Buraya kadar yapılan şekerin parçalanma kademeleri açıklamaları Meyerhof'a göre başlangıç fermentasyon kademeleri olarak gösterilmiştir.

6. Redüksiyon; Fermentasyon akışı içinde rolü Neuberg tarafından açıklanan asetaldehid dihidrokozimazın hidrozini ile alkole redükte olur. Burada dihidrokozimazdan tekrar kozimaz ortaya çıkar. Bu aktif olup yeniden

gliseraldehid fosforik asidin fosfogliserin asidine okside eder “(Aktan ve Kalkan 2000; Ertugay ve ark. 1994; Kılıç 1990; Akman ve Yazıcıoğlu 1960)”.



5. ŞARAP TEKNOLOJİSİ

5.1. Şarabın Tanımı

“Şarap” yalnız taze üzüm şirasının fermantasyonu ile elde edilen alkollü içeceğe denir. Diğer şeker ihtiva eden usareli meyvelerden şarap yapılabilir. Fakat bunlar sadece şarap adı ile değil yapıldıkları meyve ile beraber ifade edilir ve etiketinde mutlaka yapıldığı meyvenin adı da, örneğin; elma şarabı, portakal şarabı, vişne şarabı gibi yazılmak sureti ile satışı yapılmaktadır. Türk Standartları Enstitüsü'nün TS 521 No.lu Standardı'na göre şarap "yalnız taze üzümünden veya şirasından fermantasyon yöntemiyle elde edilen alkollü içki" olarak tanımlanmaktadır “(Aktan ve Kalkan 2000; Kılıç 1990; Anonymous 1976; Karabayır 2005; Tilmaç ve Çakar 2003)’’.

Şarapta iki husus mutlaka dikkate alınmalıdır. Bunlar, şarabın üzümünden yapılması ve bu üzümün de taze olmasıdır. Bu iki nokta bütün ülkelerin şaraba ait kanun veya tüzüklerinde kesin olarak yer almıştır. Ülkemiz Gıda Maddeleri Tüzüğü'nde de yukarıda verilen şekilde tanım yapılmıştır. Ülkemizde taze üzüm veya taze meyveden başka diğer maddelerden, örneğin, kuru üzüm, pekmez, cibre v.s. den şarap yapmak yasaktır. Ayrıca meyve şarabını da yalnız şarap adı altında satmak yasaktır “(Karabayır 2005; Tilmaç ve Çakar 2003)’’.

5.2. Üzüm ve Özellikleri

Üzüm, bitkiler âleminde Viteceae familyasının *Vitis vinifera* L. türüne bağlı, *Vitis vinifera sitiva* adı verilen kültür asmasının salkım durumunda bulunan meyvesidir. Asma hemen hemen her çeşit toprakta yetişen çok yıllık bir bitkidir. Avrupa, Asya ve Amerika kıtasına yayılmış birçok türü vardır. Binlerce yıl boyunca oluşan mutasyonlar ve insanların müdahaleleri sonucu birçok asma kültür çeşidi oluşmuştur. Bu kültür çeşidi üzümlerinin şekil ve rengine, yaprakların şekil ve büyüklüğüne ve diğer niteliklerine göre birbirlerinden ayrılırlar (Duran 2003; Anlı 2001), Çizelge 5.1'de Öküzgözü üzümünün morfolojik yapı özellikleri verilmiştir.

Çizelge 5.1. Öküzgözü üzümünün morfolojik özellikleri “(Çelik 2002; Tangolar ve ark 1996)”

Tane Özelliği	
Renk	Gri puslu siyah
Şekil	Eliptik
Büyüklik	İri, 6-7 g
Çekirdek	2-3
Tad	Çeşide özgü tat
Salkım Özelliği	
Şekil	Kanatlı konik
Büyüklik	İri, 400-500 g
Sıklık	Dolgun
Olgunlaşma	Geç
Budama	Yarı-uzun/Kısa
Yöre	Elazığ, Malatya, Diyarbakır, Adıyaman
Diğer	Ülkemizin en kaliteli kırmızı şaraplık çeşitlerinden birisidir. Boğazkere çeşidi ile 2:1 oranında paçal yapılmaktadır

5.3. Üzümün Bileşimi

Olgunlaşma sonucu salkım da fiziksel değişimler gözlenebilir. Bu fiziksel değişme en belirgin tanede olmaktadır. Tane meyvenin oluşmasından başlayarak sürekli bir şekilde büyür, gelişir ve rengi değişir. Tam olgunlukta normal iriliğini alır. Birçok araştırmacıya göre tane iriliği üzüm çeşidine ve yıllara göre değişmektedir. Özellikle meyvenin oluşumunu izleyen evrede ki yağış miktarı irilik üzerine etkili olmaktadır.

Tane ağırlığını ise içindeki çekirdek sayısı da etkilemektedir. Üzümlerde 100 tane ağırlığı bağ bozumundan birkaç gün önce en yüksek olmaktadır. Tane irileştikçe kabuk / meyve içi oranı düşmekte bu nedenle iri taneli üzümlerde, kabukta bulunan renk tat ve aroma maddeleri göreceli olarak azalmaktadır. Üzüm salkımının kimyasal analiz sonuçları Çizelge 5.2’de verilmiştir (Tangolar ve ark 1996).

Çizelge 5.2. Üzüm salkımının kimyasal analiz sonuçları (Tangolar ve ark 1996).

	Saplar (%)	Çekirdek (%)	Kabuk (%)	Etli Kısım (%)
Su	55–80	30–45	65–75	65–85
Şeker	Eser	Eser	az	15–30
N’siz KM	15–30	15–25	15–30	15–35
N’lu KM	2	6	2	0,2–0,5
Ham selüloz	5	28	4	az
Kül	1–2	1–2	0,5–1	0,2–0,6
Tanen	2–5	2–8	0,4–4	eser
Malik asit	0,05–0,25	-	az	0,3–1,2
Tartarik asit	eser	-	-	0,4–0,8
Yağ	-	8–15	0,1	-

Üzüm taneleri, çekirdek, onu çevreleyen meyve eti ve tüm taneyi kaplayan kabuktan oluşur. Olgunlaşma sırasında bu kısımların nisbi oranlarında değişiklikler gözlenir. Üzüm salkımının genel olarak % 3–5’i sap ve çöp, % 4–10’u kabuk ve % 3–4’ü ise çekirdektir. Kabuk miktarı tane üzerinden hesaplandığında çeşide bağlı olarak % 2–24 arasında değiştiği görülür. Üzüm çekirdeğinde % 10–20 yağ, % 5–6 tanen bulunur. Çekirdekli üzümlerde bulunan çekirdek sayısı 3–4’tür.

Üzümler preslendiğinde kalan cibre yaklaşık %25’ tir. Bunun %50 si kabuk, %25’ i sap ve çekirdektir. Beyaz üzüm cibresinde az miktarda şeker ve %2 şarap taşı(potasyum bitartarat) bulunur. Kırmızı üzüm cibresi ise cibre fermantasyonu nedeniyle %2 – 9 şarap taşı içerir ve bu nedenle tartarik asit üretiminde kırmızı üzüm cibresi kullanılır.

Üzüm tanesinde kabuğa yakın kısımlarda şeker oranı yüksek, asitlik düşüktür. Bu nedenle preslemede önce akan şıra, sonraki akan şıraya göre şekerce daha zengindir “(Telli 2000; Deryaoğlu ve Canbaş 2004; Deryaoğlu ve Canbaş 2003)”.

Etlı kısım: Etlı kısımda kabuğa yakın yerlerde şıra fazla, doku gevşektir. Çekirdeği saran kısım daha sıkı ve etlidir. Etlı kısım fermantasyonda etkin olan şekerı içermesi açısından önem taşır. Şeker oranı üzüm çeşidine, ekolojik koşullara, kültürel şartlara bağılı değışmektedir. Şıra da ayrıca asitler ve madensel maddeler yer alır. Ham selüloz hiç yoktur. Ayrıca tanen çok azdır. Etlı kısmının rengi açık renkte olup kabuktan çok farklıdır.

Kabuk: 100 adet taze tanenin çeşide göre kabuk kısmı 12–28 g arasında değışir. Kabukta renk maddeleri, N’suz kuru maddeler, ham selüloz ve tanen vardır. Kuru madde üzerinden % 3,7–3,8 kadar tanen vardır. Renk maddeleri de kabukta bulunmaktadır. Cibre fermantasyonu sırasında oluşın alkolde çözünerek asidik bir ortamda şıraya kırmızı olarak geçer. Bu renk derişimi çeşide, ekolojik koşullara göre değışir.

Çekirdek: Tane içinde 2–4 arasında bulunan çekirdek, tane ağırlığının % 3–4 ünü oluşturur. Çekirdekte %10–20 arasında yağ ve % 4 tanen bulunur.

Sap ve Çöpçükler: Salkımın sap ve çöpçükleri tanenin beslenmesi için kanal vazifesini görürler. Sap ve çöpçüklerin ağırlığı olgunluğun başlamasıyla azalır. Salkımdaki yeşil sap ve çöpler %70–80 su içerir, ayrıca tanen, tartarik asit, malik asit bulunur. Kuru maddede % 6–10 kül vardır.

Şırasız cibre(Posa): Şırası sıkılmış, geride kalan cibrenin % 50’si kabuk, % 25’ni çekirdek sap karışımı oluşturur. Cibre şarap taşı, yağ ve doğal boya eldesinde kullanılır, atığı iyi bir hayvan yemidir. Ayrıca % 20’ye yakın kalan şeker nedeniyle sirke ve cibre ispiertosu üretiminde de kullanılır.

5.3.1. Şıranın bileşimi

Su; Olgun üzüm şırası %70–80 su içerir.

Şeker ve diğır karbonhidratlar; Üzüm şırasında bulunan şeker miktarı çeşide, iklim ve toprak şartlarına ve olgunluk derecesine göre değışir. Şırada bulunan şekerler glukoz ve fruktozdur. Olgun üzümlerde 1:1 oranında bulunurlar.

Olgunlaşmamış üzümlerde glukoz, fazla olgun üzümlerde ise daha tatlı olan fruktoz fazladır. *V.vinifera* üzümlerinde çok az sakkaroz (%0,2–1,0) bulunur. *V.vinifera* dışındaki üzümlerde ise %10 kadar sakkaroz bulunur “(Çabuk 2004; Telli 2000)”.

Glukoz ve fruktoz suda ve alkolde kolayca erir, fehlingi indirger ve mayalar tarafından kolayca fermente edilirler.

Şırada diğer karbonhidratlardan pentozlar (arabinoz, ramnoz, ksiloz), pentozanlar ve pektinler (%0,02–0,6) bulunur. Pentozlar mayalar tarafından fermente edilmezler, fakat fehlingi indirgerler. Pentozanlar, pentozların polisakkaridi sayılırlar. Pektinler şarapçılık yönünden önemli değildir. Tortu ile çökerek ortamdan ayrılır. Fakat üzüm suyu üretiminde süzmeden önce enzimlerle parçalanması gerekir.

Asitler; Üzümlerde bulunan temel asitler tartarik ve malik asitlerdir. Ayrıca çok az miktarda sitrik ve oksalik asit bulunur. Olgunlaşmış üzüm şıralarında yaklaşık 0,1–0,3 g/L sitrik asit, 0,03–0,04 g/L oksalik asit bulunmuştur. Küflenmiş üzüm şıralarında glukonik ve glukuronik asitler saptanmıştır. Asitler ve asit miktarı şarabın tadı ve dayanıklılığı yönünden önemlidir. Ülkemiz üzümlerinde asit miktarı iklim koşulları nedeniyle nisbeten düşüktür. Bu nedenle yüksek alkollü veya tatlı şarap yapılmayacaksa hasat zamanını geciktirmek gerekir. Şıra ve şarap asitliği bazı ülkelerde tartarik asit, bazı ülkelerde ise sülfirik asit üzerinden hesaplanır. Şırada bulunan toplam asit miktarını çeşit, iklim, toprak koşulları, olgunluk ve bağın yerleşimi etkiler.

Tartarik asit ($C_4H_6O_6$) yalnız üzümde bulunur. Suda ve alkolde kolayca erir. Serbest tartarik asit, asetik asitli ortamda KCl ile muamele edildiğinde potasyum bitartarat çökeltisi (şarap taşı) oluşur. Bu reaksiyondan tartarik asidin tanımında yararlanır. Tartarik asidin potasyum tuzu olan şarap taşı, krem tartar olarak da bilinir. Şarap taşı, fermantasyon ve dinlendirme sırasında kristaller şeklinde çökerek tortuda toplanır. Bu nedenle şarabın genel asit miktarı azalır. 1 g şarap taşı 0,4 g titrasyon asitliğine eşdeğerdir. Tartarik asidin diğer bir tuzu nötr kalsiyum tartarattır. Şarap taşından çok daha az eriyen bu tuz, fermantasyon sırasında çökerek ortamdan ayrılır.

Üzümde ve şırada bulunan diğer önemli asit, malik asittir ($C_4H_6O_5$). Malik asidin miktarı, üzümlerin olgunlaşmaya başlamasına kadar tanede sürekli artar ve 15–20 g/L ye kadar çıkar. Fakat tane olgunlaşmaya başlayınca sürekli düşerek olgun tanede çok az miktarda kalır. Ülkemiz üzümlerinde olgunlaşma tam olduğu için malik asit miktarı çok azdır. Malik asit kısmen serbest, kısmen de potasyum, kalsiyum ve magnezyum tuzları şeklinde bulunur. Malik asit bazı mikroorganizmaların etkisi ile laktik asite parçalanır.

Azotlu bileşikler; Şıraların toplam azot içeriği 100–2000 mg/L arasında olup ortalama 600 mg/L'dir. Azotlu maddeler tanenin dış ve kabuk hücrelerinde daha fazladır. Bu nedenle presleme gücü arttıkça şıranın azot içeriği artar. Üzüm şırasında bulunana azotlu maddeler mayaların beslenmesi açısından önemlidir ve bulunan miktarı yeterlidir. Eğer üzümler küflü ise azotlu madde yetersiz olabileceğinden 100 litre şıraya 15–30 g amonyum fosfat veya amonyum sülfat verilir.

Şırada bulunan kolloidal maddelerin %10-13'ü proteindir. Toplam kolloidlerin %4-21'i ısıtma ve soğutma ile çöktürülmektedir.

Renk Maddeleri; Şıralarda klorofil, karoten, ksantofil ve kırmızı renk maddesi antosiyaninler bulunmaktadır. Üzümlerde renk pigmentlerinden başka renk üzerinde etkili olan pek çok polifenolik bileşik bulunmaktadır. Kırmızı üzümlerdeki renk maddeleri yoğun olarak kabuk hücrelerinde bulunur. Asitçe zengin kırmızı üzümlerin rengi daha açıktır. Bununla birlikte kırmızı üzümün renk koyuluğu daha çok çeşide bağlı olan, renk maddesi miktarı ile ilgilidir. Kırmızı üzümler parçalanmadan preslendiğinde akan şıra renksizdir. Şıranın renk kazanması için cibre fermentasyonu yaptırılır

Şırası renkli üzümlerde renk maddesi tanenin iç kısımlarında da bulunur. Bazı üzümlerde renk maddesi kabuktan tane içine doğru yayılmıştır. Bu gibi üzümlerin (Kalecik Karası) şırası sıkıldığı anda açık pembe renklidir.

Kırmızı renk maddeleri şarapta bazı değişmelere uğrar. Bu değişmelere oksijen, asitler ve maya etkilidir. Uzun süre dinlendirilen kırmızı şaraplar oksijenin etkisi ile esmer-kırmızı bir renk alır. Kırmızı renk maddeleri asidik ortamda koyu kırmızı, alkali ortamda ise mavi-menekşe renk verir. Kükürt dioksit

kırmızı rengi soldurur, ancak kendisi okside oldukça eski kırmızı renk tekrar meydana çıkar.

Tanen; Üzümün kabuk, sap ve çekirdeklerinde bulunur. Üzümde bulunan tanenler hidrolize olabilirler. Polifenolik maddeler grubunda yer alan tanenler şarabın tadı ve rengi üzerinde etkilidir. Kırmızı şaraplarda cibre fermantasyonu yapıldığı için tanen miktarı daha yüksektir ve 1,0–2,5 g/L arasında değişir. Beyaz şaraplarda ise bu değerler 0,2–0,4 g/L dir. Çok buruk kırmızı şaraplarda tanen miktarı 5 g/L ye kadar çıkar.

Vitaminler; Üzüm şırası az miktarda askorbik asit içerir. Ancak bulunan askorbik asit şıraya uygulanan işlemlere bağlı olarak azalır.

Enzimler; Şırada polifenoloksidaz, peroksidaz, pektinaz, invertaz, proteaz ve fosfataz enzimleri bulunur.

Aroma maddeleri; Üzümlerde bulunup şıraya ve şaraba geçen veya daha sonra fermantasyon ve dinlendirme sırasında oluşan aroma veya diğer deyişle büke maddeleri şarapların kalitesi üzerinde çok etkilidir. Ester, aldehit, alkol ve keton yapısında olan bu maddelerin sayıları çok fazladır.

Madensel maddeler; Üzüm şırasında çeşitli madensel maddeler bulunur ve bunlar mayaların beslenmesi yönünden önemlidir. Madensel maddelerin başında potasyum, kalsiyum ve magnezyum tuzları gelir. Şırada ayrıca az miktarda demir, kurşun ve mangan bulunur “(Aktan ve Kalkan 2000; Ertugay ve ark. 1994; Telli 2000; Tangolar ve ark 1996)” .

5.3.2. Şıranın bileşimine etki yapan faktörler

Şıranın bileşimi üzerine üzümün çeşit, olgunluk derecesi, iklim, toprak ve yöney etki eder.

Olgunluk derecesinin etkisi; Olgunluk ilerledikçe şeker miktarı artar, buna karşılık asit düşer. Ülkemiz iklim şartları icabı üzümlerimizde şeker yüksek, asit ise nispeten azdır. Bunun doğal sonucu olarak da şaraplarımızda alkol fazla, asit düşüktür. Bu husus özellikle beyaz şaraplarda daha önemlidir. Kırmızı şaraplarda tanenin buruk tadı, asidin ekşi tadı ile bağdaşmadığından asidin yüksek olmasına gerek yoktur. Bu nedenlerle bağ bozumunun üzümünün şeker/asit

durumuna göre yapılması şarabın kalitesinde büyük etki yapar. Beyaz çeşitlerde asidin yüksek (7,0 g/L) olması iyidir.

Diğer taraftan alkolce zengin tabii tatlı şarap yapımında ise şekerin fazla olması için bağ bozumu geciktirilir. Hatta kütükte salkımlar kırılarak veya hasır saplar üzerine serilerek şeker konsantrasyonu yükseltilir.

Bazı Avrupa ülkelerinde özellikle Almanya'nın Ren, Fransa'nın Bordogüneyi bölgelerinde sonbaharı uygun giden bazı yıllarında "Asil küf" adı verilen bir küf mantarı üzümlere bulaşır. Bu küf, misellerini salarak tane kabuğunu zedeler ve dolayısıyla su uçar, şırada şeker yükselir. Bu mantar bazı yıllarda gayet hoş a gider koku ve aroma maddeleri de meydana getirdiğinden böyle üzümlerden dünyanın en pahalı ve en makbul şarapları yapılır.

Çeşidin etkisi; Her çeşidin şarapçılık bakımından önemli olan rengi, olgunluk zamanı, şıranın tanen, şeker/asit miktarı ve flavor değerleri farklıdır. Bunlardan yapılan şaraplarda ona göre olur. Şarabın kalitesi en başta üzüm ve sonra şaraphaneye bağlıdır. Çünkü insanın şarap üzerindeki rolü ancak o üzüm çeşidinin verebileceği kaliteyi elde etmekten veya bozulmasını önlemekten ileri gidemez.

İklim, Toprak ve Yöney'in Etkisi; İklimin ve hava gidişinin şıranın ve şarabın bileşimi üzerine büyük etkisi vardır. Dünyada ve ülkemizde en iyi kalite şaraplar, iklimi serin olan nehir çevresi bölgelerden çıkmaktadır. Bazı ülkelerin tanınmış şaraplarının üstünlükleri o iklim şartlarından ileri gelmektedir.

Toprak ve yöneyin de ayrıca bileşime etkisi vardır. Çakıllı, kumlu ve balçık zeminler sıcaklığı tutup olgunlaşmayı hızlandırdıklarından, şaraplık üzüm yetiştirilmesine elverişlidir. Güneş ışıklarını daha dik alan eğimli araziler üzüm yetiştirilmesi için daha avantajlıdır.

5.4. Üzüm Çeşitleri ve Özellikleri

Yaş üzüm tüketim şekillerine göre üç grupta toplanabilir; sofralık üzüm, kurutmalık üzüm, şaraplık üzüm (Duran 2003). Ülkemizin iklim koşulları bağcılığa çok elverişli olup üzümün ekonomik açıdan ekonomiye katkısı oldukça büyüktür. Ülkemizde 1200'ün üzerinde üzüm çeşidinin varlığı saptanmıştır.

Türkiye bağ alanları ve üzüm üretimi açısından dünyanın önde gelen ülkelerinden birisidir. 2003 yılı itibariyle ülkemizde 530.000 hektarlık alanda üzüm üretimi yapılmıştır. Söz konusu yılda üretilen 3,6 milyon ton üzüm, toplam meyve üretiminin %25,7'sini oluşturmuştur. Ülkemiz bu rakamlarla dünyada bağ alanı yönünden 4. yaş üzüm üretimi açısından ise 6. sırada yer almaktadır. Türkiye şarap üretimine uygun doğa koşullarına sahip olmasına ve büyük miktarlarda üzüm üreten bir ülke olmasına rağmen, üretilen üzümlerin %2 gibi çok küçük bir bölümü şarap üretiminde kullanılmaktadır. Bu oran Avrupa Birliği ülkelerinde %85, bağcılıkla uğraşan diğer ülkelerde ise ortalama %80 dolayındadır. Türkiye'de üretilen yaş üzümün %40'ı kurutmalık, %35'i sofralık, %23'ünün de pekmez, pestil ve sirke gibi ürünlerin üretiminde kullanıldığı görülmektedir (Karabayır 2005).

5.5. Şaraplık Üzüm ve Şarap Çeşitleri

Dünya üzerinde binlerce farklı şaraplık üzümün varlığı, şarabın çeşitliliğini ve zenginliğini belirleyen önemli bir unsurdur. Şaraplar renklerine göre; beyaz şarap, kırmızı şarap, roze şarap olarak sınıflandırılırlar. Şarap çeşitleri ayrıca kalite, şeker içerikleri ve üretim biçimlerine göre belirlenebilir.

Tüm şaraplar tek bir üzüm çeşidinden yapılmazlar, monosepaj değillerdir. Bu nedenle, birkaç üzüm çeşidinin harmanlanması ile elde edilen kupaj şarapların, aromalarına, renklerine göre ayırt edilmeleri daha güçtür.

Türkiye'de yetiştirilen şaraplık üzümleri renklerine göre ikiye ayırabiliriz, bu üzümlerin çeşitleri ve yetiştirildiği bölgeler Çizelge 5.3'te verilmiştir (Telli 2000).

5.5.1. Şarap çeşitleri

5.5.1.1. Renklerine göre şarap çeşitleri

Şarapları renklerine göre beyaz şarap, kırmızı şarap, roze şarap olarak sınıflandırabiliriz.

Çizelge 5.3. Türkiye’de şaraplık üzüm yetiştirilen bölgeler ve üzüm çeşitleri (Telli 2000)

Bölgeler	Kırmızı Üzüm Çeşidi	Beyaz Üzüm Çeşidi
Marmara Trakya	Pinot Noir, Adakarası, Papazkarası, Kuntra, Gamay, Karalahana, Cinsault	Clariette, Vasilaki, Pinot, Chardonnay, Riesling, Semillion, Beylerce, Yapıncak
Ege Bölgesi	Carignane, Çal Karası Merlot, Grenache, Cabernet Sauvignon, Alicante Bouschet	Semillion, Bornova Misketi
Karadeniz Bölgesi	Öküzgözü, Boğazkere	Narince
İç Anadolu Bölgesi	Kalecik Karası, Papazkarası, Dimrit	Emir, Hasandede
Akdeniz Bölgesi	Sergi Karası, Burdur Dimriti	Kabarcık, Dökülgen
Doğu Anadolu Bölgesi	Öküzgözü, Boğazkere	Narince
Güney Doğu Anadolu Bölgesi	Horoz Karası, Öküzgözü, Boğazkere, Sergi Karası	Kabarcık, Dökülgen, Rumi

5.5.1.2. Kalitesine göre şarap çeşitleri

Kalitesine göre şaraplar genel olarak sofraya şarapları, kalite şarapları diye ikiye ayrılmaktadır.

Sofra Şarapları; Kalite şarap üretiminin iki veya üçüncü presleme sıralarından ya da şaraplık kaliteleri yeterli olmayan üzümde elde edilen şaraplardır. Sofra şarabı belirli bir dolgunluk, karakter veya harmoniye sahip

değildir. Etiketlerinde herhangi bir üzüm çeşidi belirtilmez, çünkü sofr şarapları pek çok üzümün karışımından elde edilir. Dengeli ve hatasız olmaları yeterlidir.

Kalite Şaraplar; Özel şaraplık kalitesine sahip üzümlerden elde edilmekte olup, *Monosepaj* (tek üzüm çeşidinden) veya *Kupaj* (İki veya daha fazla üzüm çeşidinden) kalite şaraplar vardır. Kalite şaraplar, içeriklerinden ambalajlarına kadar özenle hazırlanan şaraplardır. (Türkiye'de tüketilen şarapların % 9-13'ü, ihracatın ise yaklaşık olarak % 90'ı bu kategorideki şaraplardan oluşmaktadır.).

5.5.1.3. Tatlarına göre şarap çeşitleri

Şaraplar içerdikleri şeker miktarına göre sek (dry) şaraplar, dömisek şaraplar(yarı şekerli şaraplar), tatlı şaraplar olarak gruplandırılırlar.

Sek (Dry) şaraplar; Sek şaraplar şekeri tamamen alkole dönüşmüş, içerisinde fermente olabilecek şeker kalmamış şaraplardır. Litrede 2 ila 5 g. şeker bulunduran şaraplar sek olarak adlandırılır.

Dömisek şaraplar (Yarı Şekerli Şaraplar); İçinde belirli ölçüde şeker bırakılmış şaraplardır(Litrede 4–18 gram arası şeker).

Tatlı şaraplar; Alkolü yüksek ve kokusu olan şaraplardır. Genellikle beyaz üzümünden üretilir. (Litrede 18 gramdan fazla şeker ihtiva eder). Şarabın alkol derecesi, uluslararası standartlara göre en az 11 en çok ise 13 derece olabilir.

5.5.1.4. Üretim biçimine göre şarap çeşitleri

Üretim biçimine göre şarap çeşitleri çerez şarapları, köpüren şaraplar diye iki, bölüm altında incelenmektedir.

a)Çerez şarapları, farklı üretim teknikleri kullanılarak yapılan şaraplardır. Bu şarapların üretiminde üzümlerin aşırı olgun olması gerekir ve tarımsal kökenli distile alkol kullanılır. Fermantasyon süresi çok kısadır, ancak bazılarında uzatma yapılarak sıcak mahzenlerde dinlendirilir. Alkol oranı %12–22 arasında değişir. Şeker oranları yüksek olur

1-Mistel şarapları; Üzüm şirasına alkol ilave edilerek fermantasyon yapılmadan elde edilir. Genel olarak mistel ya da narince gibi üzümlerin %18–22

oranında şeker içeren şıralarına tarımsal kökenli distile alkol katılmasıyla %16-17 alkollü şaraptır.

2-Likör şarapları; Şaraplar içine alkol, şeker veya pekmez ve karamel karıştırmak suretiyle elde edilirler. Likör şaraplarında alkol oranı %15–17 ve şeker oranı %7–8 dolayında bulunur. Sherry şarapları, Porto şarapları, Mader şarapları en yaygın örnekleridir.

3-Aromatize çerez şarapları; Vermut, reçineli şarap gibi içinde şarap bulunduran birçok içki çeşidi bu grupta yer alır. Bu içkilerin en az %50 oranında şarap, şarap alkolü veya konsantratu içerirler. Alkol oranı 145 g/L'yi aşamaz. Çeşitli şarap içeren içkilerin paçalı yapılamaz.

4-Doğal tatlı çerez şarapları; aşırı olgunluk dönemindeki üzümlerden veya normal üzüm içine buruşuk üzümün karıştırılmasıyla elde edilen şıralardan yapılır. Ülkemizde bu şarapların üretimi çok az yapılır. Dünyada tanınan başlıca doğal şaraplar şunlardır: Sauterne şarapları, Ren bölgesi şarapları, Tokay şarapları

b)Köpüren şaraplar; Köpüklü şarap adından karbondioksitle doyurulmuş çeşitli şarap ürünleri anlaşılır. Basınca dayanıklı kaplar veya şişelerdeki şaraplarda karbondioksit tutulmasıyla kabarcıklı veya köpüklü şaraplar elde edilir. Düşük oranlarda karbondioksit içeren şaraplara Kabarcıklı şaraplar denir. Daha yüksek basınçlarda karbondioksitli şaraplara köpüren ya da köpüklü şaraplar denir. Doğal köpüklü şaraplar, şaraba şeker ve maya katılarak şişelerde veya büyük kaplarda fermantasyona bırakılan ve fermantasyon sırasında oluşan CO₂'den dolayı köpüren şaraplardır. Şişe içinde 4,5–6 atm. basınç oluşturacak CO₂ oluşmuştur. Suni köpüren şaraplarda doğrudan dışarıdan CO₂ verilerek CO₂ basıncı oluşturulur.

5.6. Ülkemizde ve Dünyada Şarap Endüstrisinin Durumu

Dünya alkollü içkiler ticaretinde birinci sırada şarap yer almaktadır. Dünyada her yıl ortalama 25–30 milyar litre şarap arz edilmektedir (Çizelge 5.4.) (Tilmaç ve Çakar 2003). Dünya şarap piyasalarında tüketicilerin toplam şarap tüketim miktarında bir azalma yaşanırken, tüketilen şarabın toplam değerinde artış gözlenmektedir. Bu durum uygun fiyatlı sofralı şarabı tüketiminde kaydedilen

azalış ve ekonomik değeri yüksek kalite şarapların tüketiminde yaşanan artış ile açıklanmaktadır (Karabayır 2005).

Çizelge 5.4 .Önde gelen şarap üreticisi ülkeler (Tilmaç ve Çakar 2003).

Ülke	Şarap üretimi (2001 Yılı) (milyon litre)	Dünya üretimi içindeki payı %
Fransa	5.330	19,92
İtalya	5.090	19,02
İspanya	3.050	11,4
ABD	1.980	7,4
Arjantin	1.580	5,9
Avustralya	1.020	3,81
Almanya	900	3,36
Portekiz	770	2,88
Güney Afrika	650	2,43
Şili	570	2,13
Dünya Toplam	27.491	

Şarap ticaretinin büyük bir kısmını Avrupa Birliği Ülkeleri başta olmak üzere gelişmiş ülkeler kendi aralarında gerçekleştirmektedirler. Dünya şarap ihracatında başı Fransa, zaman zaman da, 2001 yılında olduğu gibi, İtalya çekmektedir. Bu ülkelerin ardından üçüncü sırada İspanya gelmektedir. Şili ve Güney Afrika da dünya şarap piyasasında pazar paylarını hızla artıran iki ülke olarak öne çıkmaktadır (Çizelge 5.5).

Üretim, tüketim ve ticaret rakamları göz önüne alındığında dünya şarap pazarında en etkin rolü Avrupa Birliği Ülkeleri oynamaktadır. AB sınırları içerisinde yer alan bağ alanları dünyanın toplam bağ alanlarının %45'ini teşkil etmektedir. Aynı paralelde dünya şarap ticaret hacminin yaklaşık %60'ı da AB ülkelerince gerçekleştirilmektedir. AB resmi istatistikleri uyarınca 2001 yılı dünya şarap ticaretinde AB'ye üye 15 ülkenin payı %67,6 olarak gerçekleşmiştir. Aynı yıl içinde %22,9 ile İtalya AB ülkeleri içinde birinci sırada yer alırken, %22,4 pay ile Fransa onu takip etmiştir.

Çizelge 5.5. Önde gelen şarap ihracatçısı ülkeler (Tilmaç ve Çakar 2003).

Ülke	Şarap İhracatı (2001Yılı) (milyon litre)	Dünya Ticareti içindeki payı %
İtalya	1.830	26,5
Fransa	1.580	22,9
İspanya	990	14,4
Avustralya	380	5,5
Şili	310	4,5
ABD	300	4,3
Almanya	240	3,5
Portekiz	200	2,9
Güney Afrika	180	2,6
Moldova	160	2,3
Dünya Toplam	6.897	

90'lı yılların başında Türkiye'nin yıllık şarap ihracatı 2 milyon ton civarında gerçekleşirken, günümüzde bu rakam ortalama 5 milyon ton seviyesine yükselmiştir. Çizelge 5.6'da ülkemizde yıllara göre yapılan şarap üretim miktarı verilmiştir.

Dünya şarap arzının sadece binde ikisi Türkiye tarafından sağlanmaktadır. Toplam bağ alanları sıralamasında ise ilk üç sırayı İspanya, Fransa ve İtalya almakta, dördüncü sırada ise Türkiye yer almaktadır. Ancak Türkiye, dünyanın en büyük 10 şarap üreticisi arasında yer almamaktadır. Bunun en büyük sebebi Türkiye'de yetişen üzüm türlerinin çoğunlukla sofralık olarak yetiştirilip tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Türkiye'nin geleneksel olarak şarap kültürüne sahip olmaması ve tüketici bilincinin eksikliği de üretimin yıllar içinde gelişmesini engelleyen en önemli faktör olmuştur.

Şarap üretiminin 1996–2004 döneminde yıllık ortalama % 3,61 oranında artış gösterdiği görülmektedir. Çizelgedeki rakamların gelişimi incelendiğinde 1997 – 2002 yılları arasında 45.000–48.000 milyon litre arasında gerçekleşen şarap üretiminin bundan sonra bir hareketlenme gösterdiği dikkati çekmektedir.

Üretim miktarında kaydedilen bu artışlar sonucunda sektördeki ortalama kapasite kullanım oranının 2004 yılı itibariyle % 60 düzeyine yükseldiği tahmin edilmektedir. Türkiye'nin yıllara göre yaptığı şarap ihracatı Çizelge 5.7'de verilmiştir.

Çizelge 5.6. Şarap üretim miktarlarının yıllar itibariyle gelişimi (Karabayır 2005)

Yıllar	Üretim Miktarı (bin litre)
1996	43.000
1997	46.000
1998	45.000
1999	46.000
2000	46.500
2001	47.400
2002	48.100
2003	51 300
2004*	57 100

*: Tahmini değer

Türkiye'nin şarap ihracat miktarının, tablodaki yıllar içerisinde önemli oranlarda dalgalanma gösterdiği göze çarpmaktadır.

Çizelge 5.7. Türkiye'nin yıllara göre şarap ihracatı (Karabayır 2005)

Yıllar	Miktar (1.000 litre)	Değer (1.000\$)
1999	4.334	7.381
2000	5.868	6.132
2001	4.833	5.230
2002	8.284	6.118
2003	4.797	7.303

Bunun en önemli nedeni dünya şarap ticaretinde yoğun bir rekabetin yaşanması ve Türkiye'nin geleneksel olarak şarap ihraç eden bir ülke olmaması nedeniyle uluslararası piyasalarda oturmuş bir payının bulunmamasıdır.

Şarap ihracatımızın gelişimi ile ilgili olarak dikkat çeken diğer bir nokta ise 2003 yılında ihracat miktarının, bir yıl öncesine göre % 42 oranında azalmasına karşın ihracatın parasal karşılığının %19.4 oranında artış göstermesidir. Bu durum Türkiye'nin şarap ihracatı içerisinde yıllardır en önemli kısmı oluşturan sofralık şarabın payının azalmakta olduğunun bir göstergesi niteliğindedir “(Tilmaç ve Çakar 2003; Karabayır 2005)”.

5.7. Şarap Üretiminde Etkili Faktörler

Kaliteli şarap kaliteli üzümde elde edilir. Şarabın hammaddesi üzümün türüne göre seçilen bölge ve toprak yapısının uygunluğu, iklim ve hava şartlarının elverişliliği kaliteli şarap üretiminin ön şartlarıdır.

5.7.1. Çeşidin etkisi

Şarap üretiminde kullanılan her çeşidin rengi, olgunluk zamanı, şıranın tanen, şeker/asit miktarı ve flavörü farklıdır. Bunlardan yapılan şaraplarda ona göre olmaktadır.

5.7.2. İklim

Şarap yapımında kullanılacak olan üzümün yetiştirileceği bölgelerde, yıllık ortalama sıcaklığın 14 – 15 ° C, yaz aylarında ise 19 ° C'nin üzerinde, yıllık yağış ortalamasının da 650 – 700 mm civarında olması gerekmektedir.

5.7.3. Toprak yapısı

Çakıllı, kumlu ve balçık zeminler sıcaklığı tutup olgunlaşmayı hızlandırdıklarından, şaraplık üzüm yetiştirilmesine elverişlidir. Güneş ışıklarını daha dik alan eğimli araziler üzüm yetiştirilmesi için daha avantajlıdır.

5.8. Şarabın Üretimi

Şarap üretiminde hammadde üzümün hasat edilmesinden başlayarak uygulanan bütün işlemler şarap oluşumunu ve kalitesini belirleyici olmaktadır. Burada şarap üretim işlemleri üzerinde durulacaktır.

5.8.1. Hasat

Üzümlerin olgunlaştıktan sonra toplanma zamanıdır. Üzümler olgunlaştıkça içerdikleri şeker oranı artar, buna karşın asit miktarında azalma olur. Şarabın kalitesi açısından çok önemli olan bu zamanın doğru tespiti için üzümlerin asit ve şeker miktarları ölçülmeli ve hasat elle yapılmalıdır. Türkiye'de en uygun hasat zamanı 15 Ağustos - 15 Ekim tarihleri arasında gerçekleşen bağbozumu dönemidir.

5.8.2. Salkım ayrımı

Şarap yapımında üzümün sırası yanında, kabuk ve çekirdekleri de değerlidir. Yine de salkımları şıraya istenmeyen acılıklar katacağından şarap yapım sürecinin ilk aşamasında tanelerden ayrılması gerekmektedir. Bu safhada üzümler havuzlara boşaltıldıktan sonra üzüm taneleri zedelenmeden salkımlarından ayrılır ve şırasının çıkabilmesi için hafifçe kırılır.

Şarap yapımında salkım ayrımı ve ezme işlemi bittikten sonra, üretim sürecinde uygulanan yöntemlerin farklılığından dolayı beyaz şarapla kırmızı şarap üretim işlemi farklılaşır.

5.8.3. Ezme

Bu aşama, pres (sıkma) işlemiyle daha iyi şıra elde edilebilmesi için, üzüm kabuğunun çatlatılmasıdır.

5.8.4. Fermantasyon

Üzümlerin sıkılmasıyla elde edilen şıra, içindeki tortunun çökmesi amacıyla dinlendirilir. Çökmeyen maddelerin ayrılması için de separatörden

geçirilir. Duru hale gelen şıra, sıcaklık kontrollü fermantasyon tanklarına gönderilir.

Gerekli mayanın eklenmesiyle şarabın fermantasyon aşaması başlatılır. (Bu işlem boyunca, oluşan tortuların ayrılabilmesi için şaraplar birkaç kez ayrı fiçılara aktarılır.). Bölüm 5.9' da etil alkol fermantasyonunu etkileyen faktörler ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

5.8.5. Olgunlaştırma

Her şarabın farklı bir olgunlaşma (eskitme) süresi vardır. Şaraba karakterini veren en önemli unsurlardan biri de içinde yıllandığı fiçimin hangi ağaçtan yapıldığıdır. Bugün kaliteli şaraplar için hala ahşap (meşe) fiçılar kullanılmaktadır. Şarap ahşabın küçük boşlukları sayesinde havadaki oksijenle buluşma imkânı bularak olgunlaşmaktadır. Meşe, şaraba kremalı vanilya karakterini kazandırmaktadır (Paslanmaz çelik tanklarda yıllandırılması şaraba doğrudan katkıda bulunmaz.). Olgunlaşma süreci boyunca şarabın tadı, kokusu ve dokusunda çeşitli farklılaşmalar oluşur.

5.8.6. Şişeleme / Saklama

Şarapların şişelere doldurularak mantarlanabilmesi için olgunlaşmasının tamamlanmış olması gerekmektedir. Olgunlaşma süresi tamamlanmış olan şaraplar, şişelenmeden önce çeşitli filtrasyonlardan geçirilmektedir.

Şarapçılıkta kullanılan şişenin şekil ve rengi, şarabın çeşidine ve bölgesel özelliklerine göre belirlenmektedir. Beyaz şaraplarda genellikle şekilleri boğaza doğru daralan, silindir "Ren Tipi" şişler kullanılırken, kırmızı şaraplarda ise yeşil, geniş gövdeli, dar silindir kısa boğazlı "Bordeaux (Bordo)" veya "Burgundy" şişeler kullanılmaktadır. Şişe altları içe doğru çukur yapılarak yüzey genişletilmiştir.

Şişeleme en önemli unsurlarından biri de doğru mantarın kullanılmasıdır. İyi bir şişe mantarı meşeden üretilmiş, kuvvetli ve elastik yapıda olmalıdır. Sert odunsu ve yumuşak olmayan şişe mantarı uygun değildir.

Şarap yaşayan bir organizma olarak tanımlanmaktadır. Tıpkı insan gibi doğup, gelişip, bir süre sonra yaşam eğrisinin inişe geçtiği, canlılığını yitirdiği

varsayılan şarabın uygun saklama koşullarında korunması gerekmektedir. Bir şarabın mahzende durması aşamasında önemli olan faktörler, sıcaklık, nem, ışık, temizlik, havalandırma ve saklama açısıdır.

Sıcaklık: Şarabın saklanması için ideal sıcaklık 10–12 °C olmakla beraber, 5–18 °C arasındaki her sıcaklık uygundur. Yıllanma aşamasında sıcaklığın sabit olması önemlidir. Ayrıca nem oranının da % 70 civarında olması uygundur.

Açı: Şaraplar yatay saklanmalıdır. Bu şekilde şarap mantar ile temas etmekte, ıslak kalan mantar ise şişenin içine hava girmesine engel olmaktadır.

Işık: Şarabın yıllanması için loş ışık gerekmektedir.

Temizlik ve havalandırma: Şarap yıllanırken muhafaza edildiği ortamın temiz ve havalandırılmalı olması, ortamdaki kötü kokuların şaraba geçmesine engel olur.

Şişelendikten sonra yeraltı kavlarında eskime süresini tamamlayan şaraplar, sunulmaya hazır hale gelir.

5.9. Şarapta Etil Alkol Fermantasyonunu Etkileyen Faktörler

Alkol fermantasyonu da diğer fermantasyonlar gibi biyokimyasal bir olaydır ve fermantasyonun gidişini bir dizi faktör etkiler. Fiziksel faktörler olarak sıcaklık, basınç, şeker konsantrasyonu (osmotik basınca karşı) ve kimyasal faktörler olarak da hava (oksijen) girişi fermente olacak üründeki (şıradaki) azotlu bileşikleri, metalleri (demir ve bakır gibi), tanenli maddeleri, uçucu asitleri, alkol, sülfüroz asidi ve diğer kimyasal bileşikleri ve son olarak da biyolojik faktörler olarak fermente olacak üründeki (şıradaki) gelişen mikroorganizmaları gösterebiliriz.

5.9.1. Fermantasyon sıcaklığının etkisi

Alkol üretiminde alkol fermantasyonunu gerçekleştiren maya bir canlı olduğuna göre diğer canlılar gibi onun da sıcaklıktan olumlu veya olumsuz etkilenmesi doğaldır. Çok yüksek veya çok düşük fermantasyon sıcaklıklarında maya şoka girer bu ise sıcaklığın fermantasyondaki önemini ortaya koyar (Güven

2003). Alkol fermantasyonu yapan mayalar çoğunlukla 25°C dolayında en iyi faaliyet gösterirler “(Güven 2003; Parley 1999)”. Sıcaklık 25°C'nin altına düşükçe giderek faaliyetleri yavaşlar, fakat 7–8°C'de bile yavaş da olsa rahatlıkla fermantasyona devam edebilirler. Biracılıkta mayaların bu özeliğinden yararlanır. Fakat alkol üretiminde amaç fermantasyonun olanaklar ölçüsünde çabuk bitmesi olduğuna göre, mayanın en iyi çalışma koşulları sıcaklık yönünden de yaratılmalıdır. Sıcaklık 30°C'nin üzerine çıkınca kimi etil alkol mayalarında 36°C'ye kadar fermantasyon hızlanır. Fakat çoğalma durur ve hücre giderek gücünü yitirir. 40°C'de ise mayalar fermantasyon yeteneklerini de önemli ölçüde yitirmiş olurlar. 25-30°C arasındaki sıcaklık maya çoğalması bakımından 30-37°C arasındaki sıcaklıklar ise alkol bakımından daha uygun bulunmuştur.

Yükselen sıcaklık fermantasyon hızını önce artırır, ancak pek çok maya cinsinde çoğalmak ve şekeri parçalamak için 22 – 27°C sıcaklık aralığı optimumdur. Ancak fermantasyonda açığa çıkan ısı (her mol üzüm şekerinden (180 g) yaklaşık 24 kkal) özellikle esas fermantasyonda şıranın sıcaklığını çok çabuk yükseltir. Böylece kabın büyüklüğüne göre sıcaklık 10-20°C artar. Bir çok maya sıcaklık 30°C gelince fermantasyon çalışmasını yavaşlatır. 40°C'de ise tamamen durdurur.

Yüksek sıcaklık şarapta aroma maddelerinin, alkolün kaybı yanında sıcak seven diğer mikroorganizmaların gelişmesine ve bunların metabolizma ürünlerinin fermantasyonun temiz seyrini tehlikeye sokmasına neden olur. Bu nedenle son yıllarda aynen bira üretiminde olduğu gibi düşük sıcaklıklarda fermantasyon yapılması önem kazanmıştır. Maya ıslahındaki gelişmeler ile çok düşük sıcaklıklarda (4–10°C) çok iyi çalışan mayalar elde edilmiştir. Ancak kırmızı şarap cibre fermantasyonunda ise yüksek sıcaklık (22–25°C) önerilmektedir. Mayşe fermantasyonunun kısa sürede yapılması kabuk ve çekirdekten çok miktarda tanenli maddelerin çözünmesinin engellemektedir. Mayşenin fermantasyondan önce kükürtlenmesi fermentasyonun şiddetli olmasını önler.

Şarap olgunlaştırılırken de sıcaklık oldukça etkili ancak kolayca kontrol altına alınabilecek bir faktördür. Direkt kondensasyon reaksiyonları, asetaldehit reaksiyonları ve antosiyaninlerle fenoller arasındaki kopigmentasyon etkileşimleri sıcaklıktan etkilenmektedir. Polimerizasyon reaksiyonlarının hızı artan sıcaklıkla

artmaktadır. Tat ve aroma belirleyici oksidasyon, asit hidrolizi gibi diğer reaksiyonlarda sıcaklıktan etkilenmektedir. Şaraptaki çözünür gazlar sıcaklık düşüşü ile artmaktadır. Bu durum aerasyonda oldukça önemli olmaktadır (Parley 1999).

Polimerizasyon mekanizmasında önemli olan asetaldehit konsantrasyonu yeterli miktarda ise yüksek sıcaklıkta reaksiyon hızı daha fazla olmaktadır. Ancak bunu takip eden renk kaybı daha fazla ve çabuk olur (Baraowski ve Nagel 1983). 15–32°C’da yapılan çalışmalr sonucunda olgunlaştırma sıcaklığı olarak 15°C’den düşük sıcaklıklar önerilmektedir. Böylece daha fazla miktarda renk maddesi ve kararlı asetaldehit ve dimerler arası köprü sağlanabilmektedir (Rivas-Gonzalo ve ark. 1995). Yüksek sıcaklıklarda renk kararsızdır ve hızla büyük miktarda renkli polimerler çökelir. Düşük sıcaklıklarda asetaldehit reaksiyonlarıyla antosiyanin kaybı daha yavaştır. Bu yüksek konsantrasyonda monomerik antosiyaninlerin diğer renk polimerleri oluşumunda daha uzun süre kalmasını sağlar.

Hem oksidasyon hem de asetaldehit reaksiyon hızları artan sıcaklıkla hızlanır. Şaraplar anaerobik depolanır ve burada ortam hava sıcaklığı 3–25°C’da tutulur. Sıcaklık havanın varlığından daha önemli bir etkidir. Hava teması reaksiyon hızını artırmaktadır. Ancak havanın olmadığı bir durumda sıcaklık depolama sıcaklığı 25°C’da iken antosiyaninlerde hızla azalma, polimer pigmentlerde hızla artış olmaktadır. Oysa 3°C’da yapılan depolamada bu değişimler önemli düzeyde azalır ve toplam fenol bileşen miktarındaki azalma 25°C’da 3°C’dan daha fazla olmaktadır (Somers ve Evans 1986).

Sıcaklık kırmızı şarapta fermantasyonda ve olgunlaşmasında etkili en önemli faktörlerdendir.

5.9.2. Karbondioksitin etkisi

Fermantasyon sırasında karbondioksit atmosferi yaratılması mayanın çoğalmasını ve fermantasyon hızını olumlu veya olumsuz etkiler. Bunlara bağlı olarak alkol verimi de etkilenir. Araştırmacılar maya çoğalmasının 1 atü'lük CO₂ basıncında belirgin olarak önlendiğini, artan CO₂ basıncıyla gelişmenin yavaşladığını ve 20 atü üzerinde tümüyle durduğunu belirtmişlerdir.

Şaraphanelerde her geçen gün hızla artan çelik tank kullanımı ile karbondioksit basıncı sayesinde fermantasyonun kontrolü sağlanabilmektedir. Fermantasyon sırasında çıkan karbondioksitin dışarı bırakılmadan tank içinde tutulması ile artan basınç sayesinde fermantasyon yavaşlatılabilmekte ve sonunda tamamen durdurulabilmektedir. Yapılan denemelere göre tank içinde oluşan CO₂ basıncı tankın vananın periyodik olarak açılması ve fazla basıncın bırakılması suretiyle fermantasyon tamamen istenilen hızda sürdürülebilir ve uygun bir süre içinde tamamlanır.

Bu dizginlenmiş fermantasyonun avantajı, şekerden daha iyi verim alınması. Yani daha büyük miktarda alkol oluşumu sağlamasıdır. Dezavantaj ise, biraz maliyet artırma ve biraz fazla zaman gerektirmesidir.

5.9.3. Havanın (Oksijenin) etkisi

Mayanın normal olarak tomurcuklanıp çoğalabilmesi için gerekli enerjinin ortamdaki şekerlerden sağlanmasında hava mutlak zorunludur. Fakat alkol üretiminde şekerlerin hücresel yapı yerine, alkole dönüşmesi söz konusu olduğu için hava daha az gereklidir. Ancak mayanın hızlı bir fermantasyon yapabilmesi ve ortamdaki şekerin tamamını fermente edebilmesi için yeterli enzim ve maya aktivitesi olması gerekir. Bu da fermantasyondan önce ve başlangıç fermantasyonu sırasında mayayı hızlı bir çoğalmaya sevk etmekte olur. Bu amaçla kesikli fermantasyon yöntemlerinde, maya çoğaltma ve başlangıç fermantasyonu sırasında ortama maya için yeterli hava verilmelidir. Fakat asıl fermantasyon safhasına girildikten sonra mayanın hava ile temas etmesi sakıncalıdır. Çünkü bu sırada ortama hava karışması, alkol üretimi yerine mayayı hücresel çoğalmaya ve fermantasyon yan ürünlerini artırmaya teşvik eder.

Fermantasyon sırasında ve şarabın olgunlaşması aşamasında şaraba havanın girmesine hiç izin verilmemesi gerekir. Aksi halde oksidasyon ve hava seven mikroorganizmaların (küf, mayaları ve sirke bakterileri) gelişmeleri tehlikesi ortaya çıkar. Ancak bazen maya istenildiği ölçüde çoğalmaz ve bu nedenle fermantasyon iyi şekilde yürütülmez. Bu durum şekeri çok fazla olan üzüm şıralarında açık olarak görülür. O zaman şıranın veya fermantasyonu yürümeyen ürünün havalandırılması gerekebilir. Havalandırma şıraya hava

verilmesi veya boş bir kaba aktarma suretiyle gerçekleştirilir. Hava girişi ile maya çoğalması çok hızlanır. Kuvvetli kükürtleme sonucu fermantasyon yürümez ise fermantasyonu engelleyen sülfüroz asidin fazlası uzaklaştırılır

Normal bileşim yapısındaki şıraların bu aşamada havalandırılmasına gerek yoktur. Şarabın olgunlaştırılması boyunca oksijen teması fenollerin ve ileriki asetaldehit ve kinon polimer oluşumlarını etkiler. Renk oluşturan direkt kondensasyon antosiyanin-flavanoit ürünleri yanında renksiz polimerlerin oksidasyonu da istenir. Bu işlem ancak diğer flavylum iyonları tarafından oksijen varlığında mümkün olur. Şarabın kompozisyonundaki maddelerin oksijen istemi şarabın redoks potansiyeline, pH'a bağlı değişmektedir. Fenollerin redoks potansiyeli, yüksek şarap asitliğinde düşer ve daha da okside olur. Şaraplar yüksek fenol içerikleriyle tamponlanırlar (Singleton 1987).

Oksijen fenolleri güçlü bir oksidan olan hidrojen peroksit varlığında kinonlara okside eder. Bu şaraptaki etanol ile antosiyanin ve fenolleri etkiler. Yüksek pH da oksidasyon, fenolat anyonundan daha kolay olacağı için daha hızlı gerçekleşir. Oksitlenmeyle oluşmuş hidrokinonlar fenollerden daha düşük redoks potansiyeline sahip olurlar. Ağır gelişen oksidasyonlarda rejenaratif polimerizasyonla okside edilebilir fenoller daha çok oluşur. Eğer oksidasyon hızla gerçekleşirse daha az rejenaratif polimerizasyon, daha az oksijen tüketimiyle daha çok fenol kinonlara okside olabilir “(Parley 1999; Bakker 1986)”.

5.9.4. Şeker konsantrasyonunun etkisi

Üzüm şıralarında şeker oranı 200 g/L seviyelerine kadar fermantasyonda hiçbir sorun olmaz. Şeker oranı 250 g/L kadar ise güçlü maya kullanılması ve titizlikle fermantasyonun yürütülmesi sağlandığında yine bir sorun yaşanmaz. Ancak şeker oranı 250 g/L veya üzerine çıkınca ozmotik basınç, daha doğru deyimle şeker çözeltisinin ozmotik emme kuvveti o kadar yükselir ki, mayanın hayati faaliyeti güçleşir (Aktan ve Kalkan 2000). Fermantasyon geriler ve haftalar, bazen aylar veya yıllar sürer. Seçme tane hasadı yapılan üzümlerin şıralarında fermantasyon bu nedenle tamamlanmaz, aksine fermantasyon bittiği halde yüksek miktarlarda şeker kalır. Alkol oranı İse artan şeker konsantrasyonuna göre azalır.

Yüksek konsantrasyonlu şekerin fermantasyonu durdurma etkisini mümkün olduğunca önlemek için üzüm meyvelerden tatlı şarap yapımında hesaplanan şeker miktarı bir defada verilmeyip kademeli şekilde verilmelidir. Böylece daha temiz bir fermantasyon ile daha az uçur asit oluşumu sağlanmış olur.

5.9.5. Alkol konsantrasyonunun etkisi

Alkol fermantasyonu yapan çeşitli maya türleri içinde alkole karşı en dayanıklı olanlar hakiki mayalardır. Yükselen sıcaklıkla birlikte alkol zehir etkisi artar. Güney ülkelerinde ve bu arada ülkemizde de geçtiğimiz yıllarda şeker oranı yüksek olan şıralardan likör şarapları hazırlanmakta idi. Şaraplarda fermantasyon durunca ve belirli bir alkol oluşunca distile alkol ilavesi yapılarak likör şarabı yapılırdı.

Fermantasyon bazen bitmeden distile alkol ilave ederek doğal şekeri olan (port tipi şarap hazırlanması) tatlı şarap elde edilir. Mistel şarabı üretiminde ise şıraya % 16–18 alkol olacak şekilde distile alkol katarak fermantasyon yaptırılmaz.

5.9.6. Sülfüroz asidin etkisi

Şarap hazırlanmasında sülfüroz asidi çoğunlukla kullanılmaktadır. Presten çıkan yeni şıraya ve özellikle üzüm ve meyve şıralarında tortu ayırma işleminde yapılan kükürtlemelerde yüksek oranlarda sülfüroz asit (8–10 g/hL SO₂) kullanılır. Böyle durumlarda fermantasyon birkaç gün sonra başlar, ama temiz ve aksamadan sürer. Ancak yeni çalışmalar hiç SO₂ kullanmamak üzerinde yoğunlaşmıştır.

Kükürt dioksite özellikle dayanıklı maya *Saccharomyces ludwig* ise de bunun alkol yapma yeteneği zayıftır. Şıra kükürtlemesinde kullanılan sülfüroz asidin bir kısmı fermantasyon sırasında kısmen asetaldehide bağlanır, kısmen de fermantasyonda oluşan karbondioksit ile birlikte kaçar. Fermantasyonun sonunda genç şarapta bu nedenle yüksek oranda sülfüroz asit kalmaz.

5.9.7. Fermantasyon sıvısının pH'sının etkisi

Fermantasyonda önemli diğeri bir etken, fermantasyon sıvısının pH'sı yani asitlik durumudur. Mayalar çoğunlukla zayıf asit ortamda gelişip, faaliyet gösterirler. Çok düşük (pH=2,8'in altında) ve yüksek pH'larda olumsuz etkilenirler. İşletme mayası üretiminde, mayalık mayşe asidlendirilerek çoğunlukla pH'sı 3,5 dolayına getirilir. Sülfürik asitle mayanın muamele edilerek yeniden kuvvetlendirilip, fermantasyonda kullanıldığı yöntemde ise pH 3,0, hatta 2,8'e kadar düşürülür. Genellikle alkol fermantasyonunda pH en uygun olarak 3,8-4,2 arasında bulunur ve bu hammaddeye göre çok değişir. Fermantasyonda pH özellikle nişastalı hammaddelerin işlenmesinde önem kazanır. Çünkü son şekerlenme ile nişastanın parçalanması, fermantasyon sırasında da sürer ve pH bu parçalanmayı yapacak enzimlerin çalışmasına uygun olmalıdır. Buradaki değerler daha çok olgun mayşenin yani fermantasyonunu bitirmiş mayşenin pH değeri ile belirlenir. Ayrıca olgun mayşenin pH'sının 4,2'nin altına düşmemesi gerekir. Genellikle önerilen ve hedeflenen bitmiş kırmızı şarapta olabildiğince düşük olmalı, pH 3,6'dan az olmalıdır.

Asetaldehit ve antosiyanin-flavonoid polimerizasyon reaksiyon hızları düşen pH ile artış gösterir. Daha fazla hidrojen iyonu konsantrasyonu nedeniyle düşük pH değerinde, asetaldehit ara polimerizasyon reaksiyonları daha hızlı olur. Burada reaksiyon mekanizması önce asetaldehit karbonyum iyonu, daha sonrada kararlı asetaldehit-kateşin karbonyum iyon oluşumu istenir.

Fenol ve fenolat iyonları arasındaki denge de pH'ya dayanır, yüksek pH değerinde daha fazla fenolat iyonu oluşur, oksidasyon hızında yüksek pH ile artar “(Aktan ve Kalkan 2000; Tilmaç ve Çakar 2003; Rice-Evans ve Packer 1998)”.

5.9.8. Maya suşunun ve aşılama oranının etkisi

Alkol fermantasyonunda kullanılan maya suşu mayşenin fermantasyonunu önemli ölçüde etkilemektedir. Kullanılacak maya mayşede bulunan şekerleri fermente etme yeteneğinde olmalı ve ayrıca fermantasyonu istenilen süre içinde bitirebilmelidir. Üzüm çeşidi ve üretilecek şarap tipine uygun maya suşu kullanılmalı, özelliği bilinmeyen maya kullanılmamalıdır. Kuru aktif saf maya kullanılmazdan önce talimatına uygun şekilde rehidre edilmelidir.

Şıraya fermantasyonda % 2 kadar saf maya verilmesi tüm araştırmacılar tarafından tavsiye edilmektedir. Maya olarak çabuk çöken, granüler tip *Sacchromyces cerevisiae* kullanılır. Maya suşu, şarabın bileşimini ve tipini etkilemektedir “(Aktan ve Kalkan 2000; Avcı 2004)”.

Fermantasyonda aşılama oranı önemli olup, uygulanan fermantasyon yöntemlerine göre değişir. Aşılama maya miktarı kullanılan mayşeyi kısa sürede ve hızla fermente ederek tüm şekeri arzulanan süre içerisinde alkole dönüştürecek düzeyde olmalıdır. Eğer cibre fermantasyonu sırasında sıcaklık çok artarsa maya zayıflar ve % 1–6 kadar şeker fermente olmadan kalır. Kalan bu şeker bakteriler tarafından parçalanmaya uygundur. Bu nedenle fermantasyon şeker kalmayana kadar sürdürülmelidir.

Düşük oranlı aşılamalarda maya, ortamdaki şekeri fermente edebilmek için önce yeterli oranda çoğaltılmaktadır. Başlangıç fermantasyonu bu nedenle yavaş seyreder ve uzun sürer. Bu ise bulaşmalara neden olabileceği gibi hem şeker ve hem de zaman kaybına yol açar.

5.9.9. Besin maddelerinin etkisi

Alkol üretiminde kullanılan bazı hammaddeler maya besini bakımından yetersiz olabilirler. Bu da fermantasyon sırasında mayanın yeterli besini bulamayacağı için hem başlangıç fermantasyonunda hem de asıl fermantasyonda yeterince çoğalıp etkinlik kazanamamasına ve fermantasyonun aksamasına yol açar. Bu durumda şıra yada mayşeye maya ilavesinden önce maya besini eklenir. Maya besini olarak en çok azotlu ve fosforlu maddeler tercih edilir. En fazla diamonyumfosfat $(NH_4)_2HPO_4$ kullanılır ve her hektolitre mayşe için 20g olacak şekilde ortama verilir. Gerekli azotun sağlanması sırasında 2/3'nün organik kaynaklı olmasına, maya çoğalması ve fuzelyağı oluşumu bakımından özen gösterilmelidir“ (Aktan ve Kalkan 2000; Avcı 2004; Anonim 2003)”.

Maya beslenmesi için azota ihtiyacı vardır. Normal üzüm şıraları proteinler, amino asitler ve amonyum bileşikleri gibi azotlu maddelerden yeterli oranda içerirler ve fermantasyon suni olarak asimile olabilir azot katmaksızın yürür. Ancak sert çekirdekleri veya üzüm sü meyvelerin şıraları özellikle yaban

mersini "Preiselbeer-Heidelbeer" şıraları azotça çok fakir olduklarından bunlara 40g/hL amonyum fosfat veya amonyum sülfat katmalıdır.

5.9.10. Kükürt dioksit

Kükürt elementter halde fermantasyonu durdurur. Etkisi çok ince toz olması halinde artar. Kükürtleme düzeyi çok yüksekse, fazla miktarda potasyum meta bisülfite veya kükürtdioksit çözeltisi katkısı yapılmışsa fermantasyon başlamayabilir. Element kükürt oranı 40mg/hL aşmaz ise bir süre sonra fermantasyon devam eder.

Fermantasyon boyunca üretilen asetaldehit miktarı fermantasyon öncesi ilave edilen SO₂ miktarıyla orantılıdır. Malolaktik fermantasyon boyunca bağlı asetaldehit katabolize edilirken, serbest SO₂ bırakılır, fakat bağlı SO₂ oksidasyonu serbest asetaldehit oluşumunu sağlar “(Parley 1999; Bakker 1986; Bakker ve Timberlake 1986)”. Kırmızı şaraptaki asetaldehit ve SO₂ etkisi birbirine bağlıdır ve bunlarda antosiyanini etkiler. Şaraptaki artan SO₂ miktarı pigment ve prosiyanidinlerin polimerizasyonunu yavaşlatır “(Bakker 1986; Dallas ve Laureano 1994)”.

Eski Mısırlılar ve Romalılar döneminden beri şaraplara SO₂ ilave edilmektedir. SO₂ veya sülfite normal maya fermantasyonunun bir ürünü olduğundan ilave edilsin veya edilmesin taze şaraplarda bulunmaktadır. SO₂ şarapta antiseptik ve antioksidan olarak yarar sağlar. SO₂ bir sıvı içinde çözüldüğünde değişik formları arasında bir denge oluşur. Bu dengedeki bütün formlar serbest kükürt dioksit olarak bilinir. Bisülfite iyonları (HSO₃) aldehitler, dekstrinler, pektinler, proteinler, ketonlar ve belirli şekerlerle reaksiyona girerek bisülfite bileşiklerini oluşturur. Bu formlar bağlı kükürt dioksit olarak bilinir. Şarapta serbest kükürt dioksitin bağlı kükürt dioksite oranı sıcaklığa, bağlayıcı maddelerin miktarına ve pH'a bağlıdır.

SO₂ şırayı ve şarabı enzimatik esmerleşmeye karşı korur. Bekletme sırasında yavaş bir şekilde havaya karışması kısmen enzimatik olmayan esmerlemeyi de önler. Malolaktik fermantasyonun önlenmesine yardımcı olur “(Aktan ve Kalkan 2000; Güven 2003; Şahin 1995)”.

5.9.11. Metaller

Fermantasyon sırasında üzüm veya meyve sırasında fazla miktarda demir bulunması fermantasyon gidişine etki yapmaz. Ancak ikinci veya yeniden yapılan fermantasyonlarda 6mg/L demir fermantasyonu rahatsız ederek, özellikle şarap düşük redox potansiyele sahip ise fark edilebilir hale gelir. Demirin sadece ferro formu fermantasyonu engelleyicidir, bu nedenle köpüklü şarap üreten firmalar genel olarak temel şaraplarda kalium eksasiyano ferrat II potasyumferrosiyandır (kaliumhexacyanoferrat) kullanarak yalnız durultma amacı değil aynı zamanda fermantasyon engellemesinden de yararlanarak koruma sağlarlar.

Şıra ve şarabın temasta olabileceği diğer metallerden bilinen çinkodur. Büyük miktarlarda (50 mg/L den fazla) çinko ancak etkili olur. Bu ölçüde çinko içeren şaraplar ise zaten içilemez durumda olur. Bunun için potasyumferrosiyandır ile durultulur.

5.9.12. Asitler

Üzüm sırasında ve meyve sularında bulunan asitler fermantasyon engelleyici değildir. Bunlar yabancı mikroorganizmaları devre dışı bırakarak fermantasyonunun sağlıklı olmasını da sağlar. Ancak 30 g/L asitten fazla bir asit miktarı olduğu durumlarda fermantasyon etkilenir (tartarik ve malik asit olarak). Laktik asit ise daha 14 g/L seviyesine ulaşınca maya gelişmesini etkiler ve 30 g/L seviyesinde ise tamamen durur. Maya için kuvvetli bir zehir ise asetik asittir. Sirke asidi oranı 2 g/L olunca fermantasyonu geciktirir ve 8 g/L de ise tamamen durdurur.

Genç şaraplar belirli oranda uçucu asitler içerdiğinde fermantasyonu etkiler, böyle sirkeleşmiş şarapları yeniden fermantasyon yaptırmak ve satılabilecek hale getirmek mümkün değildir.

Bütrik asit ve formik asit daha 1 – 2 g/L seviyesinde iken mayanın faaliyeti durur. Salisilik ve benzoik asitlerde ise miktar daha 0,1 – 0,2 g/L düzeyine gelince fermantasyonu engelleme sınırına varılmış olur.

6. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma materyali, 4 farklı fermantasyon yöntemiyle üretilen Öküzgözü şarabı örnekleridir. Öküzgözü şarabı, doğal (maya ve enzim ilavesiz), klasik (maya ilaveli), enzim ilaveli (maya ve enzim) ve sıcak maserasyon (maya ilaveli, fermantasyondan önce 65°C da 8 sa maserasyon) fermantasyon yöntemleri kullanılarak beş gün 25 °C de, kabuk ve kabuk + çekirdek cibre fermantasyonu ile üretilmiştir

6.1. Hammadde

Araştırmada Kırklareli merkezine 2 km uzaklıktaki Karakoçlar köyünden 17.10.2005 de hasat edilen Öküzgözü üzüm çeşidi kullanılmıştır (Şekil 6.1).



Şekil 6.1. Öküzgözü üzüm çeşidi

Öküzgözü üzüm çeşidinin ampelografik özellikleri Çizelge 6.1’de verilmiştir.

Çizelge 6.1. Öküzgözü Üzümünün ampelografik özellikleri “(Çelik 2002; Tangolar ve ark 1996)”

Çeşit adı	Öküzgözü
Yaygın yetiştiği yer	Elazığ, Malatya, Diyarbakır, Adıyaman
Tanenin rengi	Gri, puslu, siyah
Tanenin şekli	Eliptik
Tanenin ortalama çekirdek sayısı	2-3(İri, 6-7 g)
Tanenin Kabuğu	Kalın
Aroma	Çeşide özgü tat
Salkımın Şekli	Kanatlı konik
Salkımın sıklığı	Dolgun
Salkımın iriliği	İri, 400-500 g
Olgunlaşma zamanı	Geç

Üzümün doğal aromasının korunması, fermantasyonun hızlı başlaması ve az köpük oluşumunun sağlanarak, dengeli miktarda gliserol oluşumu sağlamak amacıyla şarap mayalarından *Saccharomyces cerevisiae* suşunun kullanımı uygun bulunmuştur (Cabaroğlu ve ark. 1999).

Mayşenin enzimatik fermantasyonu için kullanılan pektolitik enzimler dokudaki pektini parçalar. Bu suretle bir taraftan verim artarken diğer taraftan parçalanmış hücrelerdeki renk maddeleri meyve suyuna geçerek daha koyu renkli meyve suyu elde edilir “(Tanlası ve Karacan. 2001; Anlı 2004)”.

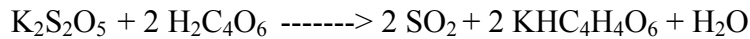
Enzim ilavesi yapılacak mayşelere, ABF Ingredients Company ürünü Rohavin VR-C pektolitik enzim preparatı cibre fermantasyonunun yapıldığı kırmızı şarabın üretimi için öngörülen miktarda ve doğrudan 3 g/hL oranında uygulanmıştır. Bu pektolitik enzim *Aspergillus*’ dan elde edilmiştir.

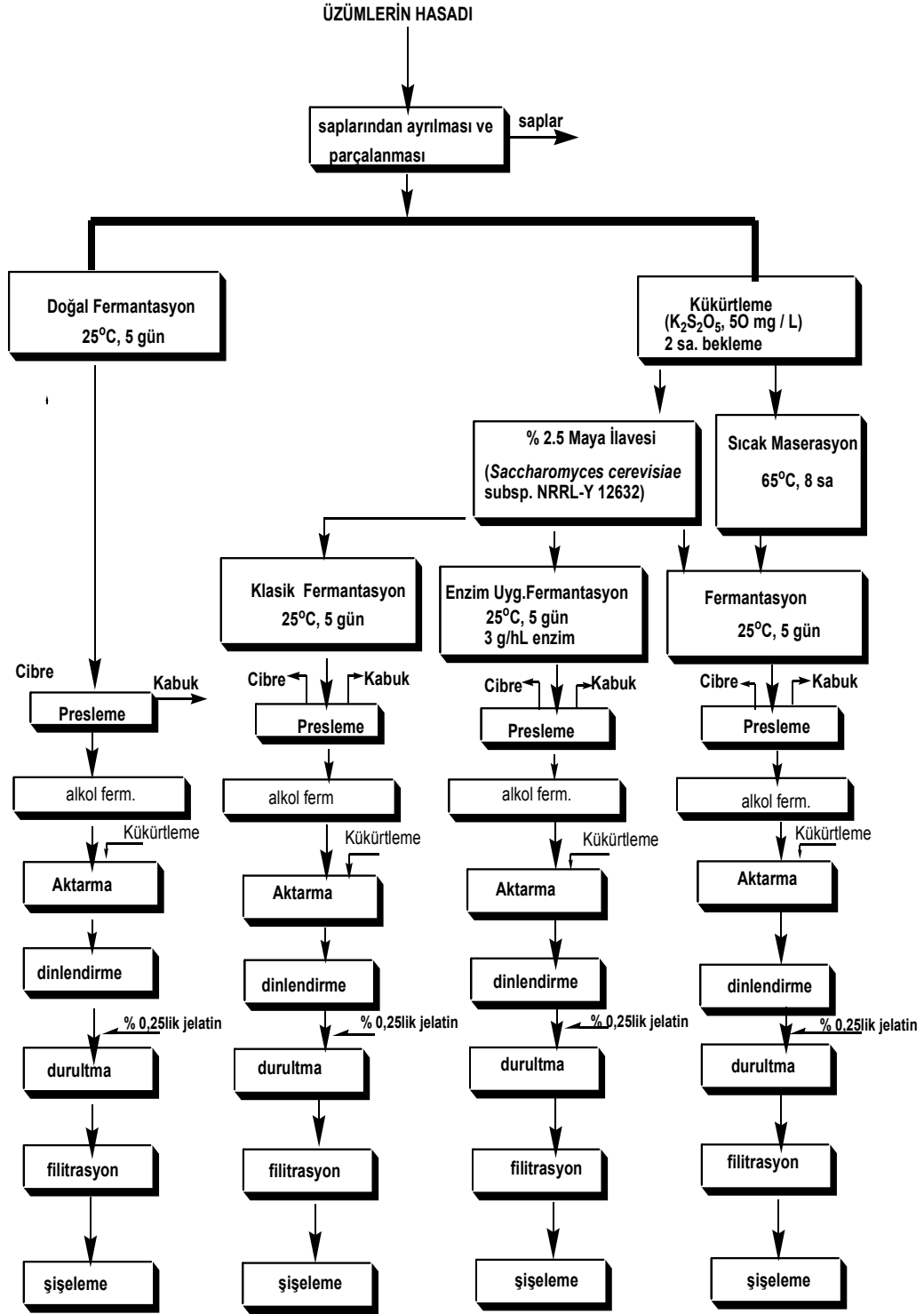
6.2. Yöntem

Kırkırelili'nden olgunlaşma dönemi 17.10.2005 tarihinde toplanmış (35kg) Öküzgözü üzümleri kasalarla laboratuvar ortamına getirilmiştir. Üretime başlanana kadar soğukta (4 – 10°C) muhafazaya alınmıştır. Üzümler 17.11.2005' de sap ve çöplerinden ayıklanarak hemen işleme başlanmış, işleme alınamayan üzümler tane ve sap bağlantısı koparılmadan polietilen torbalara konularak, - 20°C'de saklanmıştır “(Anlı 2004; Deryaoğlu ve Canbaş 2003; Deryaoğlu ve Canbaş 2004)”. Şıranın Briks, pH asitliği, toplam asitlik, yoğunluğuna bakılmıştır. Alınan şıra, kabuk, çekirdek numuneleri liyofilizatörde daha sonra gerçekleştirilecek toplam fenolik bileşikler, toplam flavanol ve toplam antosiyanin miktarları tespit için dondurulup-kurutulmuştur.

28,6 kg üzümün % 83,74 şıra, % 2,47'si sap ve çöp olarak ayrılmış % 1,22'si bozuk tane olduğundan atılmıştır. Üzümün %1,73'ü çekirdek ve % 10,84 üzüm tanelenmiş olarak derin dondurucuya konulmuştur, son olarak elde edilen 24,000 mL cibre ve şıra üretime alınmıştır (Şekil 6.2).

Yabancı maddelerinden ayrılan üzüm, bir kısmı çekirdeklerinden ayrılmış olarak bir kısmı ise kabuk-çekirdek meyve eti olarak pedallı eziciyle çekirdekleri kırılmadan Laboratory Blender Stomacher 400 kullanılarak parçalanmıştır. Herbir üretim yöntemi için 2 paralel olacak biçimde cam kaplara 1,5 L cibre ve şıra konmuştur. Doğal fermantasyon uygulamasında kullanılacak örnek hariç diğer örnekler kükürtlemeye “(Anlı 2004; Aktan ve Kalkan 2000)” tabi tutulmuşlardır. Şaraplar fermantasyon bitiminde tortularından ayrılarak kükürtlenmişlerdir. Kükürtleme işleminde potasyum metabisülfite (K₂S₂O₅, Merck-extra pure) litreye 50 mg düzeyinde uygulanmıştır. Böylece cibreye litrede 25 mg SO₂ verilmesi hedeflenmiştir.





Şekil 6.2. Öküzgözü üzümünden farklı fermantasyon uygulamalarıyla şarap üretim akım şeması

Potasyum metabisülfid ortamdaki tartarik asit varlığında şarap taşı ve kükürt dioksit oluşmasına yardımcı olmaktadır (Anlı 2004). Ayrıca kükürt dioksit

istenmeyen maya, küf ve bakteri faaliyetine karşı etkin bir madde olarak kullanılmıştır.

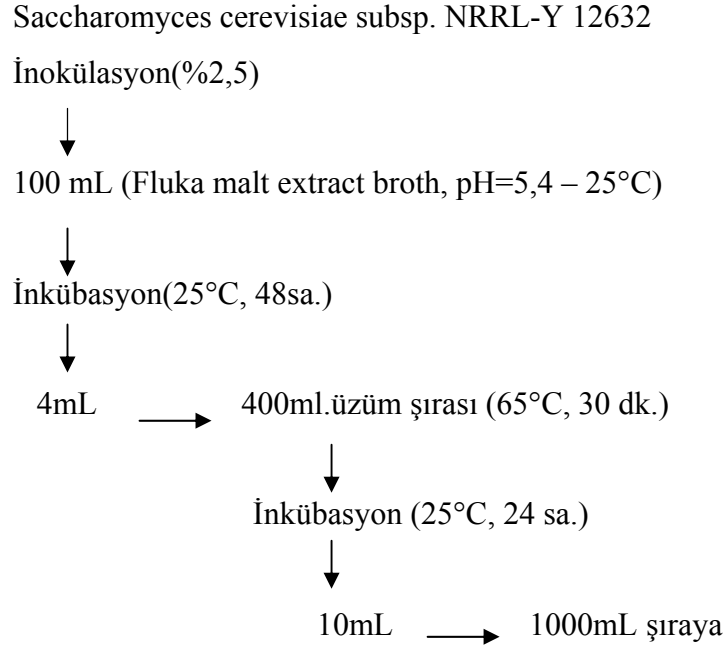
Ezme değirmeninden geçirilerek elde edilen şıra-cibre (üzüm tanelerinin değirmenden geçirildikten ve preslenip sıkıldıktan sonra kalan artıklardır) ve şıra-kabuk (çekirdeksiz) karışımlar, polifenollerin şıraya geçmesini sağlamak için maserasyon işlemine tabi tutulmuştur. Maserasyon sıcaklığı ve süresi 25°C de 5 gün olarak uygulanmıştır. Deneysel çalışmalar şu ana başlıklar altında özetlenebilir:

- 1- Liyofilize kültürün canlandırılması
- 2- Kullanılacak hammaddenin hazırlanması ve özelliklerinin belirlenmesi
- 3- Maserasyon ve şıra eldesi - Kükürtleme
 - a) Doğal fermentasyon
 - b) Saf maya ilavesi
 - c) Enzim ve maya ilavesi
 - d) Sıcak maserasyon ve maya ilavesi
- 4- Alkol fermentasyonu
- 5- Tortu alma, dinlendirme, durultma ve şişeleme
- 6- Şarap analizleri, polifenol analizleri, antioksidan aktivite tayini

Maya ilavesi yapılacak şıralar için Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde *Saccharomyces cerevisiae* subsp. NRRL-Y 12632 liyofilize kültürü Fluka Malt Extract Broth (malt ekstrat 17 g/L pepton 3 g/L) besiyerinde canlandırılmıştır (Şekil 6.3).

Daha sonra belli miktardaki üzüm şırasına üretim öncesinde inoküle edilerek 24 sa., 28°C inkübasyonla adaptasyon ve çoğalma sağlanmış ve canlandırma besi yerindeki toplam maya sayısı thoma lamında yapılan sayımla 640×10^4 ad/mL olarak belirlenmiştir. Hazırlanmış olan bu kültürden mayşelere %2,5 oranında kullanılmıştır.

Saccharomyces cerevisiae sub.sp. NRRL-Y 12632 mayasının ilavesiyle fermentasyon başlangıcının hızlandırılması, üzüm aromasının korunması, fazla köpük oluşmaması hedeflenmiştir.



Şekil 6.3. İnokülasyon kültürünün hazırlanması

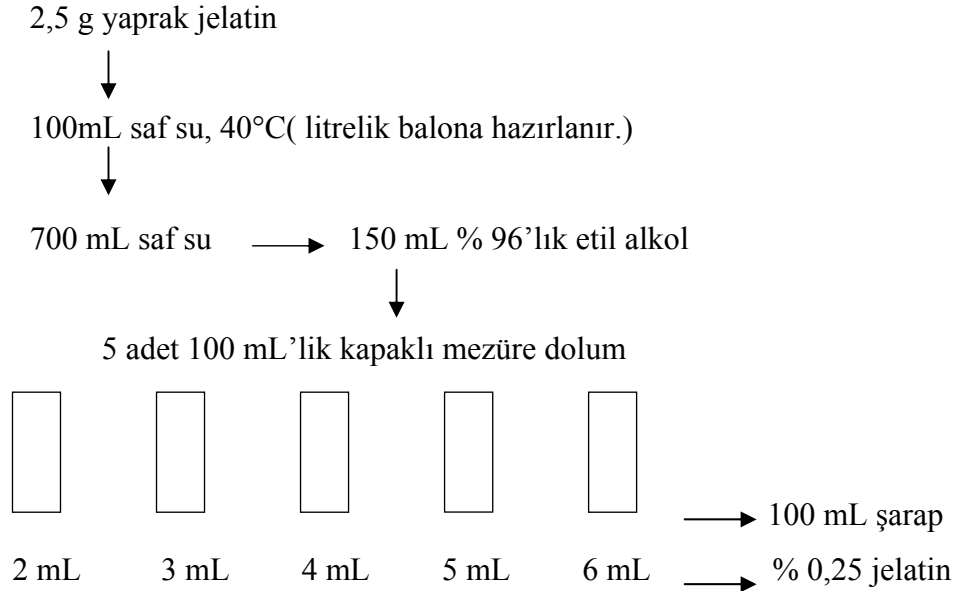
Mayşenin enzimatik fermentasyonu için kullanılan pektolitik enzimler dokudaki pektini parçalar. Bu suretle bir taraftan verim artarken diğer taraftan parçalanmış hücrelerdeki renk maddeleri meyve suyuna geçerek daha koyu renkli meyve suyu elde edilir (Cemeroğlu ve Acar 1986).

Enzim ilavesi yapılacak mayşelere, ABF Ingredients Company ürünü Rohavin VR-C pektolitik enzim preparatı cibre fermentasyonunun yapıldığı kırmızı şarabın üretimi için öngörülen miktarda ve doğrudan 3 g/hL oranında uygulanmıştır. Bu pektolitik enzim *Aspergillus* dan elde edilmiştir.

Mayşenin ısıtılması ve soğutulması ilke olarak, parçalanmış meyve derhal ısıtılarak meyvede doğal olarak bulunan tüm enzimler inaktif hale getirilir. Böylece özellikle renk lezzet ve beslenme değerini bozan ve azaltan enzimatik reaksiyonlar önlenmektedir. Mayşe ısıtılmasının ilk amacı enzimlerin inaktive edilmesi suretiyle biyokimyasal reaksiyonların önlenmesidir. Diğer taraftan mayşedeki mikroorganizma yükü de azaltılmış olur. Mayşenin ısıtılmasıyla proteinler koagüle olur hücre zarı geçirgenlik kazanır ve doku gevşer. Bu şekilde preslenecek mayşenin fiziksel yapısı bozulduğu için meyve suyu çıkışı yavaşlaşır da verim artar (Cemeroğlu 1982).

Sıcak maserasyon uygulanacak üzümler parçalanıp ezildikten ve kükürlendikten sonra 65°C'de 8 saat süreyle su banyosunda ısıtılmıştır. Daha sonra 25°C sıcaklığa getirilip maya ilave edilmiş ve diğer bütün örnekler gibi bu sıcaklıkta 5 gün çalkalamalı inkübatör (Lab-Line) içinde bekletilmişlerdir. Bu sürede her gün aynı saatlerde ve iki kez, cibre şapkası oluşmaması için bütün mayşe kavanozlarına karıştırma yapılmıştır. Bu örtünün sürekli karıştırılarak dağıtılması, şıraya batırılması iki yönden gereklidir; birincisi tanen ve renk pigmentleri gibi gerekli maddeler içermeleri dolayısıyla sürekli şırayla temas etmeleri gereği, diğeri de yüzeyde kaldıkları sürece havadaki oksijen ve bakteriden etkilenecek çürümeleri, şaraba sirke tadını vermeleridir.

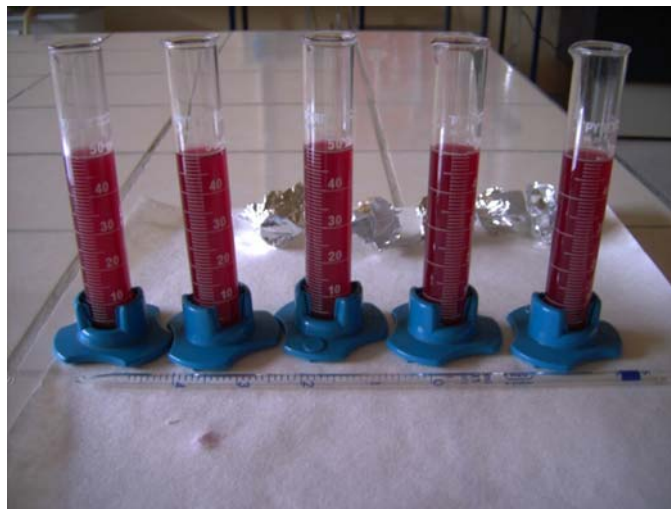
Mayşe fermentasyonu için belirlenen süre dolunca presleme ve ayırma işlemine geçilmiştir. Bunun için kurulan düzenekte bühner hunusu ve ipek (1/10000 cm² elek gözeneğine sahiptir) elekten yararlanılmıştır. Fermentasyon işlemi sürerken iki kez ham şarap süzülerek tortularından ayrılmış, dinlendirilmiş ve ön denemeyle belirlenen miktarda jelatin çözeltisi ile durultma işlemi yapılmıştır (Akman ve Yazıcıoğlu 1960). Şekil 6.4.'te durultma deneme çözeltisi hazırlanması gösterilmiştir.



Şekil 6.4. Durultma deneme çözeltisi hazırlanması

Presten elde edilen şırada ve sonraki genç şarap içerisinde, çeşitli irilikte meyve parçacıkları, kabuk parçacıkları, lifimsi parçacıklar, hücre ve hücre parçacıkları bulunur. Bunlar kaba dispers halde dağılmışlardır. Bu parçacıklar çökerek tabanda tortu yapma eğilimindedirler. Ancak meyve suyunda bulunan çeşitli koloidal maddeler bunların çöküp ayrılmasını engelleyerek, bulanıklığa neden olan parçacıkları askıda tutarlar. Buna göre presten gelen meyve suyu, kolloid polidispers bir sistem oluşturmuştur. Çoğunlukla (-) elektrik yüklü olan ve çoğu, etraflarında bir su mantosu taşıyan meyve suyu kolloidleri birbirlerini itmeleri yüzünden çökemedikleri gibi dispers haldeki diğer parçacıkların etrafını sararak onlara da (-) elektrik yük kazandırmak suretiyle onların da çökmelerini önlerler. Böylece meyve suyu kolloidlerinin, koruyucu kolloid görevi yaptıkları anlaşılmaktadır. Meyve suyunda (-) elektrik yük taşıyan kolloidlerin başında, pektin ve polifenoller gelir. Ancak termolabil bazı proteinler (+) elektrik yük taşırlar. Eğer meyve suyuna (+) yük taşıyan bir kolloid madde ilave edilirse, (-) yük taşıyan kolloidlerin çoğunun yükleri ortadan kalkarak çökülürler. Jelatin, meyve suyunda hakim olan pH derecelerinde (+) yüklü olduğundan, meyve suyuna bir jelatin çözeltisi ilave edilince, kolloid maddelerin yüklerinin nötralize olduğu ve çökme eğilimi kazandığı görülür(Cemeroğlu 1982).

100 mL şarap dolu mezürlere % 0,25'lik jelatin çözeltisinden farklı oranlarda eklenmiştir ve 24–48 saat beklenmiştir (Şekil 6.5).



Şekil 6.5. Jelatin durultma testi sonuçları

En iyi durultma 5 mL % 0,25'lik jelatin çözeltisinde (12,5 g/hL) elde edilmiştir. Bu test sonuçlarına göre şaraplar durultma ve filtrasyon uygulandıktan sonra şişelenerek 12 ay karanlıkta (14°C) dinlendirilmiştir.

6.3. Üzüm, Şıra ve Şarapta Uygulanan Analizler

Öküzgözü üzümde fiziksel özellikleri rastgele seçilen 200 taneden alınan 50 tane üzümün eni, boyu ölçülmüş 200 tanenin çekirdek sayısına bakılmış kabuk ve çekirdek ağırlıkları bulunmuş, bunlar kullanılarak pulp ağırlığı tespit edilmiştir “(Deryaoğlu ve Canbaş 2004; Deryaoğlu ve Canbaş 2003)”.

Şıralarda yoğunluk, pH, toplam asitlik tayini yapılmıştır. Ayrıca refraktif indeks kullanılarak şeker miktarı(g/L, g/kg) belirlenmiştir “(Anonim 2006; Mağden 1993; Ough ve Amerine 1988)”.

Şarapta indirgen şeker miktarı, alkol miktarı, toplam asitlik, pH derecesi, kükürt miktarı analizleri yapılmıştır“(Anonim 2006; Mağden 1993; Mağden 1990)”.

Üzümün kabuk ile çekirdeğinde, şıra ve şarapta toplam fenolik bileşen, toplam antosiyanin ve toplam flavanol miktarları belirlenmiştir. Toplam fenolik bileşen miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile spektrofotometrik olarak 750 nm de tayin edilmiş ve gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Hoff ve Singley 1977). Toplam antosiyanin miktarı, pH farklılığı yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak (pH=1 ve pH=4,5 için 520 nm ve 700 nm) tayin edilmiş ve üzümün ana antosiyanin bileşiği olan malvinidin-3-O-glukoziti cinsinden hesaplanmıştır “(Sellappan. ve Akoh 2002; Wrolstad ve ark.2005)”. Toplam flavanol miktarı, Vanilin-HCl metodu ile spektrofotometrik olarak 500 nm de tayin edilmiş, kateşin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Nakamura ve ark. 2003).

Antioksidan aktivite tayinleri DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl) serbest radikalinin süpürücü etkileri üzerinden belirlenmiştir (Sanchez-Moreno ve ark. 1998)

6.3.1. Üzüm, şıra ve şarapta genel analizler

6.3.1.1. Yoğunluk analizi

Şarap ve şıranın yoğunluk analizi 20°C’de dansitometre areometresi kullanılarak yapılmıştır (Mağden 1993).

6.3.1.2. pH analizi

Şarap ve şıranın pH ölçümü 20°C’de doğrudan Fischer Scientific accument model 10 pH metre ile belirlenmiştir. “(Mağden 1993;Anonim 2006; Aktan ve Kalkan 2000)’’.

6.3.1.3. Toplam asitlik (Bromtimol mavisi indikatörü ile titrasyon yöntemi)

Şaraplarda toplam asitlik derecesi bromtimol mavisi indikatörü eşliğinde titrasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Hesaplamalar aşağıdaki formüle göre yapılmıştır“(Mağden 1993; Anonim 2006)’’.

$$\text{Toplam Asit(g/L)}= 0,75 \times n \times F$$

n: Titrasyonda harcanan 0,1 N’lik NaOH çözeltisi miktarı (mL).

F: 0,1 N NaOH çözeltisinin faktörü .

6.3.1.4. Refraktif indeksle şeker ölçümü

Refraktif indeks 20°C’de ya mutlak bir değer olarak veya sakkaroz’un kütle yüzdesi ile ifade edilir. Üzüm şırasının şeker konsantrasyonunu g/L veya g/kg olarak belirlemek üzere refraktif indekse ve briks’e bağlı hazırlanmış tablolardan yararlanılır“(Mağden 1993; Anonim 2006; Aktan ve Kalkan 2000)’’.

Şarap ve şıranın % Briks değerleri 20°C’de Atago 1T dijital termometreli Abbe Refraktometresi okunmuştur. Şeker miktarı g/L ve g/kg olarak belirlenmiştir.

6.3.1.5. İndirgen şeker analizi

Şıra veya şarabın içerdiği şekerin büyük çoğunluğunu glikoz, fruktoz ve sakkoroz oluşturur. Bunlardan monosakkarit glikoz ve fruktoz indirgen şeker (invert şeker) olarak adlandırılır, indirgen şekerler alkali bakır tuzu çözeltisi ile doğrudan reaksiyona giderler ve litrede gram olarak ifade edilirler “(Mağden 1993; Anonim 2006; Aktan ve Kalkan 2000)”.

Nötr kurşun asetat ile kırmızı sek şaraplara uygun yapılan berraklaştırma işlemi yapılmıştır. Seyreltme yapılmadan direk olarak alınan 50ml sek şarap ölçü balonuna alınmış üzerine 2,5 ml. doymuş (Nötr) kurşun asetat çözeltisi (500 g/l'lik) ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra 0,5 g. CaCO₃ katılıp ve balon içeriği dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. Karışım 15 dk. bekletilip, ölçü balonu su ile 100mL.'ye tamamlanmıştır. Filtre kâğıdından süzölmüştür.

İndirgen şeker analizi Luff - Schoorl yöntemi kullanılarak yapılmıştır “(Mağden 1993)”. 10 mL örnek, 25 mL alkali bakır tuzu çözeltisi ve 15 mL su karışımı 10 dk geri soğutucu altında 10 dk kaynatılmış. Kaynama işleminden sonra soğuyan çözelti üzerine 10 mL (%30'luk, a/h) potasyum iyodür, 25 mL. %25'lik (a/h) sülfirik asit çözeltisi ve 2 ml nişasta (5 g/L) çözeltisi ilave edilmiş ve çözelti karışımı 0,1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile sarımsı-krem rengine kadar titre edilmiştir. İndirgen şeker miktarı harcanan çözelti miktarı üzerinden mg/L olarak hesaplanmıştır.

$$n' - n = a$$

n': Kör değer titrasyonunda harcanan 0,1 N Sodyum tiyosülfat çözeltisi miktarı (mL).

n: indirgen şeker titrasyonunda harcanan 0,1 N Sodyum tiyosülfat çözeltisi miktarı (mL).

a: Titrasyonlar arası 0,1 N Sodyum tiyosülfat çözeltisi miktar farkı (mL).

b: Titrasyonda kullanılan örnek içindeki indirgen şeker miktarı (mg).

$$b \times 0,2 = c$$

0,2: Berraklaştırma için faktör

c: İndirgen şeker miktarı (g/L)

6.3.1.6. Alkol (% hacim) derecesi tayini (Alkolometrik yöntem)

Şarap 250 ml'lik ölçü balonuna doldurulmuştur. Destilasyon balonuna 10 mL'lik 2N Ca(OH)₂ çözeltisi eklenmiş, içine kaynama taşları atılan destilasyon balonu elektrikli ısıtıcıya yerleştirilmiştir. Ölçü balonuna, örneğin %80'i (yaklaşık 200 mL) toplandığında destilasyon işlemine son verilmiştir

Alkolometre ile alkol ölçümü için destilat, cam silindire boşaltılmıştır. Alkolometrenin termometresinden sıcaklık okunmuştur, hemen ardından alkolometrenin üst kısmından alt okuma yapılarak, % hacim alkol derecesi okunmuştur. Sonuçların hesaplanırken; Mağden'in (1990), sıcaklık düzeltme tablosu kullanılarak örneğin 20°C'deki % hacim alkol derecesi bulunmuştur.

6.3.1.7. Toplam kükürt ve serbest kükürt miktar tayini (iyodometrik titrasyon yöntemi)

Toplam kükürt dioksit, şarapta serbest yada bileşenleri ile bağlı halde yer alan kükürt dioksitin her çeşitten formunun toplamıdır. Kükürt dioksit şarap veya şıradada bulunmayıp, koruyucu madde olarak katılır.

Serbest kükürt dioksit direk iyodometrik titrasyon ile tayin edilir. Bağlı kükürt dioksit ise daha sonra alkali hidrolizinden sonra da iyodometrik titrasyon ile tayin edilir. Serbest ve bağlı kükürt dioksit miktarlarının toplamı toplam kükürt dioksit miktarını verir “(Mağden 1993; Anonim 2006; Aktan ve Kalkan 2000)”.

Serbest kükürt dioksit titrasyonu için erlene 50 mL. şarap alınmış üzerine 5 mL Nişasta çözeltisi (5 g/L'lik) ve 5 ml. EDTA (6 g/l'lik) çözeltisi eklenmiştir. 3mL sülfirik asit çözeltisi (% 10'luk) ilave edildikten sonra iyot çözeltisi (0,02 N) ile mavi renge kadar titre edilmiştir. I. iyot titrasyonunda harcanan iyot çözeltisi miktarı (n) mL'dir. Sonuçların hesaplanmasında aşağıdaki formüllerden yararlanılmıştır.

$$\text{Serbest Kükürt Dioksit(mg/L)}=12,8 \times n \times F$$

n: Serbest kükürt dioksit titrasyonunda harcanan 0,02 N iyot çözeltisi miktarı (mL)

12,8: Kullanılan iyot çözeltisinin normalitesi ile ilgili değişken sayı

F: 0,02 N iyot çözeltisinin faktörü

Bağlı kükürt dioksit titrasyonu için erlene 8 mL sodyum hidroksit çözeltisi konulmuştur. Erlen içeriği, birkez çalkalandıktan sonra 5 dakika bekletilmiş ve yavaşça karıştırılarak 10 mL sülfirik asit çözeltisi (% 10'luk) eklenmiştir. Karıştırma işlemine erlen içindeki reaksiyon bitinceye kadar devam edilmiştir. İyot çözeltisi (0,02 N) ile hemen titrasyon yapılmıştır. Mavi renk gözlemlendiğinde, II. iyot titrasyonunda harcanan iyot çözeltisi miktarı (n') mL'dir.

Erlene 20 mL sodyum hidroksit çözeltisi eklenip, karıştırılmıştır. Erlen içeriği 5 dakika süreyle bekletilip, içerisine 200 mL buzlu su eklenmiştir. 30 mL sülfirik asit (% 10'luk) erlene aktarılmıştır. Serbest kükürt dioksit, iyot çözeltisi (0,02 N) ile hemen titre edilmiştir. Mavi rengin gözlemlendiği anda III. iyot titrasyonunda iyot çözeltisinden harcanan miktar (n'') mL olarak belirlenmiştir.

$$\text{Bağlı Kükürt Dioksit(mg/L)} = 12,8 \times (n' + n'') \times F$$

n' : II. iyot titrasyonunda harcanan 0,02 N iyot çözeltisi miktarı(mL)

n'' : III, iyot titrasyonunda harcanan 0,02 N iyot çözeltisi miktarı(mL)

12,8: Kullanılan iyot çözeltisinin normalitesi ile ilgili değişken sayı

F: 0,02 N iyot çözeltisinin faktörü

Son olarak serbest ve bağlı kükürt miktarları toplanarak ya da aşağıdaki formül kullanılarak toplam kükürt miktarı bulunmuştur.

$$\text{Toplam Kükürt Dioksit(mg/L)} = 12,8 \times (n + n' + n'') \times F$$

6.3.2. Üzüm, şıra ve şarapta toplam fenol, toplam antosiyanin ve toplam flavanol analizleri

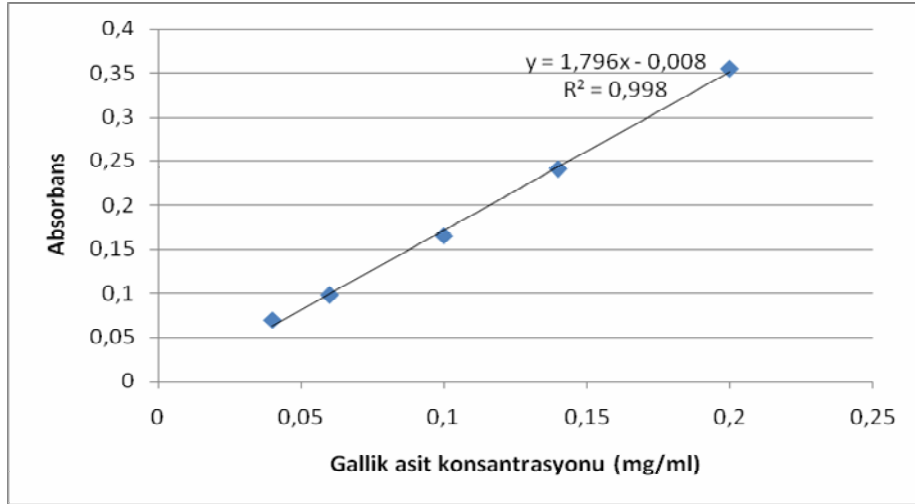
Üzüm kabuk ve çekirdekleri fenolik analizler için önceden hazırlanmıştır. Kabuklar üzümünden ayrılmış, kurutulup öğütülmüştür. 2,5 g. kabuk 25 mL %70'lik etanol ile 50°C'de 2 saat su banyosunda ekstre edilmiş, etanol daha sonra uzaklaştırılmıştır. Numune liyofilize edilerek saklanmıştır.

Çekirdekler üzümünden ayrılmış, kurutulup öğütülmüştür. 5 g.çekirdek 50 mL.%50'lik etanol ile oda sıcaklığında 24 saat masere edilerek, yağından arındırılmış çözücü döner buharlaştırıcı ile geri kazanılmıştır. Numune liyofilize edilerek saklanmıştır.

6.3.2.1. Toplam fenol tayini

Örneklerin içermiş olduğu toplam fenolik bileşen miktarları Folin Ciocoltaeu yöntemi “(Hoff ve Singleton 1977)” ile spektrofotometrik olarak gallik asit (GA) eşdeğeri üzerinden (g GAE/L) tayin edilmiştir.

0,1 ml örnek çözeltisi, 0,5 mL Folin-Ciocalteu (%10) (Sigma) çözeltisi ve 1,5 mL Na₂CO₃ (%20) çözeltisi ile vortex de karıştırıldıktan sonra 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve UV-Vis spektrofotometrede (SP-3000 Plus Model 50-60Hz, Optima) 750 nm de absorbans değerleri okunmuştur. Gallik asit kalibrasyon eğrisi üzerinden (Şekil 6.6.) mg toplam fenol (GA eşdeğeri)/ g kuru madde miktarları hesaplanmış, örneklerin birim hacimdeki kuru madde miktarları kullanılarak da g toplam fenol/ L şarap değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 6.6. Gallik asit konsantrasyonu-absorbans kalibrasyon eğrisi

6.3.2.2. Toplam antosiyanin tayini

Örneklerin içermiş olduğu toplam antosiyanin miktarları pH farklılığı yöntemi ile spektrofotometrik olarak malvinidin-3-glukozit (Mvd-3-glu) eşdeğeri üzerinden (mg Mvd-3-O-glu/ g ekstre) tayin edilmiştir “(Wrolstad ve ark.2005)”.

Liyofilize numunelerden 3 mg deney tüplerine alınmış üzerine 1mL distile su ilave edilmiştir. Tüpler önce vortekslenmiş sonrada sonik banyoda 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra dakikada 5 bin devirle santrifüjde 5 dakika santrifüjlenmiştir. Hazırlanan numunelerden dört tüpe 0,2ml aktarılmıştır.

Örneklerden bir çiftin üzerine 1,3 mL pH = 1 tamponu (0,025M KCl) diğerine de yine 1,3 mL pH = 4,5 tamponu (0,4M NaCH₃COO.3H₂O) ilave edilmiş ve 45'dk oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilmiştir. Spektrofotometrede her bir çözeltinin önce 520nm'de sonrada 700nm'de absorbans değeri okunmuştur. Kör olarak distile su kullanılmıştır. Hesaplamalarda aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır. Toplam antosiyanin miktarı gram ekstrede mg Mvd-3-O-glu'e eşdeğer olacak şekilde hesaplanmış, daha sonra kurumadde miktarları kullanılarak sonuçlar birim hacimdeki g Mvd-3-O-glu eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Wrolstad ve ark.2005).

$$\Delta\text{Absorbans} = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}$$

$$\text{Toplam antosiyanin (mg/L)} = (\Delta A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times l)$$

MW; Mvd-3-O-glu molekül ağırlığı (495,5 g/gmol)

DF; Seyreltme faktörü

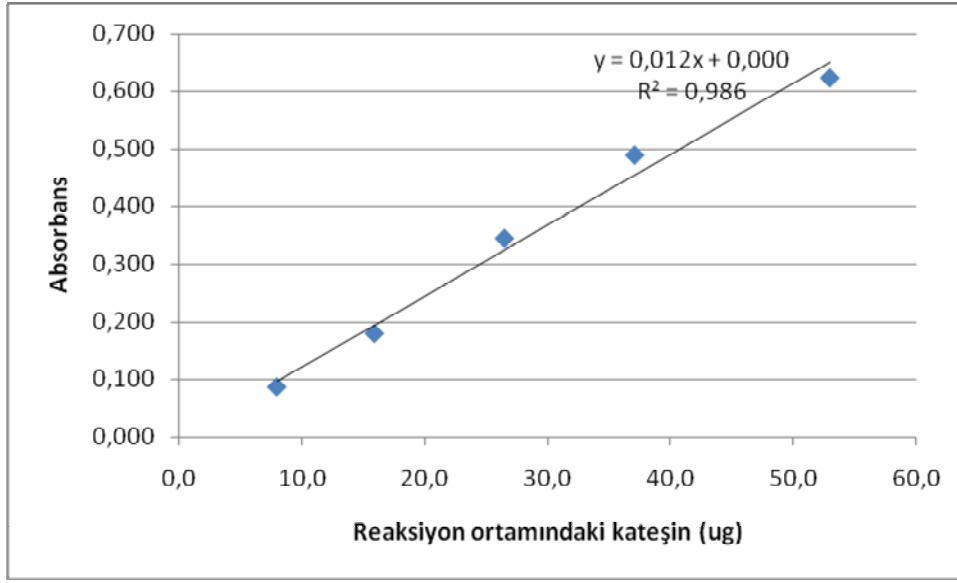
ΔA ; Absorbans farkı (uygulanan yöntemeye göre pH =1 ve pH =4,5 değerlerinde ölçülen absorbans farkı)

ϵ ; molar absorbans (28000)

6.3.2.3. Toplam flavanol analizi

Toplam flavanol miktarı vanilin-HCl metodu ile spektrofotometrik olarak 500 nm de tayin edilmiş, (+) kateşin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Nakamura ve ark. 2003).

Liyofilize numunelerden 3mg deney tüplerine alınmış üzerine 5 mL MeOH ilave edilmiştir. Tüpteki karışım önce çözündürülmüştür. 1.paralel de örnek çözelti için deney tüpüne 0,15 mL MeOH üzerine tekrar 1,5 mL MeOH ve 0,75mL konsantre HCl (%37'lik) ve hazırlanmış numuneden 0,1ml ilave edilmiştir. Diğer 3 paralel için deney tüpüne 150 µL MeOH alınmış üzerine taze hazırlanmış 1,5 mL %4'lük vanilin çözeltisinden ve 750 µL konsantre HCL son olarak 100 µL numuneden eklenmiştir. Daha sonra bütün paraleller çalkalamalı su banyosunda 30°C'da 15 dakika bekletilmiş ve 500 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Kör olarak distile su kullanılmıştır. Sonuçlar (+)-kateşin kalibrasyon eğrisi (Şekil 6.7) kullanılarak kateşin eşdeğeri üzerinden hesaplanmıştır.



Şekil 6.7. Kateşin konsantrasyon-absorbans kalibrasyon eğrisi

6.3.3. DPPH serbest radikal süpürücü aktivite tayini

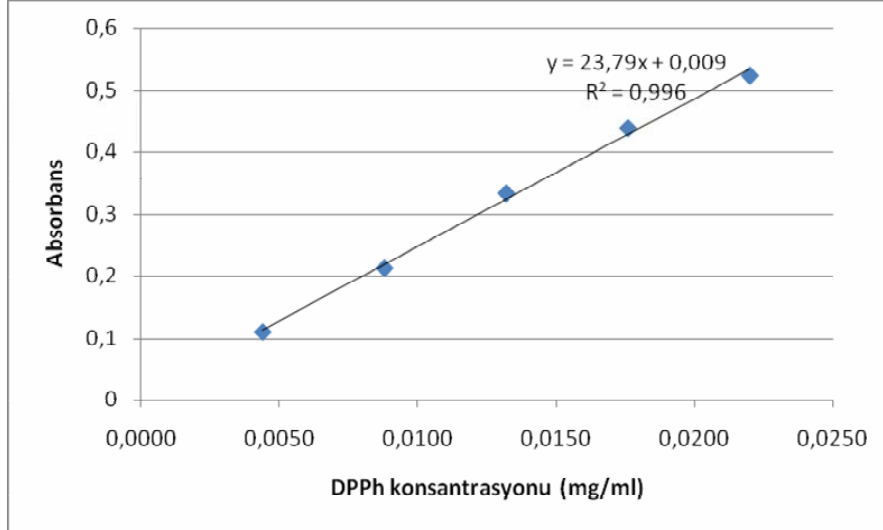
Örneklerin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) üzerindeki serbest radikal süpürücü etkileri Sanchez-Moreno metoduna (1998) göre yapılmıştır. 0,5 mL MeOH içerisinde hazırlanmış örnek çözeltisi (reaksiyon ortamındaki örnek konsantrasyonu 4×10^{-3} mg/mL) üzerine 3 mL MeOHde hazırlanmış DPPH (2×10^{-2} g/L) çözeltisi ilave edilerek karıştırılmış ve oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra 517 nm de spektrofotometrede absorbansı okunmuştur. Kör olarak MeOH kullanılmıştır. $1,08 \times 10^{-3}$ ve $2,16 \times 10^{-2}$ g/L konsantrasyon aralığında DPPH standartı kullanılarak hazırlanmış olan aşağıdaki kalibrasyon denklemi kullanılarak (Şekil 6.8) reaksiyon ortamındaki DPPH konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$) hesaplanmıştır.

$$A_{517\text{nm}} = 23,79(\text{DPPH})_t + 0,009 \quad (R^2 = 0,996)$$

30 dakika sonucunda reaksiyon ortamında kalan DPPH miktarı ise aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ DPPH}_{\text{kalan}} = (\text{DPPH})_{t=30} / (\text{DPPH})_{t=0} \times 100$$

Sonuçlar DPPH'nin %50'sinin süpürüldüğü (inhibe edildiği) konsantrasyon (EC₅₀ µg/mL) cinsinden verilmiştir.



Şekil 6.8. DPPH konsantrasyon-absorbans kalibrasyon eğrisi

6.3.4. Şarapta Fenolik asit, Flavanol ve Antosiyaninlerin YBSK ile Analizi

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle fenolik bileşiklerin tayini Agilent Technologies 1100 cihazında multidalga dedektörü kullanılarak yapılmıştır. Örnekler otomatik enjeksiyonla 25 µL uygulanmıştır. Ayrımlar ters faz C₁₈ kolonda (Teknorama) gerçekleştirilmiştir. Çözücü A; asetik asit: su (2:98) (h/h) ve çözücü B; asetonitril:su:asetik asit (80:18:2) (h/h/h) gradient sistemi fenolik asitler ve flavanollar için hareketli faz olarak kullanılmıştır. Gradient programı 0 dan % 2 B ye 2 dakikada, % 2'den % 10 B' ye 5 dakikada, % 10' dan % 30 B ye 25 dakikada, % 30 dan % 50 B ye 35 dakikada, % 50 den % 60 B ye 40 dakikada, % 60' dan % 90 B ye 45 dakikada artırılmış ve 2 dakikada başlangıç konsantrasyonuna dönmüştür.

Antosiyaninler için ise çözücü A; MeOH:su (10:90) (h/h) ve çözücü B; MeOH (h) hazırlanarak bu gradient sistem hareketli faz olarak kullanılmıştır. Gradient programı %0' dan % 0 B ye 5 dakikada, % 0' dan % 20' B ye 15

dakikada, % 20' den % 20 B' ye 20 dakikada, % 20' den %50 B ye 30 dakikada, % 50 dan % 90 B ye 32 dakikada, % 90' dan % 90 B' ye 38 dakikada artırılmış, % 90' dan %0 B ye 39 dakikada başlangıç konsantrasyonuna dönmüş,% 0' dan %0 B ye 42 dakikada işlem tamamlanmıştır. Her iki analizde de 1mL/dk'lık kolon akış hızı kullanılmıştır ve 280 nm (fenolik asit ve flavanol) ve 520 nm (antosiyeninler)'lerde ölçüm alınmıştır. Ayrılan bileşikler ticari olarak sağlanan standart maddeler kullanılarak ve UV spektrumları değerlendirilerek belirlenmiştir. Fenolik asit ve flavanollerin miktar tayinleri her bir bileşen standardının kalibrasyon eşitliği üzerinden, antosiyeninler ise malvinidin ve malvinidin-3-glukozit standardı kalibrasyon eşitliği üzerinden hesaplanmıştır.

6.3.5. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan istatistiksel analizler

Şarap üretiminin her basamağından paralel olarak ikişer numune alınmış, bu numunelerde yapılan analizlerin sonuçları tablolarda aksi belirtilmediği sürece üç deneyin ortalaması±standart sapma değerleri olarak verilmiştir. Yöntemlerin ve uygulanan proseslerin karşılaştırılmasında alınan veriler, Statgraphics 3.1 istatistik programı kullanılarak tekyönlü ANOVA testine tabi tutulmuş ve gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılık testleri, $\alpha=0,95$ güven aralığında Least Significant Differences (En küçük anlamlı fark) testi uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

7. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

7.1. Şarap Üretiminde Kullanılan Hammaddenin Fiziksel ve Kimyasal Analizleri

Farklı yöntemlerle şarap üretmek amacıyla Kırklareli bölgesinden sağlanan Öküzgözü üzümünün bölüm 6.3.1’de açıklanan yöntemlerle fiziksel analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Çizelge 7.1’de verilmiştir.

Çizelge 7.1. Üzümün fiziksel analiz sonuçları

200 tane ağırlığı (g)	1185
En (ort., cm)	1,8
Boy (ort , cm)	2,18
Çekirdek sayısı (200 tanede)	432
Kabuk (%)	7,8
Çekirdek(%)	2,3
Pulp (%)	88,1

Tane büyüklüğü ve ağırlığı çeşitlere göre değişmekte ve iklim, uygulanan yetiştirme tekniği ve tanedeki çekirdeğin sayısı tane büyüklüğünü ve ağırlığını etkilemektedir. Genel olarak üzümlerde 2 çekirdek bulunur ve bununla beraber aynı salkımın tanelerinde bile çekirdek sayısı değişebilir. Canbaş ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Öküzgözü çeşidinde pulp miktarı %86,9 ve %89,9 olarak belirlenmiştir. Bu değerlere göre Öküzgözü çeşidinin pulp miktarı oldukça yüksektir. Pulp miktarının yüksek olması şıra verimi bakımından olumlu bir özelliktir “(Deryaoğlu ve Canbaş 2003; Çelik 2002; Montealegre 2006)”.

Üzümde tane ağırlığını içindeki çekirdek sayısı da etkilemektedir. Üzümlerde 100 tane ağırlığı bağ bozumundan birkaç gün önce en yüksek olmaktadır. Tane irileştikçe kabuk/meyve içi oranı düşmekte bu nedenle iri taneli üzümlerde, kabukta bulunan renk tat ve aroma maddeleri göreceli olarak azalmaktadır (Tangolar ve ark 1996).

Üzüm kabuk, çekirdeğinde bölüm 6.3.2’de açıklanan yöntemlerle gerçekleştirilen toplam fenolik bileşen, flavanol ve antosiyaninlerin analiz sonuçları Çizelge 7.2.’de verilmiştir.

Çizelge 7.2. Üzüm kabuk ve çekirdeğinde toplam fenolik bileşen, antosiyanin ve flavanol miktarları*

Bileşen	Kabuk	Çekirdek
Toplam Fenol (g GAE/100g)	0,48	2,20
Toplam Antosiyanin (mg Mvd-3-O-glu/100g)	7,80	3,93
Toplam Flavanol (g kateşin/100g)	0,16	7,44

*Değerler 100 g yaş hammadde üzerinden verilmiştir.

Beklendiği üzere üzüm çekirdeğinin toplam fenolik bileşenler ve flavanoller, kabuğunun ise toplam antosiyaninler açısından zengin olduğu görülmüştür. Çekirdek ve kabuğun birlikte kullanıldığı cibre fermentasyonunda fenolik bileşiklerin ve flavanollerin’in büyük bir kısmı çekirdekten, sadece kabuğun kullanıldığı çekirdeksiz fermentasyonda antosiyaninlerin büyük bir kısmı da kabuktan elde edilmektedir.

7.2. Şıra Analiz Sonuçları

Öküzgözü üzümünün ezilmesiyle elde edilen şıranın asitlik, pH, şeker miktarı ve toplam fenolik bileşen içeriği Çizelge 7.3 ‘te verilmiştir.

Üretimde kullanılan şıranın başlangıç pH değeri 3,32, Briks değerinin % 15,5 olduğu görülmüştür. Fermantasyonda önemli bir etken, fermantasyon sıvısının pH’ı yani asitlik durumudur. Mayalar çoğunlukla zayıf asit ortamda gelişip, faaliyet gösterirler. Çok düşük (pH=2,8’in altında) ve yüksek pH’larda olumsuz etkilenirler. Cibre fermantasyonunun sağlanabilmesi için başlangıç şırasındaki pH = 3,32 değeri bunun için uygun olmuştur.

Şırada bulunan fenolik bileşenlerin miktarları üzümüne kıyasla çok düşük bulunmuştur. Şarabın rengi (antosiyanin) cibre fermentasyonunda kabuklardan, polifenolik içeriği de çekirdekten gelmektedir.

Çizelge 7.3. Şıra analiz sonuçları

pH	3,32
Toplam asitlik (g/L)	7,83
Yoğunluk (g/L)	1083
Briks (%)	15,50
Refraktif indeks (20° C)	1,3564
Kütle yoğunluğu(20° C)	1,0620
Şeker miktarı (g/L)	141,6
Şeker miktarı (g/kg)	133,4
Toplam fenol (g GAE/L)	0,12
Toplam antosiyanin (g Mvd-3-O-glu/L)	0,002
Toplam flavanol (g kateşin/L)	0,008

Karbon dioksit, alkol ve pH değerlerindeki değişimler veya ısı gibi dış koşullar nedeniyle kabuk hücrelerinin daha geçirgen hale gelerek renk maddeleri geçişinde artış sağladığı gözlenmiştir (Yücel,1992). Farklı üretim yöntemleriyle üretilen şaraplarda bu değişimin nasıl gelişeceğini belirlemek amacıyla şırada pH değeri ölçülmüştür.

Üzümde olgunluk ilerledikçe şeker miktarı artar, buna karşılık asit düşer. Ülkemiz iklim şartlarına bağlı olarak şaraplık üzümlerimizde şeker miktarı yüksek, asit ise nispeten azdır (Avcı 2004). Üzüm tanesinde kabuğa yakın kısımlarda şeker oranı yüksek, asitlik düşüktür. Bu nedenle preslemede önce akan şıra, sonraki akan şıraya göre şekerce daha zengindir “(Telli 2000; Deryaoğlu ve Canbaş 2004; Deryaoğlu ve Canbaş 2003)”.

Başlangıç şırasının yoğunluğunun belirlenmesiyle daha sonraki parçalanmış üzümlerin cibre fermantasyonu sonrası sıcaklıkla nasıl etkilendiğini göstermek hedeflenmiştir. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda çözünür kuru

madde miktarında olan değişimlerin izlenebilmesi için başlangıç şıra briks değeri belirlenmiştir.

7.3. Ham ve Olgunlaşmış şarapta Fiziksel Analiz Sonuçları

Cibre fermantasyonu sonrası alınan ham şarap numunelerinde bölüm 6.3.1’de açıklandığı gibi yapılan analiz sonuçları izelge 7.4’te verilmiştir.

Fermantasyonda önemli bir etken, fermantasyon sıvısının pH’sı yani asitlik durumudur. Mayalar çoğunlukla zayıf asit ortamda gelişip, faaliyet gösterirler. Çok düşük (pH=2,8’in altında) ve yüksek pH’larda olumsuz etkilenirler. Cibre fermantasyonunun sağlanabilmesi için başlangıç şırasındaki pH 3,32 değeri bunun için uygun olmuştur. Ancak cibre fermantasyonu sonrası farklı üretim yöntemleri arasında pH değerleri birbirine çok yakın değerler göstermişlerdir (Yücel 1992).

Çizelge 7.4. Ham şarap genel analiz sonuçları

Numune	pH	Toplam asitlik (g/L)	Yoğunluk (20/20 C) (g/L)	Briks (%)	Refraktif indeks (20 C)
D	3,43	6,2	1010	9,0	1,346
D	3,51	6,93	1011	8,5	1,345
K	3,62	7,42	1003	7,0	1,341
K	3,53	6,46	1003	7,0	1,343
E	3,50	7,51	1004	5,8	1,341
E	3,45	7,83	1001	5,7	1,341
SM	3,52	7,83	1002	6,0	1,342
SM	3,46	7,18	1001	5,0	1,340

D; Doğal fermantasyon prosesi çekirdekli retim, D; Doğal fermantasyon prosesi çekirdeksiz retim, K; Klasik fermantasyon prosesi çekirdekli retim K; Klasik fermantasyon prosesi çekirdeksiz retim E; Enzim ilaveli fermantasyon prosesi çekirdekli retim E; Enzim ilaveli fermantasyon prosesi ekirdeksiz retim, SM; Sıcak maserasyon prosesi çekirdekli retim, SM; Sıcak maserasyon prosesi çekirdekli retim

Cibre fermantasyonu sonrası yoğunluk ve briks için şıra değerlerinden oldukça farklı değerlere ulaşmıştır. Özellikle sıcak maserasyon uygulaması

yapılan çalışmada sıcaklığa bağlı olarak şekerler daha hızlı parçalanmışlardır. Mayşenin enzimatik fermentasyonu için kullanılan pektolitik enzimde dokudaki pektini parçalayarak, bir taraftan randımanı artırmış diğer taraftan hızla yoğunluğun ve briksin azalmasında da etkili olmuştur “(Cemeroğlu ve Acar 1986; Parley 1997)”. Doğal ve klasik fermantasyon yöntemlerinin uygulandığı numunelerde yoğunluk ve briks değişimi daha az gerçekleşmiş, en yavaş değişim Doğal fermantasyon yönteminde gözlenmiştir.

Şaraplar cibre fermantasyonu sonrası öncelikle preslenerek cibrelerinden ayrılmış daha sonra da anaerobik ortamda alkol fermantasyonuna uğratılmıştır. CO₂ çıkışı takip edilerek CO₂ çıkışının tamamlandığı dönemde (7. gün) farklı yöntemlerle üretilen şaraplar tortularından ayrılmış ve kükürtlenmiştir. 14 gün dinlendirildikten sonra ikinci aktarma ve durultma amaçlı jelatin ilavesi gerçekleştirilmiştir. Durultma işlemi 10 gün sürdürülmüş ve 2 gün soğukta saklanarak şaraplar filtre edilip şişelenmiştir. Şarapların şişelenmeden önceki genel analiz sonuçları Çizelge 7.5.’te verilmiştir.

Uygulanan işlemler enzim ilaveli şaraplarda ve sıcak masere uygulanmış şaraplarda büyük bir değişim yapmazken Doğal ve klasik fermantasyon yöntemleriyle üretilen şaraplarda dengeye ancak ulaşmıştır.

Üzüm sırasında bulunan asitler fermantasyon işlemi için engelleyici değildir. Bunlar yabancı mikroorganizmaları devre dışı bırakarak fermantasyonunun sağlıklı olmasını da sağlar. Ancak 30 g/L asitten fazla bir asit miktarı olduğu durumlarda fermantasyon etkilenir (tartarik ve malik asit olarak).

Şaraplar 12 ay olgunlaştırıldıktan sonra bölüm 7.1.de açıklandığı gibi yapılan indirgen şeker, alkol ve kükürt analiz sonuçları Çizelge 7.6.’da verilmiştir.

Alkol fermantasyonunda kullanılan maya suşu mayşenin fermantasyonunu, şarabın bileşimini ve tipini etkilemektedir. Kullanılacak maya ve maya miktarı mayşede bulunan şekerleri fermente etme ve alkole dönüştüreme yeteneğinde olmalı, ayrıca fermantasyonu istenilen süre içinde bitirebilmelidir “(Aktan ve Kalkan 2000; Avcı 2004)”.

Kükürtün elementer halde fermantasyonu durdurma riski nedeniyle potasyum metabisülfid kullanılmıştır. Potasyum metabisülfid ortamdaki tartarik asit varlığında şarap taşı ve kükürt dioksit oluşmasına yardımcı olacaktır.

Çizelge 7.5. Şarapların şişelenmeden önceki genel analiz sonuçları

Numune	pH	Toplam asitlik (g/L)	Yoğunluk (20/20 °C) (g/L)	°Briks (%)	Refraktif indeks (20 °C)
D	3,12	7,80	1005	5,0	1,341
DÇ	3,26	7,20	995	5,0	1,341
K	3,30	6,42	995	5,0	1,341
KÇ	3,21	6,30	996	5,0	1,342
E	3,33	6,68	994	5,5	1,341
EÇ	3,25	6,72	995	5,0	1,341
SM	3,24	6,94	995	5,5	1,342
SMÇ	3,15	7,18	996	5,0	1,340

D; Doğal fermantasyon prosesi çekirdekli üretim, DÇ; Doğal fermantasyon prosesi çekirdeksiz üretim, K; Klasik fermantasyon prosesi çekirdekli üretim KÇ; Klasik fermantasyon prosesi çekirdeksiz üretim E; Enzim ilaveli fermantasyon prosesi çekirdekli üretim EÇ; Enzim ilaveli fermantasyon prosesi çekirdeksiz üretim, SM; Sıcak maserasyon prosesi çekirdekli üretim, SMÇ; Sıcak maserasyon prosesi çekirdekli üretim

Kükürtleme öncelikle istenmeyen maya, küf ve bakteri faaliyetine karşı etkin bir madde olarak kullanılmıştır. Buna karşın Doğal yöntemle şarap üretiminde başlangıç aşamasında yöntem gereği kükürtleme yapılmamış sonuç elde edilen üründe yabancı maya ya da diğer mikroorganizmalar nedeniyle alkol gelişimi sağlanamamıştır (Anlı 2004).

Kırmızı şaraptaki asetaldehit ve SO₂ etkisi birbirine bağlıdır ve bunlarda antosiyanini etkiler. Şaraptaki artan SO₂ miktarı pigment ve prosiyanidinlerin polimerizasyonunu yavaşlatır “(Bakker 1986; Dallas ve Laureano 1994)”.

SO₂ şırayı ve şarabı enzimatik esmerleşmeye karşı korur. Bekletme sırasında yavaş bir şekilde havaya karışması kısmen enzimatik olmayan esmerlemeyi de önler. Malolaktik fermantasyonun önlenmesine yardımcı olur “(Aktan ve Kalkan 2000; Güven 2003; Şahin 1995)”.

Çizelge 7.6. Şarapların bazı bileşim özellikleri

Numune	İndirgen şeker (g/L)	Alkol miktarı % (h/h)	Toplam SO ₂ miktarı (mg/L)	Serbest SO ₂ miktarı (mg/L)
D	1,36	5,0	52	14
DÇ	1,32	10,0	55	13
K	1,48	9,9	78	33
KÇ	1,52	9,9	79	34
E	1,27	9,5	68	20
EÇ	1,15	9,0	72	25
SM	1,44	11,0	88	15
SMÇ	1,33	10,0	79	36

D; Doğal fermantasyon prosesi çekirdekli üretim, DÇ; Doğal fermantasyon prosesi çekirdeksiz üretim, K; Klasik fermantasyon prosesi çekirdekli üretim KÇ; Klasik fermantasyon prosesi çekirdeksiz üretim E; Enzim ilaveli fermantasyon prosesi çekirdekli üretim EÇ; Enzim ilaveli fermantasyon prosesi çekirdeksiz üretim, SM; Sıcak maserasyon prosesi çekirdekli üretim, SMÇ; Sıcak maserasyon prosesi çekirdekli üretim

7.4. Şarap Üretiminde Uygulanan Proseslerin Fenolik Bileşen Miktarı ve Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi

Bu bölümde farklı fermantasyon yöntemleriyle üretilen şaraplarda uygulanan proseslerin fenolik bileşen miktarına ve antioksidan aktivite üzerine etkileri ayrı ayrı açıklanacaktır.

7.4.1. Doğal fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda uygulanan proseslerin fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerine etkisi

Doğal fermantasyon (Şekil 6.2) yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin (cibre fermentasyonu, alkol fermentasyonu, dinlendirme, durultma ve olgunlaştırma) fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerine etkisi Çizelge 7.7.'de verilmiştir. Analizler ilgili proseslerin tamamlandığı evrelerde alınan şarapta yapılmıştır.

Çizelge 7.7. Doğal fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin toplam fenolik bileşen, toplam antosiyanin, toplam flavanol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi (a) çekirdekli, (b) çekirdeksiz üretim

a) Proses (Çekirdekli)	Toplam fenol (g GAE/L)	Toplam flavanol (g kateşin/L)	Toplam Antosiyanin (gMvd-3-o-glu /L)	DPPH (EC50,µg/ml)
Cibre ferm.	1,49±0,03 ^b	1,62±0,30 ^b	0,120±0,017 ^c	58,52±5,70 ^c
Alkol ferm.	1,89±0,11 ^c	1,52±0,25 ^b	0,138±0,006 ^c	50,29±2,81 ^b
Dinlendirme	1,24±0,05 ^a	1,57±0,38 ^b	0,044±0,011 ^b	40,87±1,17 ^a
Durultma	1,39±0,03 ^b	0,80±0,24 ^a	0,036±0,001 ^{ab}	64,69±3,42 ^c
Olgunlaştırma (3. ay)	1,41±0,13 ^b	0,76±0,17 ^a	0,036±0,020 ^a	47,69±3,62 ^b

*Aynı kolonda aynı harfle işaretli ortalama değerler arasında (p<0,05) fark yoktur

b) Proses (Çekirdeksiz)	Toplam fenol (g GAE/L)	Toplam flavanol (g kateşin/L)	Toplam Antosiyanin (g Mvd-3-o-glu/L)	DPPH (EC50,µg/ml)
Cibre ferm.	1,07±0,04 ^b	0,90±0,39 ^b	0,140±0,0161 ^c	87,24±6,70 ^{cd}
Alkol ferm.	1,28±0,12 ^c	1,02±0,46 ^b	0,210±0,037 ^d	83,04±5,02 ^{bc}
Dinlendirme	1,06±0,04 ^b	1,32±0,09 ^b	0,093±0,008 ^b	72,63±0,57 ^b
Durultma	1,00±0,04 ^b	0,81±0,00 ^{ab}	0,038±0,000 ^a	97,29±1,33 ^d
Olgunlaştırma (3. ay)	0,82±0,03 ^a	0,10±0,07 ^a	0,041±0,039 ^a	56,04±4,78 ^a

*Aynı kolonda aynı harfle işaretli ortalama değerler arasında (p<0,05) fark yoktur

Toplam fenolik bileşen miktarı çekirdekli cibre fermentasyonunda beklendiği üzere çekirdeksiz fermentasyona göre daha fazla bulunmuştur. Uygulanan proseslerden cibre fermantasyonu, durultma ve olgunlaştırma basamaklarında toplam fenolik bileşen miktarında da bir fark gözlenmezken (p<0,05), alkol fermantasyonu en yüksek (1,89 g GAE/L) içeriğine sahip olmuştur. Ancak takip eden dinlendirme evresi ise en düşük değer görüldüğü (1,24 g GAE/L) prosesdir. Uygulamada çekirdeksiz olarak yapılan Doğal fermantasyonda benzer bir gelişim görülmüş, en yüksek değeri alkol

fermantasyonu işleminde 1,28 GAE/L, en düşük değeri ise olgunlaştırma 0,82 g GAE/L göstermiştir. Doğal -çekirdekli fermentasyonla üretimde toplam flavanol miktarında, cibre ve alkol fermentasyonları ile dinlendirme işlemleri arasında, bir fark gözlenmezken ($p < 0,05$), en yüksek toplam flavanol içeriği (1,62 g kateşin/L) cibre fermentasyonu işlemiyle, en düşük değer 0,76 g kateşin/L, durultma ile arasında bir fark ($p < 0,05$) olmayan olgunlaştırma işleminde elde edilmiştir. Çekirdeksiz üretim yapılan Doğal fermentasyonda toplam flavanol içeriği en önemli farklılığı ve en düşük değeri 0,1 g kateşin/L ile olgunlaştırma işleminde vermiştir. Toplam antosiyanin içeriğinde hem çekirdekli hem de çekirdeksiz fermentasyonla üretilen şaraplarda birbirini izleyen proseslerde hızla bir düşüş görülmüştür. DPPH serbest radikalini %50 sini süpürme konsantrasyonu olan, EC_{50} değerinin düşük olması, antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Toplam fenolik bileşen miktarında genelde olgunlaşma basamağına kadar anlamlı bir düzeyde düşüş görülürken, şarapların DPPH serbest radikalini süpürücü aktivitesi olgunlaşma basamağında en yüksek değere ulaşmıştır. Çekirdekli fermentasyon ile üretilen şarapların antioksidan aktivitesinin çekirdeksize göre daha fazla olduğu görülmektedir.

7.4.2. Klasik fermentasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerine etkisi

Şekil 6.2. de verilen şarap üretim akım şemasından da görülebileceği gibi, klasik fermentasyonun Doğal fermentasyondan farkı, üzümde bulunan farklı mikroorganizmaların gelişimini önlemek için başkangıçta SO_2 ilavesi ve fermentasyonda maya kullanılmasıdır. Olgun şarap üretimine kadar diğer basamaklar aynı olup klasik fermentasyonda elde edilen sonuçlar Çizelge 7.8'de verilmiştir.

Toplam fenolik bileşenlerin miktarında alkol fermentasyonu, dinlendirme ve durultma işlemleri arasında, cibre fermentasyonu ve olgunlaştırma prosesleri arasında önemli bir fark belirlenemezken 2,61g GAE/L ile cibre fermentasyonunda en yüksek değere ulaşılmıştır. Yöntemin çekirdeksiz uygulamasında tüm değerler, çekirdekli uygulamada olanlardan daha düşüktür. Genel olarak toplam fenolik bileşen değişimi de benzer biçimdedir.

Çizelge 7.8. Klasik fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin toplam fenolik bileşen, toplam antosiyanin, toplam flavanol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi (a) çekirdekli, (b) çekirdeksiz üretim

a) Proses (Çekirdekli)	Toplam fenol (g GAE/L)	Toplam flavanol (g kateşin/L)	Toplam Antosiyanin (g Mvd-3-o-glu/L)	DPPH (EC50,µg/ml)
Cibre ferm.	2,61±0,15 ^b	2,47±0,24 ^c	0,155±0,003 ^d	57,79±2,74 ^b
Alkol ferm.	1,70±0,11 ^a	1,11±0,77 ^a	0,036±0,007 ^{ab}	45,69±0,98 ^a
Dinlendirme	1,97±0,18 ^a	1,48±0,18 ^{ab}	0,053±0,006 ^c	58,16±5,93 ^b
Durultma	1,68±0,05 ^a	1,91±0,34 ^{abc}	0,044±0,000 ^{bc}	53,72±1,03 ^b
Olgunlaştırma	2,51±0,26 ^b	1,98±0,24 ^{bc}	0,0267±0,024 ^a	54,48±1,58 ^b

*Aynı kolonda aynı harfle işaretli ortalama değerler arasında (p<0,05) fark yoktur

b) Proses (Çekirdeksiz)	Toplam fenol (g GAE/L)	Toplam flavanol (g kateşin/L)	Toplam Antosiyanin (g Mvd-3-o-glu/L)	DPPH (EC50,µg/ml)
Cibre ferm.	1,70±0,09 ^b	1,20±0,09 ^{bc}	0,184±0,021 ^c	87,35±7,78 ^b
Alkol ferm.	1,05±0,05 ^a	1,22±0,10 ^c	0,087±0,000 ^b	94,67±7,03 ^b
Dinlendirme	1,12±0,14 ^a	1,04±0,29 ^{bc}	0,037±0,004 ^a	123,82±0,48 ^c
Durultma	1,02±0,06 ^a	0,77±0,08 ^{ab}	0,043±0,005 ^a	93,24±5,13 ^b
Olgunlaştırma	1,71±0,17 ^b	0,44±0,41 ^a	0,039±0,038 ^a	76,06±6,94 ^a

*Aynı kolonda aynı harfle işaretli ortalama değerler arasında (p<0,05) fark yoktur

Toplam flavanol değeri klasik fermantasyon yönteminde cibre fermantasyonunda en yüksek değere (2,47 g kateşin/L) sahip olsa da durultma ve olgunlaştırma prosesleri birbirleriyle ve cibre fermantasyonu ile aralarında önemli bir fark görülmemektedir. Alkol fermantasyonu prosesi 1,1 g kateşin/L değerine düşmüş ve diğer proseslere nazaran önemli bir fark (p>0,05) göstermiştir. Klasik fermantasyonun çekirdeksiz üretiminde cibre, alkol fermantasyonları ve dinlendirme prosesleri arasında istatistiksel açıdan çok önemli bir fark bulunmamıştır. En düşük değere olgunlaştırma prosesinde 0,44 g kateşin/L, maksimum değere ise 1,22 g kateşin/L ile alkol fermantasyonunda ulaşılmıştır. Toplam antosiyanin beklendiği gibi çekirdeksizlerde her prosesinde daha fazla

bulunmuştur. Çekirdekli üretimde proseslerde istatistiksel açıdan fark gözlenirken ($p>0,05$), çekirdeksiz üretimde cibre ve alkol fermantasyonu ve diğer dinlendirme, durultma ve olgunlaştırma prosesleri arasında önemli fark göstermiştir. Ancak olgunlaşma aşamasına kadar antosiyanin miktarında sürekli bir düşüş gözlenmiştir. DPPH serbest radikal süpürücü etkisi, çekirdekli üretim yapılan klasik fermantasyonda alkol fermantasyonu dışında diğer proseslerde önemli bir fark göstermemiştir. Alkol fermantasyonunda 45,69 $\mu\text{g/mL}$, EC_{50} nin en düşük olduğu aktiviteninde en yüksek olduğu prosesdir. Çekirdeksiz üretime bakıldığında olgunlaştırma prosesinin 76,06 $\mu\text{g/mL}$ ile en düşük EC_{50} değerine sahip olmuştur. Her iki durumda da dinlendirme uygulaması antioksidan aktivite için EC_{50} değeri en yüksek bulunmuştur. Çekirdekli klasik fermantasyon yönteminde 58,16 $\mu\text{g/mL}$ çekirdeksiz üretim yönteminde 123,82 $\mu\text{g/mL}$ değerleri hesaplanmıştır.

7.4.3. Enzim ilaveli fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerine etkisi

Enzim ilavesi yapılacak mayşelere, *Saccharomyces cerevisiae* subsp. NRRL-Y 12632 mayasına ilaveten, Rohavin VR-C pektolitik (3 g/hL) enzim preparatı ilave edilmiş ve cibre fermantasyonu, alkol fermantasyonu, dinlendirme, durultma ve olgunlaştırma işlemlerindeki toplam fenolik bileşen ve antioksidan aktivitesinin değişimi Çizelge 7.9'da verilmiştir.

Bu yöntemde toplam fenolik bileşikler için anlamlı fark sadece cibre fermantasyonu prosesinde (1,96 g GAE/L) gözlenirken diğer işlemlerin kendi arasında önemli bir fark göstermediği bulunmuştur. Çekirdeksiz üretim yönteminde de cibre fermantasyonu işleminde en yüksek değer 1,41 g GAE/L elde edilmiş diğer proseslerden alkol fermantasyonu ve dinlendirme ile durultma ve olgunlaştırmanın arasındaki farklar önemli bulunmuştur. En düşük toplam fenolik bileşen değeri çekirdeksiz üretimde 0,77 g GAE/L olgunlaşma prosesinde, çekirdekli üretimde cibre fermantasyonu dışındaki proseslerde 1,41 g GAE/L olarak bulunmuştur.

Çizelge 7.9 Enzim İlaveli edilerek üretilen şaraplarda farklı proseslerin toplam fenolik bileşen, toplam antosiyanin, toplam flavanol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi (a) çekirdekli, (b) çekirdeksiz üretim

a) Proses (Çekirdekli)	Toplam fenol (g GAE/L)	Toplam flavanol (g kateşin/L)	Toplam Antosiyanin (g Mvd-3-o-glu/L)	DPPH (EC50,µg/mL)
Cibre ferm.	1,96±0,13 ^b	1,33±0,07 ^a	0,090±0,006 ^c	52,46±2,24 ^b
Alkol ferm.	1,41±0,08 ^a	1,88±0,15 ^b	0,021±0,002 ^a	45,37±0,45 ^a
Dinlendirme	1,45±0,06 ^a	1,87±0,02 ^b	0,018±0,002 ^a	45,66±5,45 ^a
Durultma	1,41±0,20 ^a	1,74±0,22 ^b	0,049±0,001 ^b	52,13±3,12 ^b
Olgunlaştırma	1,47±0,10 ^a	1,91±0,16 ^b	0,050±0,051 ^b	54,20±2,36 ^b

*Aynı kolonda aynı harfle işaretli ortalama değerler arasında (p<0,05) fark yoktur

b) Proses (Çekirdeksiz)	Toplam fenol (g GAE/L)	Toplam flavanol (g kateşin/L)	Toplam Antosiyanin (g Mvd-3-o-glu/L)	DPPH (EC50,µg/mL)
Cibre ferm.	1,41±0,13 ^c	1,22±0,13 ^a	0,076±0,004 ^d	92,84±7,32 ^b
Alkol ferm.	1,03±0,05 ^b	1,37±0,10 ^a	0,076±0,002 ^d	73,46±5,92 ^a
Dinlendirme	1,00±0,12 ^b	1,82±0,29 ^b	0,030±0,003 ^b	73,79±2,67 ^a
Durultma	0,80±0,14 ^a	1,36±0,14 ^a	0,041±0,001 ^c	113,58±13,26 ^c
Olgunlaştırma	0,77±0,01 ^a	1,88±0,19 ^b	0,018±0,016 ^a	87,34±0,09 ^{ab}

*Aynı kolonda aynı harfle işaretli ortalama değerler arasında (p<0,05) fark yoktur

Toplam flavanol değerleri çekirdekli olarak enzim ilaveli üretim yönteminde cibre fermantasyonu dışındaki prosesler kendi aralarında önemli bir fark göstermemiştir. Cibre fermantasyonu en düşük değerle (1,33 g kateşin/L) diğerlerinden ayrılmıştır. Çekirdeksiz üretimde cibre, alkol fermantasyonu ve durultma ile dinlendirme ve olgunlaşma prosesleri arasında önemli fark bulunmuştur (p>0,05). En düşük değer burada da cibre fermantasyonunda (1,22 g kateşin/L) görülmüştür. En yüksek değerler hem çekirdekli üretimde (1,91 g kateşin/L), hem de çekirdeksizde (1,88 g kateşin/L) olgunlaşma evresinde bulunmuştur. Toplam antosiyaninler çekirdekli ve çekirdeksiz olarak ve enzim ilave edilerek yapılan üretimlerde cibre fermantasyonunda maksimum değer

(çekirdekli 0,090 g Mvd-3-o-glu/L çekirdeksiz 0,076 g Mvd-3-o-glu/L) bulunmuştur. Çekirdekli üretimde bu proses diğer alkol fermantasyonu ve dinlendirme ile durultma ve olgunlaştırma prosesleri arasındaki farklar anlamlıdır. Çekirdeksiz üretimde ise cibre ve alkol fermantasyonu dışındaki prosesler arasında önemli farklar vardır. Alkol fermantasyonu ve dinlendirme prosesleri antioksidan aktivitelerine göre diğer proseslerden daha düşük EC₅₀ değerinde DPPH radikal süpürücü etki göstermişlerdir. Bu durum farklı değerde de olsa çekirdekli ve çekirdeksiz üretilen enzim ilaveli şarap yapımında benzer şekildedir. Çekirdekli üretimde (54,20 µg/mL) olgunlaştırma, çekirdeksizde ise durultma (113,58 µg/mL) evrelerinde EC₅₀ değeri için en yüksek konsantrasyonlar bulunmuştur.

7.4.4. Sıcak maserasyon fermantasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerine etkisi

Klasik maserasyondan farklı olarak, fermantasyondan önce mayşenin 8 saat 65°C da ön ısıtmaya tabi tutulmasıyla gerçekleştirilen bu yöntemde, uygulanan ekstraksiyon sonucunda mayşeye geçen toplam fenolik bileşen miktarlarının ve antioksidan aktivitelerinin, şarap üretim prosesi boyunca değişimi Çizelge 7.10' da gösterilmiştir.

Sıcak maserasyon yönteminde çekirdekli ve çekirdeksiz yapılmış uygulamalarda en yüksek toplam fenolik bileşen (çekirdekli: 2,72 – çekirdeksiz: 1,53 g GAE/L) cibre fermantasyonu ile en düşük (çekirdekli: 1,79 – çekirdeksiz: 1,08 g GAE/L) toplam fenolik bileşen alkol fermantasyonuyla sağlanmıştır. Çekirdekli üretimde alkol fermantasyonu ve dinlendirme arasında anlamlı bir farklılık görülmezken (p<0,05) aynı şekilde durultma ve olgunlaştırma prosesleri arasında da anlamlı bir farklılık yokken bu gruplar birbirleri arasında önemli farklar göstermektedir. Çekirdeksiz üretim alkol fermantasyonu dinlendirme ve olgunlaştırma işlemleri arasında önemli bir farklılık bulunmamakta ancak durultma evresinde önemli farklılık olduğu görülmektedir.

Çizelge 7.10. Sıcak Maserasyon yöntemiyle üretilen şaraplarda farklı proseslerin toplam fenolik bileşen, toplam antosiyanin, toplam flavanol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi(a)çekirdekli, (b)çekirdeksiz üretim

a) Proses (Çekirdekli)	Toplam fenol (g GAE/L)	Toplam flavanol (g kateşin/L)	Toplam Antosiyanin (g Mvd-3-o-glu/L)	DPPH (EC50,µg/ml)
Cibre ferm.	2,72±0,12 ^c	6,00±0,51 ^c	0,063±0,005 ^b	51,86±3,69 ^b
Alkol ferm.	1,79±0,02 ^a	5,53±0,18 ^{bc}	0,094±0,005 ^c	28,56±0,09 ^a
Dinlendirme	1,81±0,12 ^a	4,54±0,30 ^a	0,085±0,000 ^c	56,44±1,34 ^c
Durultma	2,25±0,10 ^b	4,98±0,29 ^{ab}	0,057±0,005 ^b	40,09±2,32 ^{ab}
Olgunlaştırma	2,22±0,15 ^b	4,40±0,32 ^a	0,043±0,050 ^a	46,14±2,83 ^{ab}

*Aynı kolonda aynı harfle işaretli ortalama değerler arasında (p<0,05) fark yoktur

b) Proses (Çekirdeksiz)	Toplam fenol (g GAE/L)	Toplam flavanol (g kateşin/L)	Toplam Antosiyanin (gMvd-3-o-glu/L)	DPPH (EC50,µg/ml)
Cibre ferm.	1,53±0,07 ^c	3,69±0,11 ^a	0,0201±0,007 ^a	81,50±6,14 ^b
Alkol ferm.	1,08±0,01 ^a	3,07±0,26 ^a	0,0564±0,001 ^b	62,34±2,23 ^a
Dinlendirme	1,17±0,04 ^a	3,13±0,32 ^a	0,0547±0,007 ^b	118,50±8,65 ^c
Durultma	1,34±0,04 ^b	3,57±0,46 ^a	0,0474±0,004 ^b	72,10±6,79 ^{ab}
Olgunlaştırma	1,15±0,10 ^a	5,31±0,38 ^b	0,0254±0,025 ^a	72,16±6,58 ^{ab}

*Aynı kolonda aynı harfle işaretli ortalama değerler arasında (p<0,05) fark yoktur

Toplam flavanol içeriği sıcak maserasyon uygulanmış şaraplarda çekirdeksiz üretimde olgunlaştırma dışındakiler arasında önemli bir farklılık yoktur ancak çekirdekli üretimde dinlendirme, durultma, olgunlaştırma arasında ve cibre – alkol fermantasyonları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Çekirdekli üretimde en yüksek değer (çekirdekli; 6,00 g kateşin/L – çekirdeksiz; 5,3 g kateşin/L) cibre fermantasyonunda diğerinde ise olgunlaşma evresinde hesaplanmıştır. En düşük flavanol değerleri çekirdekli üretimde 4,4 g kateşin/L olgunlaşma prosesinde, çekirdeksiz üretimde 3,07g kateşin/L alkol fermantasyonu işleminde bulunmuştur. Sıcak maserasyonla üretilmiş şaraplarda cibre fermantasyonu ve durultmada benzer, alkol fermantasyonu ve dinlendirme proseslerinde benzer ancak bu grup prosesler birbirinden farklı düzeyde toplam

antosiyenin üzerine etkide bulunmuşlardır. Çekirdekli üretimde en düşük değere (0,043g mvd-3-o-glu/L) olgunlaşma prosesi, çekirdeksiz üretimde (0,020 g mvd-3-o-glu/L) cibre fermantasyonuyla ulaşılmıştır. En yüksek değerlere (çekirdekli: 0,094 g mvd-3-o-glu/L – çekirdeksiz: 0,056 g mvd-3-o-glu/L) her ikisinde de alkol fermantasyonu prosesiyle ulaşılmıştır. DPPH radikal süpürücü aktivitesini sıcak maserasyon yönteminde alkol fermantasyonu prosesinde en fazla etkisini göstermiş ve en düşük EC₅₀ değerlerine sahip olmuştur; çekirdekli üretimde 28,56, çekirdeksiz üretimde ise 62,34 µg/L bulunmuştur. Dinlendirme işleminde ise EC₅₀ değerleri en yüksek miktara ulaşarak antioksidan aktivitenin en düşük (çekirdekli; 56,44 µg/L - çekirdeksiz; 118,5 µg/L) olduğu dönem olmuştur.

Şarap üretiminde uygulanan farklı prosesler üretim yöntemleri üzerinde farklı etkiler yaratmıştır. Bu etkiler ve nedenleri Bölüm 7.5’ de daha ayrıntılı olarak açıklanacaktır.

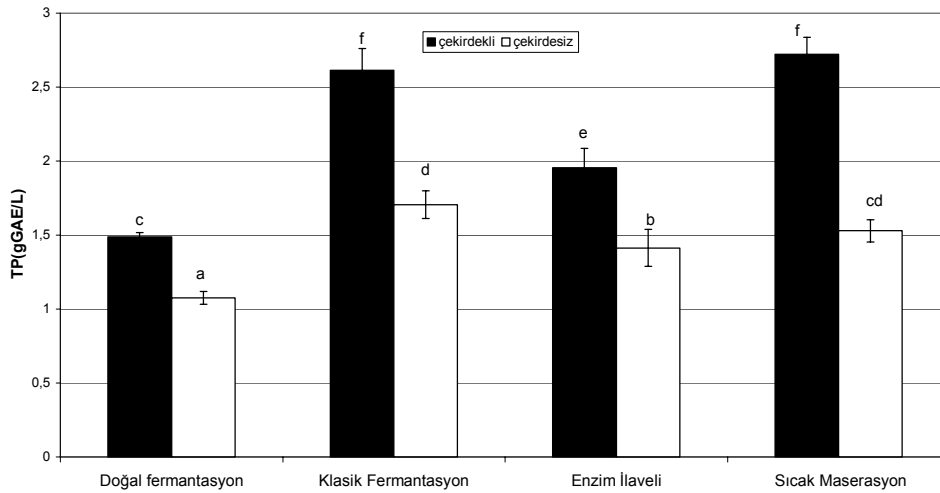
7.5. Uygulanan Fermantasyon Yöntemlerinin Şarap Üretim basamaklarında Alınan Ürünlerin Toplam Fenolik Bileşen Miktarı ve Antioksidan Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Farklı yöntemlerle (Doğal , klasik, enzim ilaveli ve sıcak maserasyon) şarap üretiminde farklı proselerde toplam fenolik bileşikler değişim göstermiştir (Şekil 7.1.-7.5). Değerlerdeki farklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p>0,05$). Bulunan sonuçlara göre maya ilavesi, maya ve enzim ilavesi, maya ilavesi ve ısı işlem uygulanması ayrıca proseslerde uygulanan maserasyonlar, kükürt ilavesi, jelatin ilavesi de toplam fenolik bileşiklerin değerlerinin hem yöntem hemde proseslerde farklı sonuçlar göstermesine yol açmıştır. Toplam fenolik bileşenler maksimum değerlerini çekirdek ayrılmadan yapılmış uygulamalarda ve saf kültürün kullanıldığı proseslerde vermiştir. Yöntemlere bakıldığında sırasıyla sıcak maserasyon, sonrada klasik fermantasyon, enzim ilaveli ve son olarak Doğal yöntem uygulamasında toplam fenolik bileşen değerlerinin gittikçe azaldığı görülür. Durultma işlemiyle tüm yöntemlerde belirgin azalış ortaya çıkmıştır. Burada kullanılan durultma ajanı tipi ve konsantrasyonuna bağlı olarak toplam fenolik bileşen üzerindeki etkisi değişmektedir.

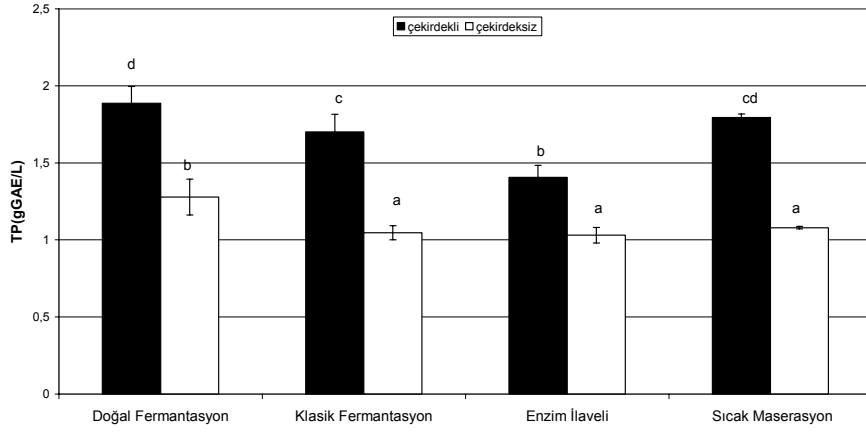
Aktan ve Kalkan'nın (2003) kırmızı şaraplık üzümde polifenollerini etkileyen faktörler üzerine yapmış olduğu bir araştırmada farklı uygulamaların polifenollerin değerlerinde farklılığa yol açtığını kullanılan enzim tipi ve konsantrasyonunun, maya suşunun ve konsantrasyonunun polifenolik madde miktarını değiştirdiğini belirlemişlerdir.

Anlı'nın (2004) kalecik karası şarabının yapılmasında uyguladığı farklı yöntemlerin fenol bileşimi ve antioksidan kapasitesi üzerine etkisini incelemiştir. Sonuçta, sıcak maserasyon yöntemiyle üretilen şarapların başlangıçta uygulanan ısı işlemi antioksidan kapasiteyi ve antioksidan nitelikteki fenol bileşenlerini olumlu etkileyerek diğer yöntemlerle üretilen şaraplara göre daha zengin kıldığını saptamıştır.

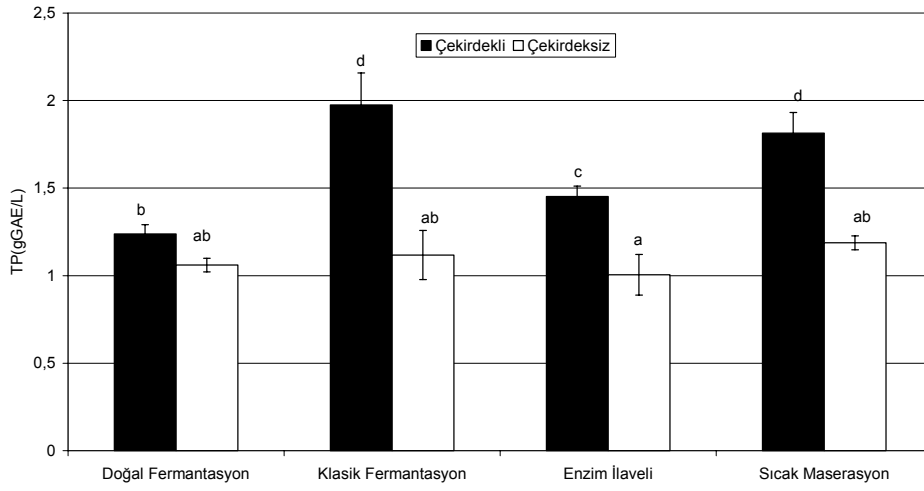
Main ve Morris (1991) tarafından yapılan bir çalışmada en düşük polifenolik değer bentonit kullanımıyla sağlanmıştır. Ayrıca Ramos ve ark. (1993) tarafından yapılmış bir başka çalışmada, dinlendirme sırasında monomerik polifenolik bileşiklerin nükleik asit gibi büyük moleküllerle kompleks oluşumu meydana gelebileceği ortaya konmuştur.



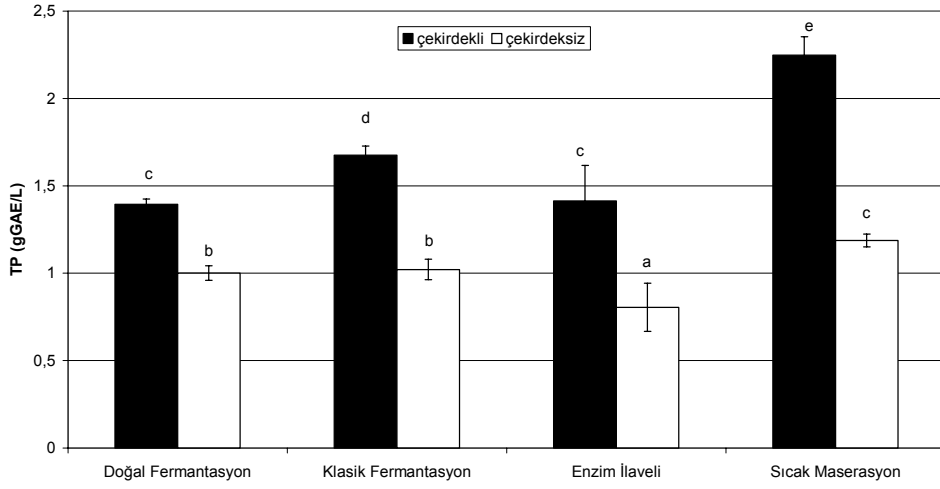
Şekil 7.1. Farklı yöntemlerle şarap üretiminde cibre fermantasyonu prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi



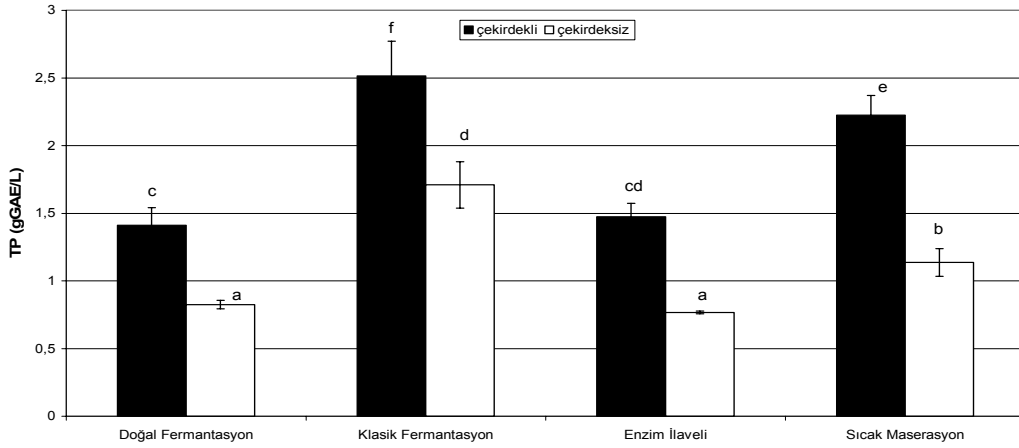
Şekil 7.2. Farklı yöntemlerle şarap üretiminde alkol fermantasyonu prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.3. Farklı yöntemlerle şarap üretiminde dinlendirme prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.4.Farklı yöntemlerle şarap üretiminde durultma prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi



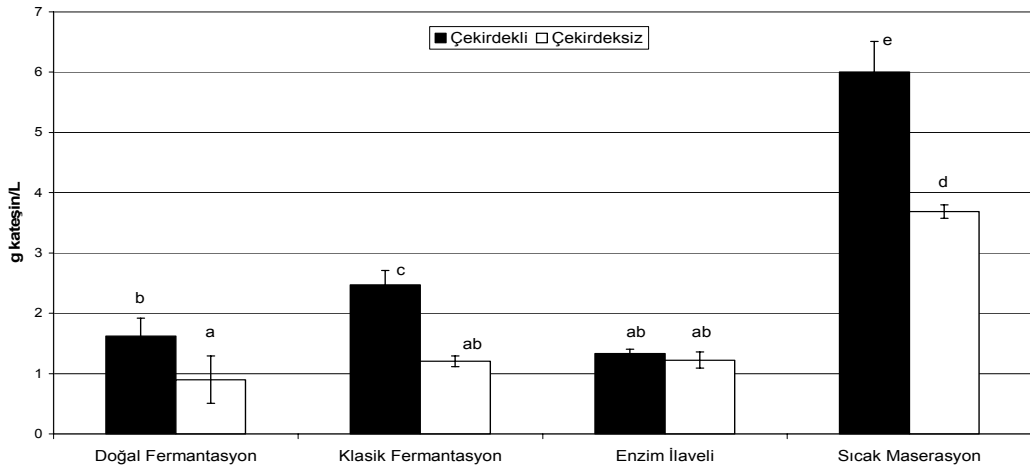
Şekil 7.5.Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda olgunlaştırma prosesinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkisi

Farklı üretim proselerinin uygulandığı yöntemlerde toplam flavanol değerinin istatistiksel açıdan önemli farklar gösterdiği bulunmuştur (Şekil 7.6 - 7.10). Toplam flavanol değeri uygulanan işlemler içinde çekirdekli ve çekirdeksiz olarak en yüksek sıcak maserasyon yönteminde sahip olmuştur.

Yücel (1992) ve Anlı (2004) yaptıkları araştırmalarda yüksek sıcaklık uygulamalarının taneni artırdığını ve bu süreçte kabukların şırayla temas süresinin uzamasında taneni artırıcı olduğunu ifade etmişlerdir.

Sims ve Bates (1994) tarafından yapılan bir çalışmada fermantasyon aşamasında tanenlerin ekstraksiyonunun sürmesi nedeniyle durultmaya kadar tanen miktarının değiştiği belirtilmiştir.

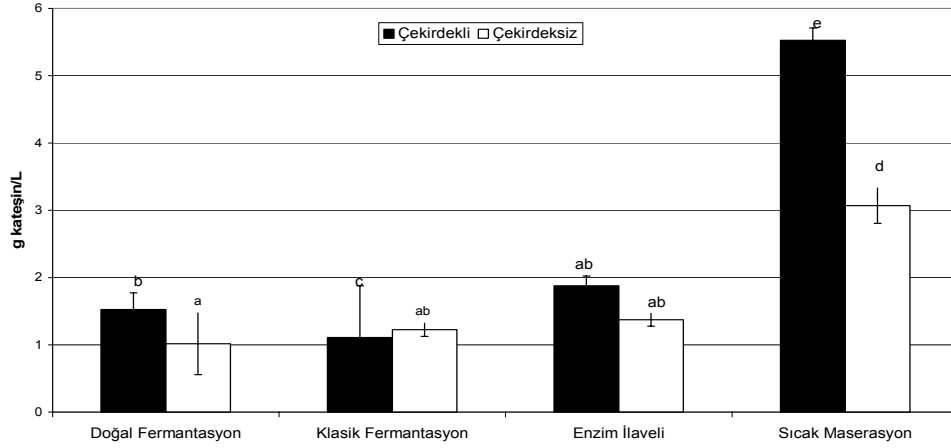
Dinlendirme prosesinde antosiyaninler ve tanenler arasında kompleks oluşumu, polifenoller ve asetaldehit arası interaksiyonlar gibi meydana gelen reaksiyonlar toplam flavanol miktarını etkilemiştir (Aktan ve Kalkan 2003). Asetaldehit ve antosiyanin-flavonoid polimerizasyon reaksiyon hızları düşen pH ile artış gösterir. Daha fazla hidrojen iyonu konsantrasyonu nedeniyle düşük pH değerinde, asetaldehit ara polimerizasyon reaksiyonları daha hızlı olur. Burada reaksiyon mekanizması önce asetaldehit karbonyum iyonu, daha sonrada kararlı asetaldehit-kateşin karbonyum iyon oluşumu istenir “(Parley 1999; Bakker 1986)”.



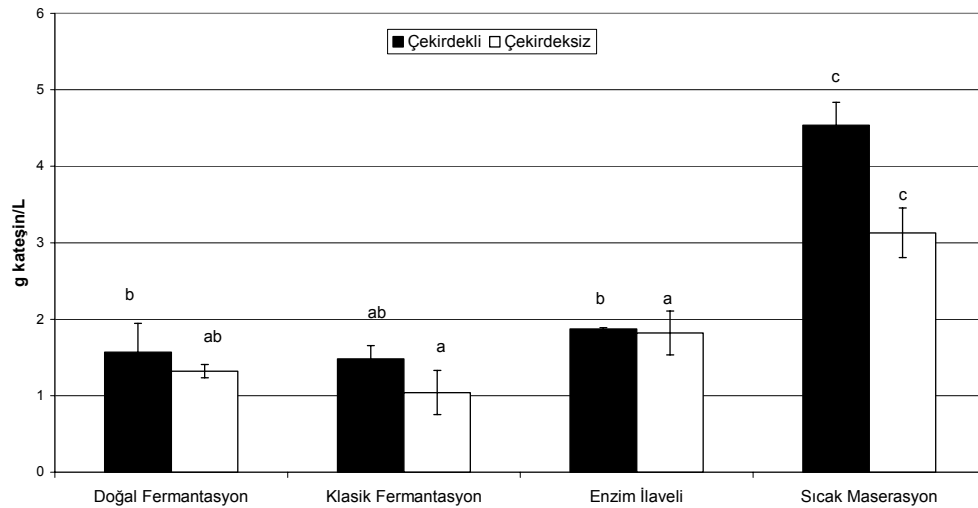
Şekil 7.6.Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda cibre fermantasyonu prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi

Durultma sonrası flavanollerde kullanılan durultma ajanı jelatin ve konsantrasyonuna bağlı olarak önemli bir azalma görülür. Bu durum Aktan ve Kalkan (2003) tarafından yapılan bir araştırmada da görülmüştür.

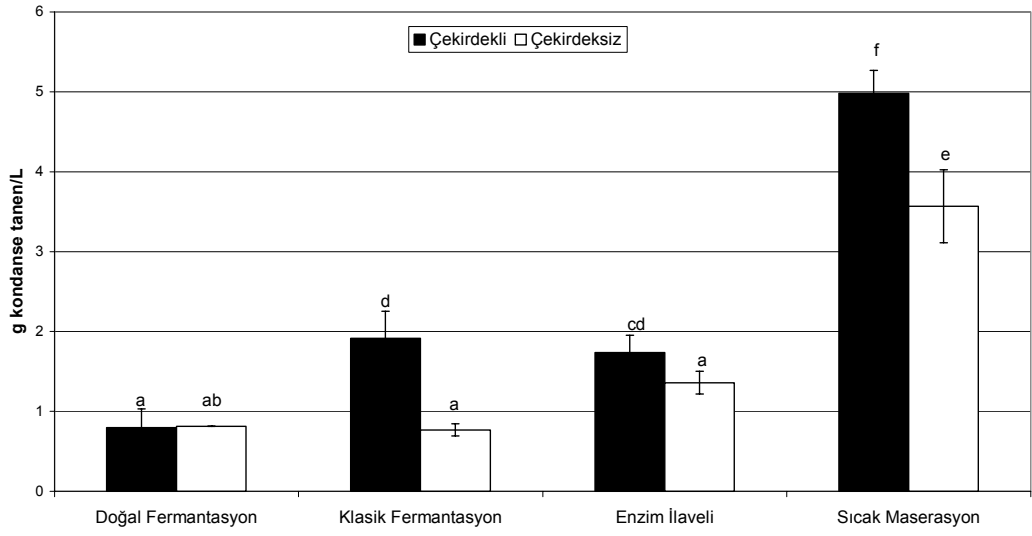
Şarabın olgunlaştırılması boyunca oksijen teması fenollerin ve ileriki asetaldehit ve kinon polimer oluşumlarını etkiler. Eğer oksidasyon hızla gerçekleşirse daha az rejenaratif polimerizasyon, daha az oksijen tüketimiyle daha çok fenol kinonlara okside olabilir “(Parley 1999; Bakker 1986)”



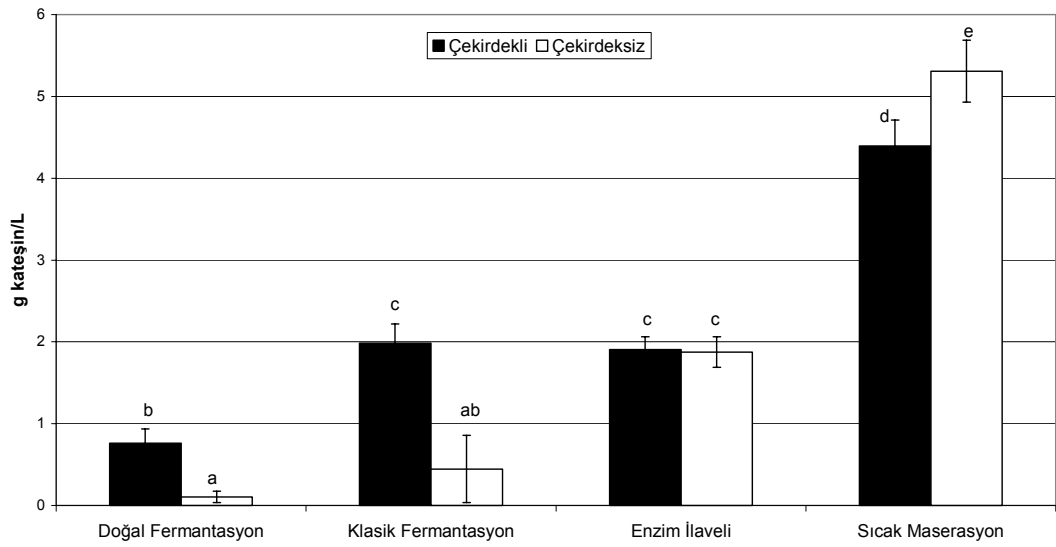
Şekil 7.7. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda alkol fermantasyonu prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.8. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda dinlendirme prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.9. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda durultma prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi



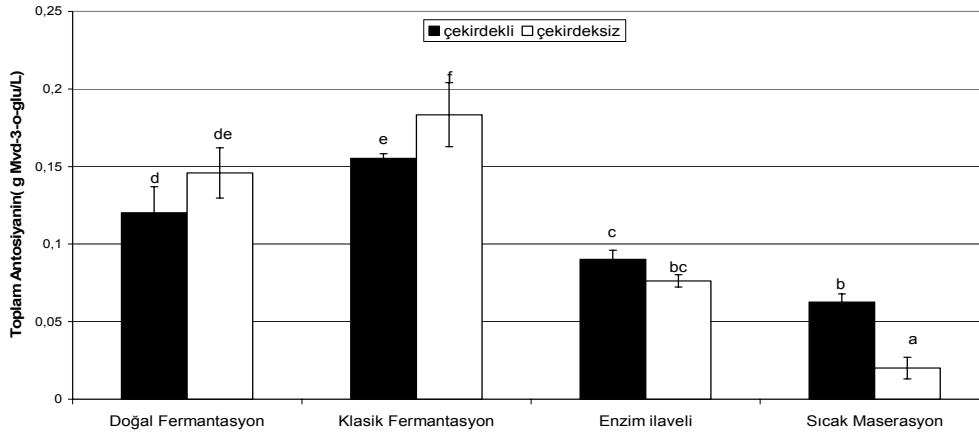
Şekil 7.10. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda olgunlaştırma prosesinin toplam flavanol miktarı üzerine etkisi

Toplam antosiyanin değerleri farklı üretim yöntemlerinde prosesler birbirleri içinde önemli farklar göstermişlerdir (Şekil 7.11 – 7.15). Özellikle her yöntemdeki çekirdeksiz üretimde bulunan toplam antosiyanin miktarı beklendiği üzere daha yüksektir. Bu da üzümün ana antosiyanin bileşiği olan malvinidin-3-o-glukozitinin kabuk kısmında yoğunlaşmasındandır. Sıcak maserasyon uygulamalı fermantasyon işlemlerinde renk maddelerinin düşük miktarda olması maddelerin sıcaklık ve enzim etkisi ile polimerik antosiyaninlere (lökoantosiyanin) dönüşmesinden kaynaklandığını düşündürmektedir.

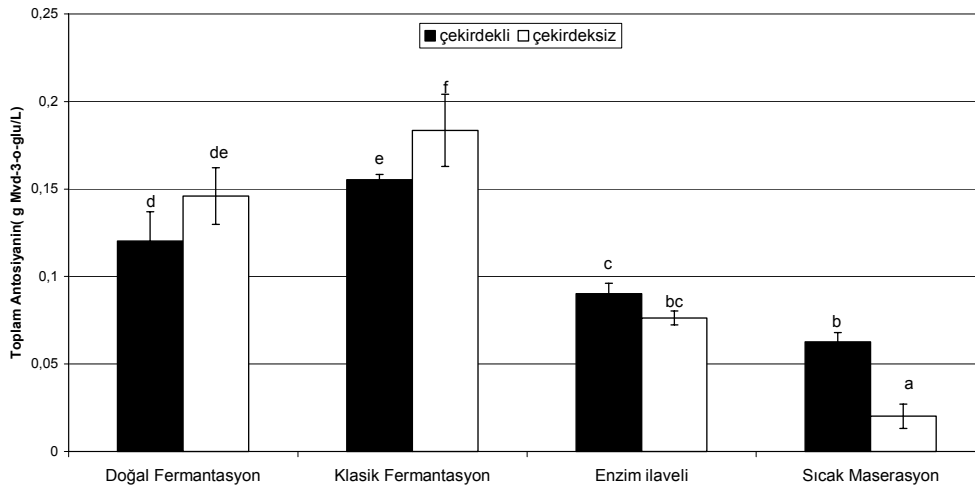
Fermantasyon boyunca üretilen asetaldehit miktarı fermantasyon öncesi ilave edilen SO₂ miktarıyla orantılıdır. Fakat bağlı SO₂ oksidasyonu serbest asetaldehit oluşumunu sağlar “(Parley 1999; Bakker 1986; Bakker ve Timberlake 1986)”. Kırmızı şaraptaki asetaldehit ve SO₂ etkisi birbirine bağlıdır ve bunlar da antosiyanini etkiler. Şaraptaki artan SO₂ miktarı pigment ve prosiyanidinlerin polimerizasyonunu yavaşlatır “(Bakker 1986; Dallas ve Laureano 1994; Morata ve ark.2006)”.

Enzim ilaveli fermantasyonda ise pektolitik enzim ilavesinin bitki hücrelerinden renk maddelerinin ve çekirdeklerden kateşinlerin ekstraksiyonuna yardımcı olması düşünölmekte idi. Ancak yapılan çalışmada bu yöntemle elde edilen toplam monomer antosiyanin miktarları, diğer yöntemlerle elde edilen ürünlerden daha düşük bulunmuştur.

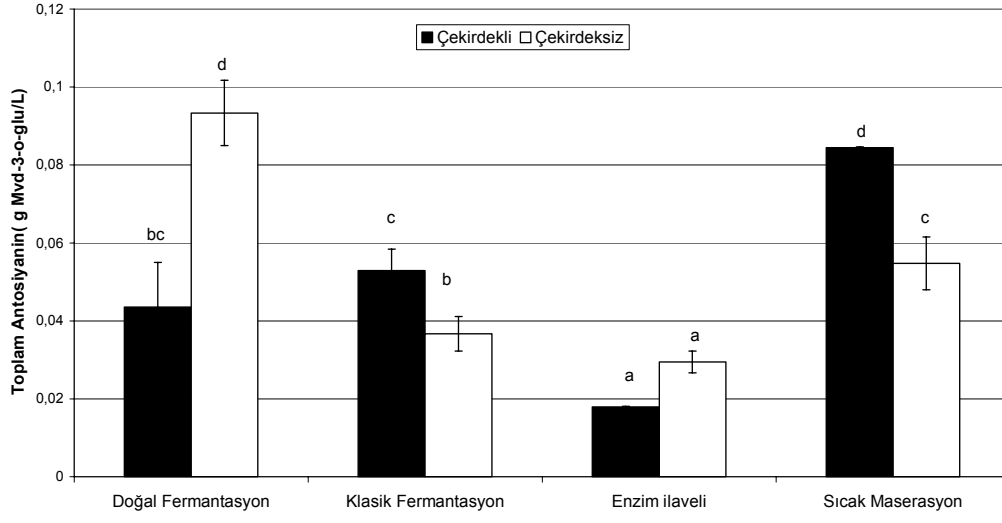
Enzimin bu maddelerin diğer maddelerle kondenzasyon reaksiyonunu hızlandırdığı düşünölebilir. Ancak enzim ilaveli fermantasyondan elde edilen ham şarabın renginin berrak kırmızı olması, şaraba rengini veren toplam antosiyanin miktarının az olması ile bir tezat oluşturmaktadır. Bunun da şaraba rengini veren malvinidin-3-O-glukoziti’ nin toplam antosiyanin içindeki oranı ile ilgili olduğu düşünölmektedir.



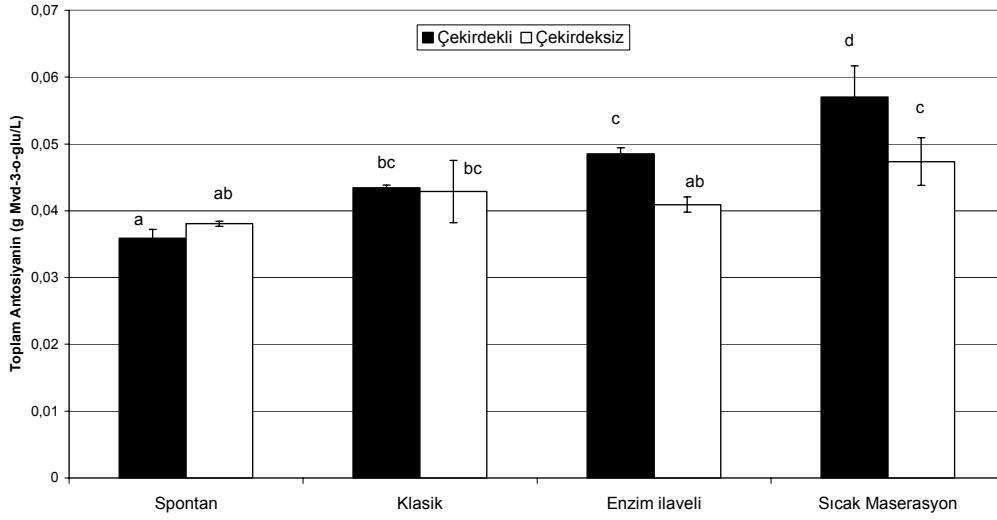
Şekil 7.11. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda cibre fermantasyonu prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi



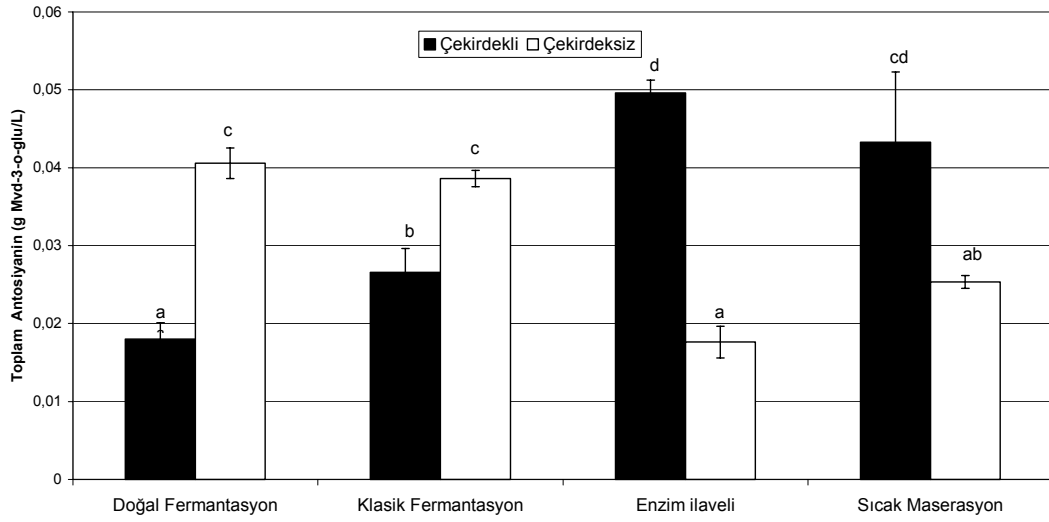
Şekil 7.12. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda alkol fermantasyonu prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.13. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda dinlendirme prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.14. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda durultma prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.15. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda olgunlaştırma prosesinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi

Farklı yöntemlerle üretilen numunelerde uygulanan işlemlerin antioksidan aktiviteye özellikle çekirdekli ve çekirdeksiz olmanın etkisi görülmüştür (Şekil 7.16-7.20).

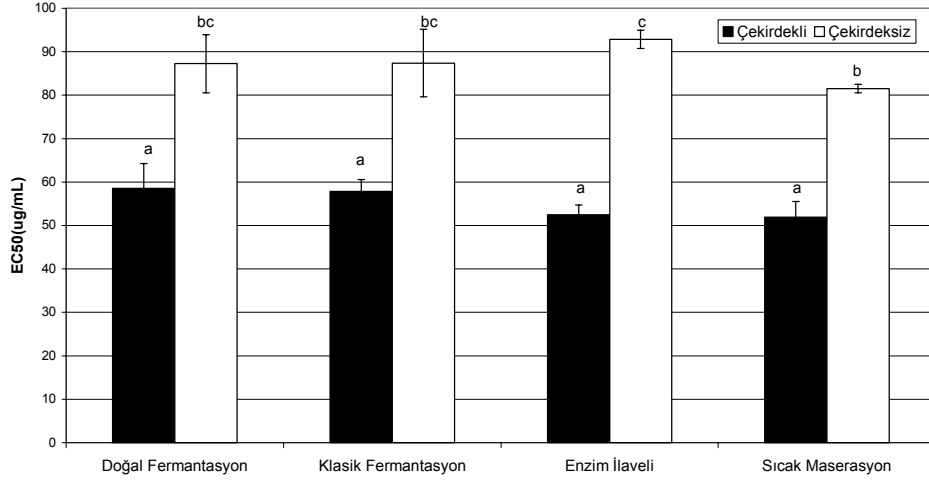
Kırmızı şaraplarda en yüksek antioksidan aktivite değeri bütün proseslerde SM yöntemiyle elde edilmiştir. Şarap üreticileri, bulanıklık ve tatta meydana gelen olumsuzluklar nedeniyle fenol içeriğini minimize etmekte ancak sağlık koruyucu etkisi düşünüldüğünde daha fazla fenolik madde sağlamak için tersine bir uygulama, sıcak maserasyon ile yapılabilir.

Netzel ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada cibre fermantasyonu süresinin ve sıcak maserasyon uygulamasının bioaktif polifenollerin (özellikle antosiyanin, flavan-3-ol, flavonol, ve resveratrol) üzümünden son ürüne geçişlerini artırdığını ortaya koymuşlardır.

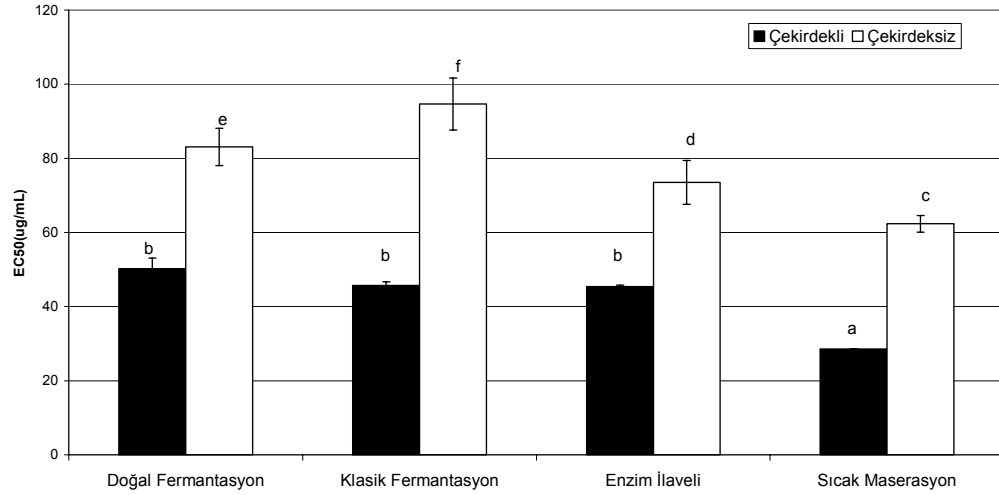
Yen ve Hung (2000) tarafından yapılan çalışmada antioksidan aktivite değerlerinin büyük oranda toplam fenolik bileşen içeriğiyle korelasyon içinde olduğu bildirilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışma da bunu göstermektedir.

Bonilla ve ark. (1999) kırmızı üzümde cibre fermantasyonu öncesinde uygulanan yüzey temas alanını (cibre-şıra) artırma işlemlerinin, üzümün ezilme

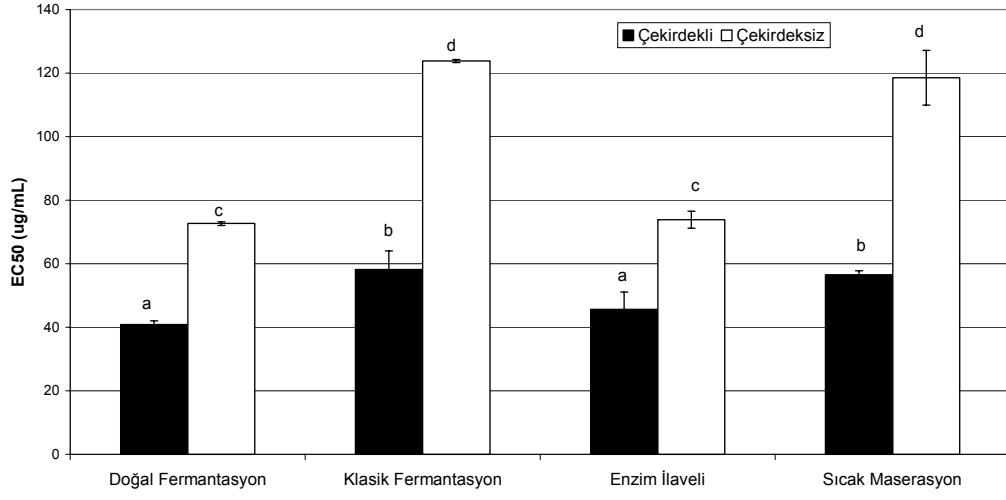
derecesinin antioksidan aktivite üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Yaptığımız uygulamalarda sıcaklık etkisiyle üzüm daha fazla parçalanarak polifenolik maddelerin daha fazla şıraya geçişine olanak tanımıştır.



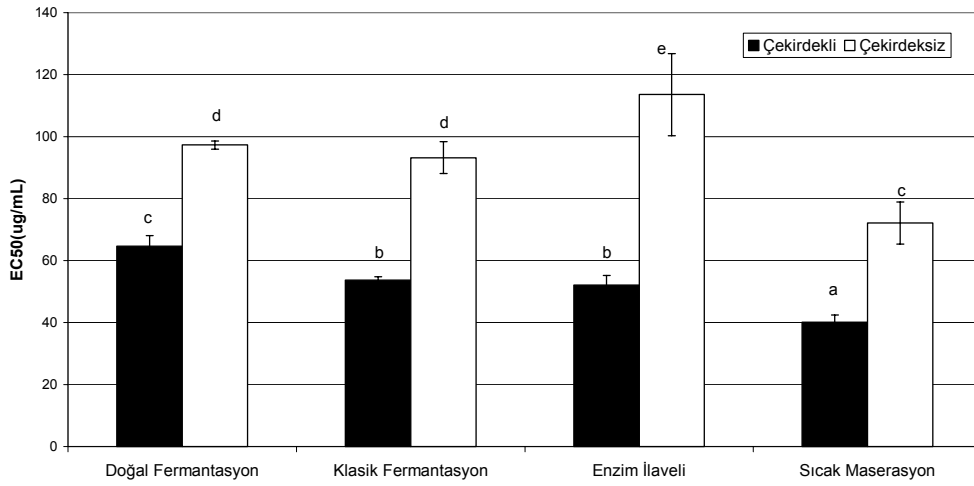
Şekil 7.16. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda cibre fermantasyonu prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi



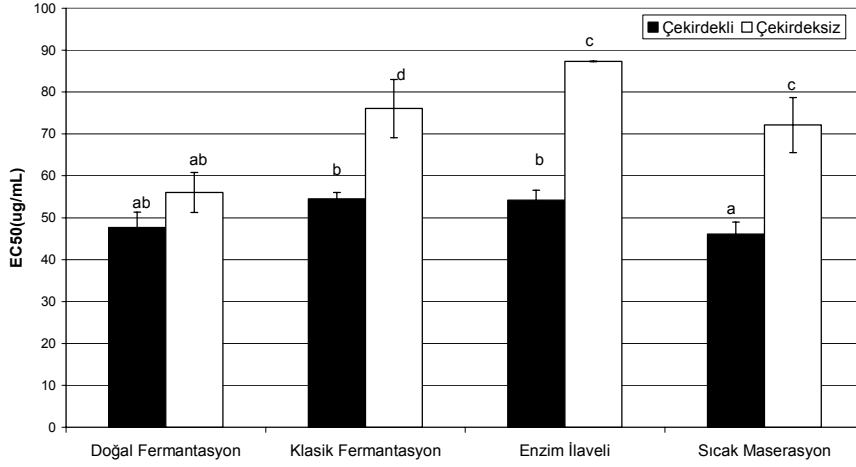
Şekil 7.17. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda alkol fermantasyonu prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.18. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda dinlendirme prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi



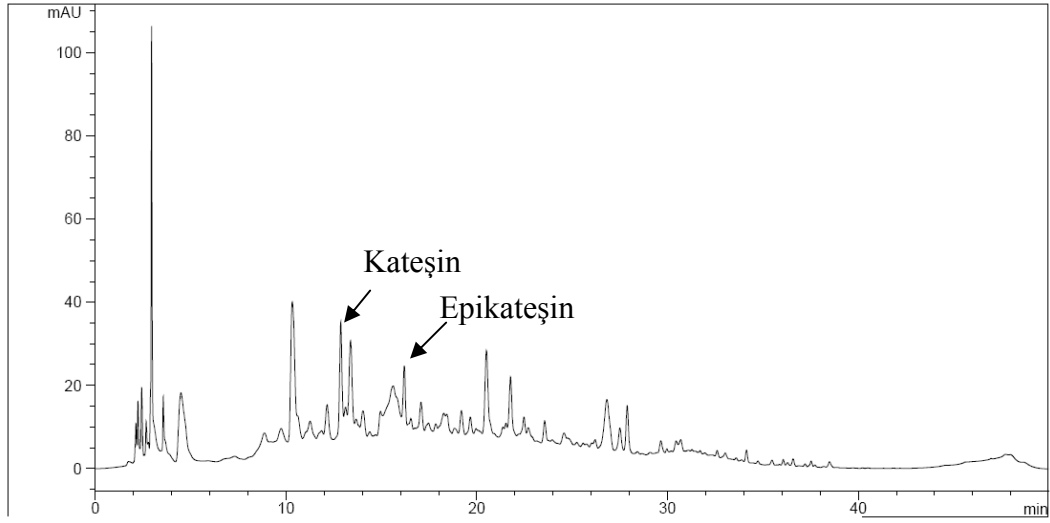
Şekil 7.19. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda durultma prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.20. Farklı yöntemlerle üretilen şaraplarda olgunlaştırma prosesinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite miktarı üzerine etkisi

7.6. Uygulanan proseslerin YBSK yöntemi ile belirlenen fenolik bileşenlerin miktarları üzerine etkisi

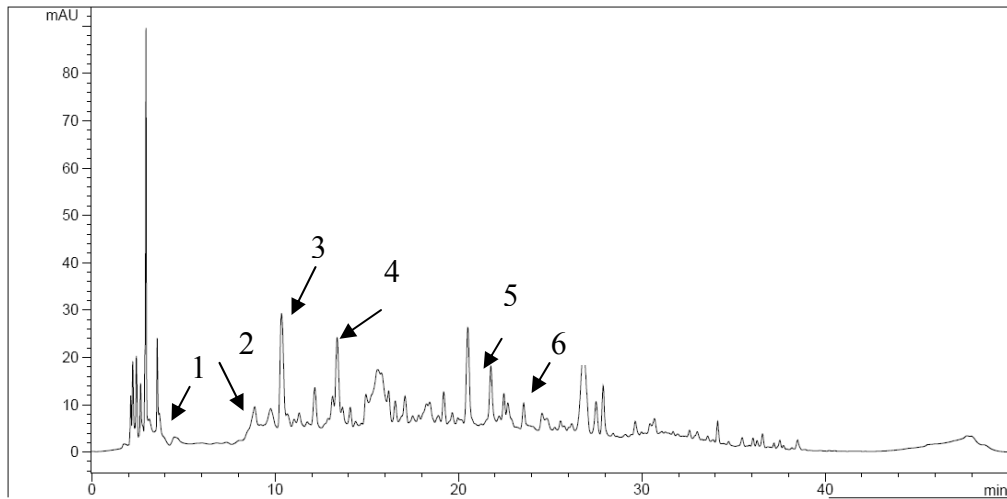
YBSK-DAD yöntemi ile çekirdekli ve çekirdeksiz fermantasyon işlemleri sonucunda elde edilen şarapta ana bileşen olarak fenolik asitler (gallik, protokateşik, klorojenik, p-kumarik ve ferulik asit) ve flavanol türevleri (kateşin, (-)-epikateşin, (-)-epigallokateşin) belirlenmiş ve çekirdekli çekirdeksiz fermantasyon yöntemi ile elde edilen şaraba ait örnek YBSK kromatogramları Şekil 7.21 ve Şekil 7.22 da verilmiştir.



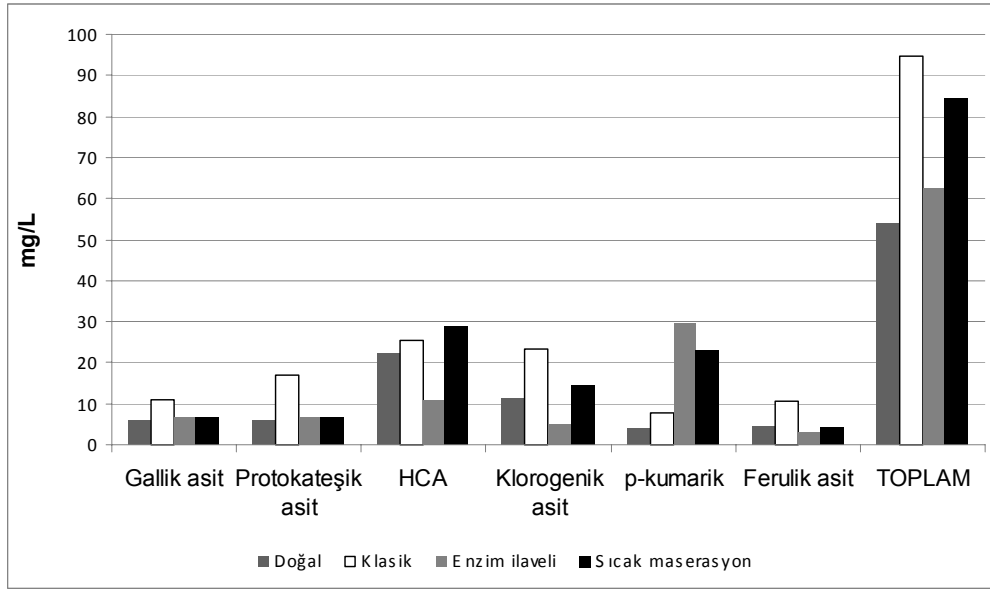
Şekil 7.21. Çekirdekli fermantasyon yöntemi ile elde edilen şarabın örnek YBSK kromatogramı

Yapılan analizler sonunda çekirdeksiz fermantasyonda elde edilen şaraplarda ana bileşenlerin fenolik asitler ve antosiyaninler, çekirdekli fermantasyonda ise kateşin ve türevleri olduğu görülmüştür.

Çekirdekli ve çekirdeksiz fermantasyonla elde edilen olgun şarabın (3.ay) fenolik asit ve kateşin bileşimi Şekil 7.23 ve Şekil 7.24 de verilmiştir.



Şekil 7.22. Çekirdeksiz fermantasyon yöntemi ile elde edilen şarabın örnek YBSK kromatogramı (1.Gallik asit; 2. Protokateşik asit, 3. Hidroksi sinnamik asit türevi, 4. Klorojenik asit, 5 Parakumarik asit, 6. Ferulik asit)



Şekil 7.23.Çekirdeksiz fermantasyonla elde edilen olgun şarabın (3.ay) fenolik asit bileşimi

Monagas ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada fenolik bileşikler de şişedeki olgunlaşma boyunca 9.aya kadar yavaş, daha sonra 12.ayda belirgin bir azalma olduğu görülmüştür.

Matejcek ve ark. (2005) fenolik bileşiklerin ahşap fıçılarda olgunlaşma süreci boyunca değişimlerini incelemiş ve fenolik konsantrasyon birleşiminin zaman içinde değişmekte olsa da miktarın gittikçe azaldığını belirtmişlerdir.

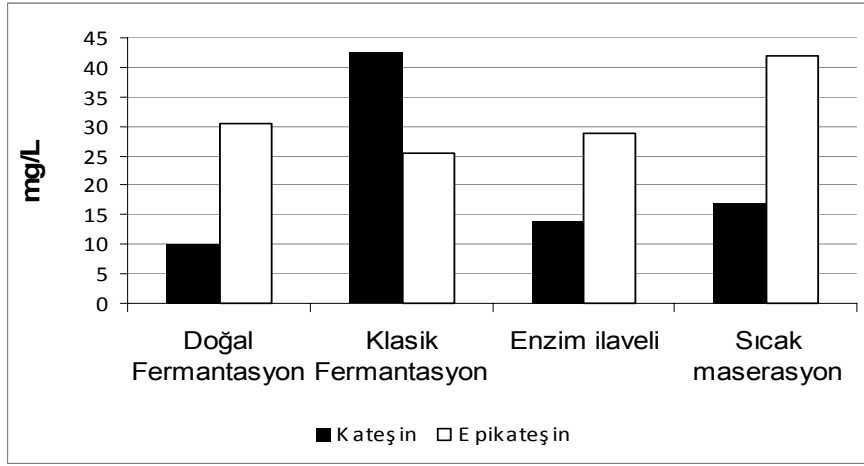
Hidroksibenzoik asitler (gallik asit, protokateşik asit) temelde üzüm kabuğunda lokalize olmuşlardır. Bu nedenle üzüm kabuğunun uzaklaştırılmasına kadar daha yüksek miktarlarda bulunurlar. Fermantasyon sırasında oluşan alkol konsantrasyonuna bağlı miktarında hidroksibenzoik asitlerde azalmalar meydana gelir. Soğuk uygulaması ve durultmada benzer etkiler göstermiştir (Gil-Munoz ve ark. 1999).

Hidroksisinnamik asitler (hidroksi sinnamik asit türevi, klorojenik asit, parakumarik asit, ferulik asit) maksimum değeri kabuk uzaklaşmadan göstermiş daha sonra düşmüşlerdir. Üzüm kabuğunun uzaklaştırılmasıyla muhtemelen dilusyona bağlı veya uçucu fenollerin başka biçimde oluşması nedeniyle ya da mayalar tarafında degradasyona uğraması sonucunda azalma meydana gelmiştir. Sıcaklığın bu bileşenlerin üzerine etkisi minimum olarak görülmüştür. Presleme,

dinlendirme, durultma ve filtrasyon uygulamaları hidroksisinnamik asitleri olumsuz etkilemiştir (Gil-Munoz ve ark. 1999). Hidroksisinnamik asitler taze sıkılmış üzüm suyunda yüksek miktardadır. Kabukta bulunan hidroksisinnamik asit miktarı düşüktür. Ancak şarap yapımında enzim ve asit hidrolizinde esnasında oluşurlar (Wrolstad ve ark. 2005).

Fenolik asitlerin genel toplamında Klasik fermantasyon yöntemiyle üretilen şarapların (94,85 mg/L) diğer yöntemlerden oldukça fazla fenolik asit içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Sıcak maserasyon uygulanmış şaraplarda kabukta daha fazla bulunan fenolik asitlerin geçişi hızlandırılmış ve artırılmış bu da fenolik asit konsantrasyonunun (84,34 mg/L) yüksek olmasını sağlamıştır. en düşük fenolik asit değerleri doğal fermantasyon (54,10 mg/L) yönteminde bulunmuştur.

Fenolik asitlerden gallik asit, proto kateşuik asit ve ferrulik asit konsantrasyonları doğal fermantasyon, enzim ilaveli ve sıcak masere yöntemleriyle üretilmiş şaraplarda benzer değerlere sahiptir. Enzim ilaveli yöntemde en yüksek konsantrasyonda bulunan fenolik asit; p-kumarik asit (29,89 mg/L) diğer yöntemlerle üretilen şaraplardan da yüksek konsantrasyondadır. Hidroksisinnamik asit türevleri en yüksek konsantrasyonu (29,11 mg/L) sıcak maserasyon yöntemiyle üretilmiş şaraplarda göstermiştir. Ancak doğal (22,32 mg/L) ve klasik fermantasyon (25,53 mg/L) yöntemlerinde de hidroksi sinnamikasit konsantrasyonları oldukça yüksektir. Enzim ilave edilen yöntem burada da farklılık göstermiş ve en düşük 11,09 mg/L konsantrasyonu sahip olmuştur.



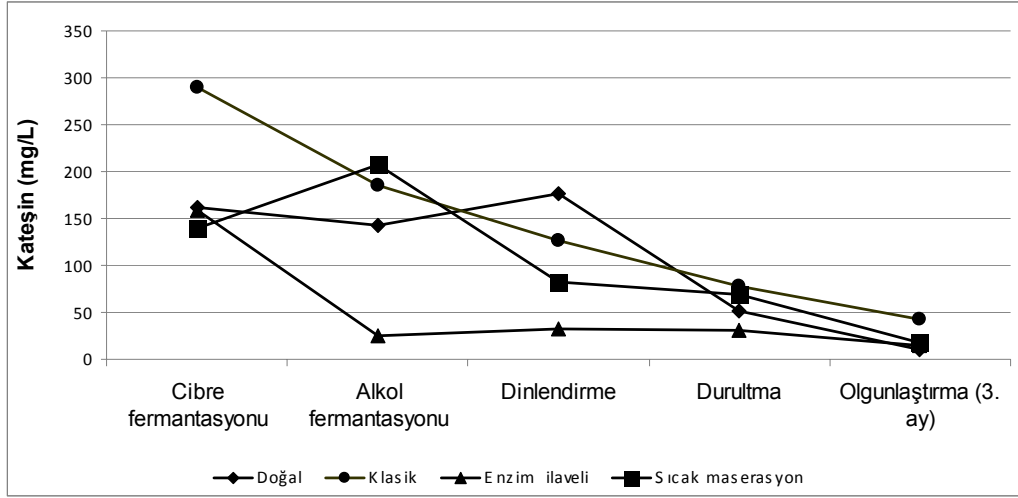
Şekil 7.24. Çekirdekli fermantasyonla elde edilen olgun şarabın (3.ay) kateşin ve epikateşin miktarları

Kateşinler, flavan-3-ol'lerin, C₃ atomunda bir OH gurubu içeren monomerlerdir. Bu bileşiğin yapısında iki asimetrik karbon atomu (C₂ ve C₃) vardır ve dört izomer oluşturur. Buradaki karbon atomlarındaki hidrojen trans konfigürasyonunda ise (+)-kateşin ve (+)-gallokateşin, cis konfigürasyonunda ise (-)-epikateşin ve (-)- epigallokateşin adı verilmektedir (Wrolstad ve ark. 2005).

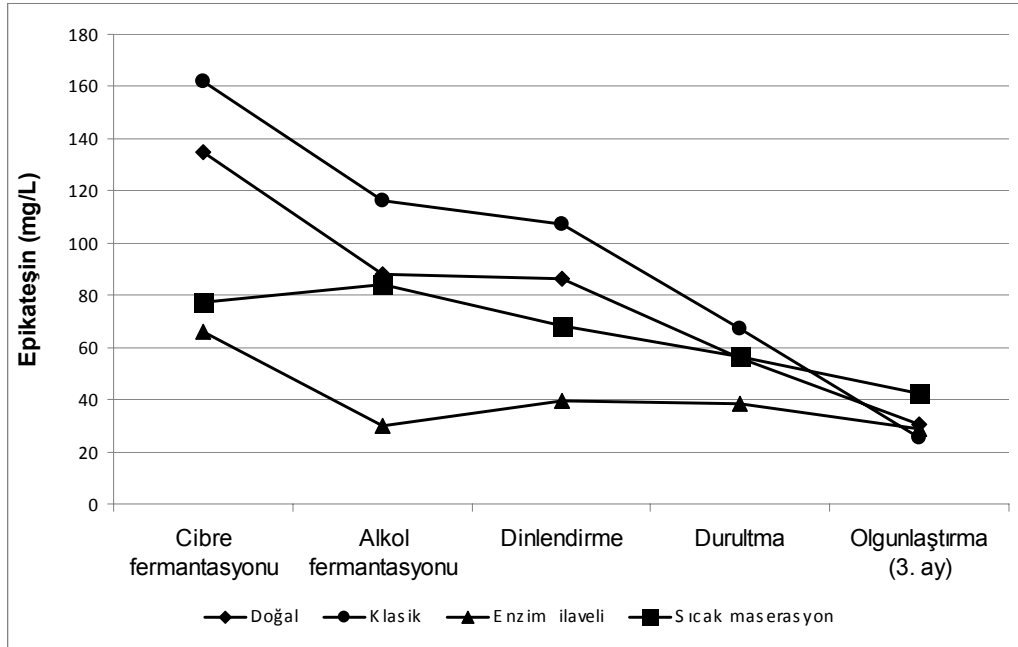
Klasik fermantasyon yöntemi dışındaki diğer tüm yöntemlerde elde edilen şaraplarda epikateşin miktarı kateşin miktarından daha yüksek çıkmıştır. Klasik fermantasyon yönteminde elde edilen toplam kateşin ve epikateşin miktarı da 67,83 mg/L değeri diğer yöntemlerden daha fazladır. Sıcak maserasyon uygulanarak üretilmiş şarapların sahip olduğu epikateşin miktarında (42,06 mg/L) diğer şaraplardan daha yüksektir.

Monas ve ark. (2006), Graciano, Cabernet Sauvignon ve Tempranillo şaraplarının şişede olgunlaştırılmasının, polifenolik içeriğin etkisi üzerine yaptığı çalışmada kateşin konsantrasyonunun en yüksek şişeleme işleminden 1,5 ay sonra Graciano şaraplarında (1494 mg/L) olduğunu ancak kateşin değerlerinin küçük farklarla sürekli azaldığını belirtmişlerdir. Monomerik ve oligomerik flavanollerin olgunlaştırma boyunca azalmasının, şarapların şişelenerek bekletilmesi boyunca proantasiyanidinlerin interflavanik bağlarının kopmasının bir sonucu olabileceğini, daha küçük boyuttaki polimerlerin oluşmasının son üründe konsantrasyonu artırabileceğini ifade etmişlerdir.

Proses şartlarının kateşin ve epikateşin üzerine etkisi Şekil 7.25 ve Şekil 7.26 da verilmiştir.



Şekil 7.25. Farklı fermantasyon yöntemlerinde şarap üretim prosesinin kateşin miktarı üzerine etkisi



Şekil 7.26. Farklı fermantasyon yöntemlerinde şarap üretim prosesinin epikateşin miktarı üzerine etkisi

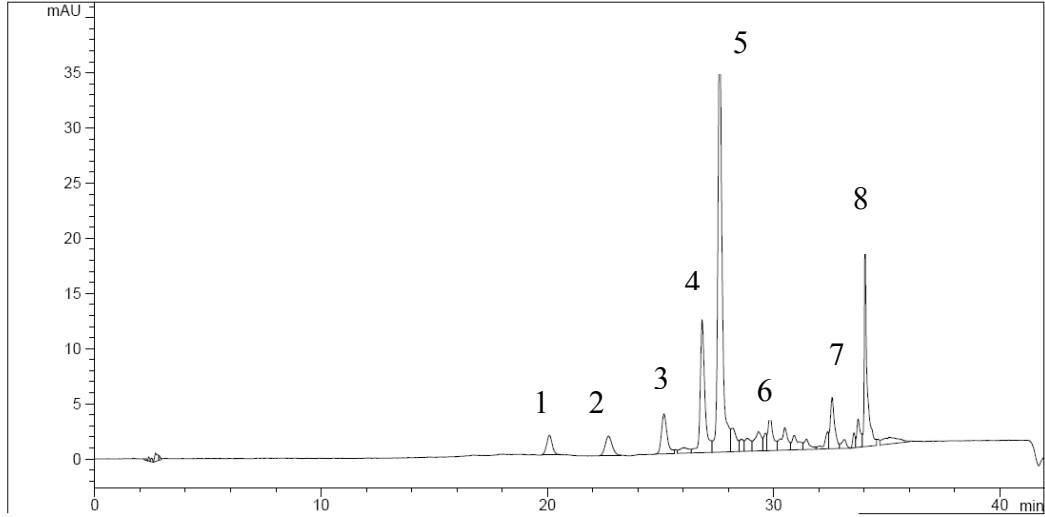
Kateşinler havanın oksijeni ile kolaylıkla reaksiyona girerler, kimyasal ve enzimatik olarak oligomer ve polimerlere kondense olarak proantosiyanidinleri oluştururlar (Wrolstad ve ark. 2005). Cibre fermantasyonu oksijenli ortamda gerçekleştirilmekte bu da epikateşin ve kateşin konsantrasyonlarında düşüşe yol açmıştır. Monomerik flavanoller ve oligomerik ve polimerik proantosiyanidinler asit ortamda reaksiyon oluşturur. Bu reaksiyon, monomerik flavanollerin serbest flav-A-halkası ve proantosiyanidinlerin oligomer ve polimerlerinin daha büyük flavanolleri için spesifiktir (Monas ve ark. 2006). Anaerobik bir ortamda yapılan alkol fermantasyonunda sıcak maserasyon dışında tüm yöntemlerdeki numunelerin konsantrasyonlarındaki azalma, asit ortamda oluşan reaksiyon nedeniyle olabilir. Dinlendirme, durultmada ve olgunlaştırma sürecinde epikateşin ve kateşinde azalma devam etmiştir.

7.7. Uygulanan proseslerin YBSK yöntemi ile belirlenen antosiyanin miktarları üzerine etkisi

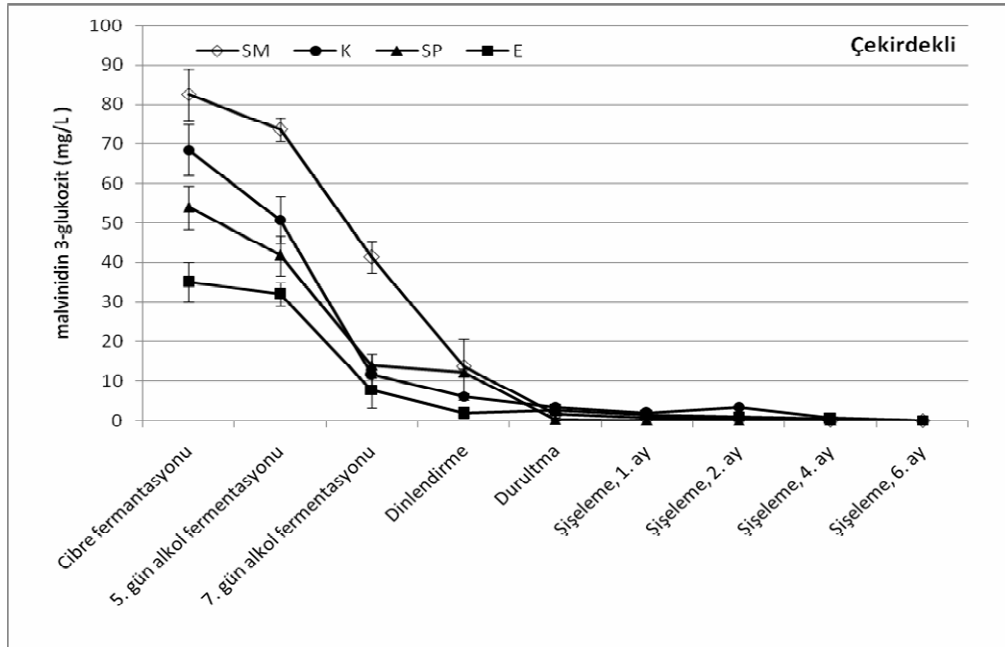
YBSK_DAD yöntemi ile çekirdekli ve çekirdeksiz fermantasyon işlemleri sonucunda elde edilen şarapta, şarabın renginden sorumlu monomerik antosiyanin bileşiklerine ait örnek kromatogram Şekil7.27'de verilmiştir.

Öküzgözü üzümünden elde edilen şarapta yapılan YBSK analizleri sonucunda, şarapta ana bileşenin malvinidin-3-glukozit olduğu görülmüş bu bileşiğin yanı sıra delfinidin-3-glukozit, cyanidin-3-glukozit, peonidin-3 glukozit; petunidin-3-glukozit monomerik glikozitleri ile cyanidin; peonidin, malvinidin aglikonları belirlenmiştir.

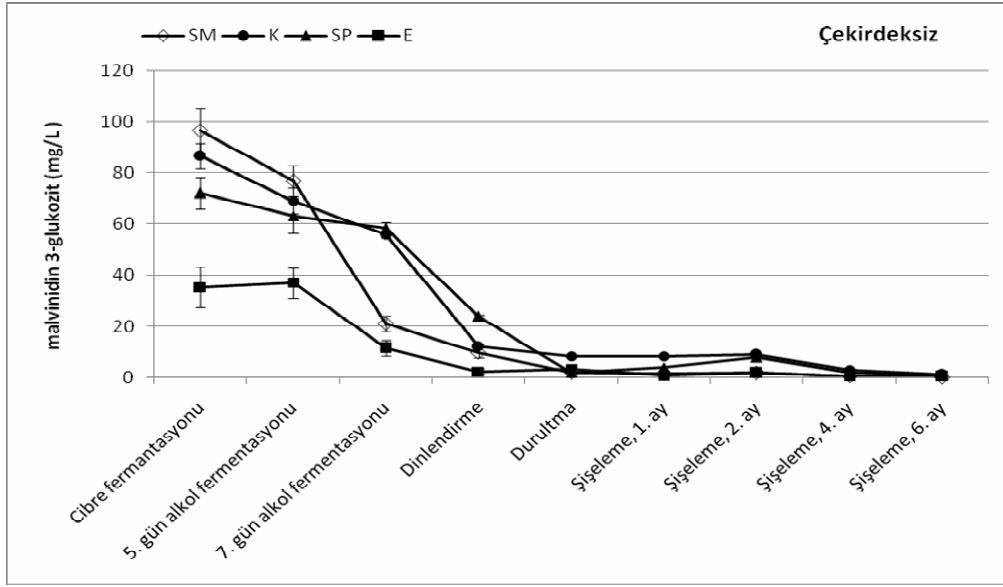
Şarap üretim basamaklarının ve uygulanan fermantasyon yöntemlerinin monomerik antosiyanin miktarına etkisi malvinidin-3-o-glukoziti üzerinden incelenmiştir (Şekil7.28)



Şekil 7.27. Çekirdeksiz fermantasyon yöntemi ile elde edilen şarapta bulunan monomerik antosiyaninlerin YBS Kromatogramı (1.delfinidin-3-glukozit (Df-3-glu); 2. cyanidin-3-glukozit (Cyn-3-glu) 3. peonidin-3 glukozit (Pn-3-glu); 4. petunidin-3-glukozit (Pt-3-glu), 5. malvinidin-3-glukozit (Mvn-3-glu); 6. cyanidin (Cyn); 7. peonidin (Pg), 8. malvinidin (Mvn))



Şekil 7.28. Şarap üretim basamaklarının ve uygulanan fermantasyon yöntemlerinin malvinidin-3-o-glukoziti miktarı üzerine etkisi



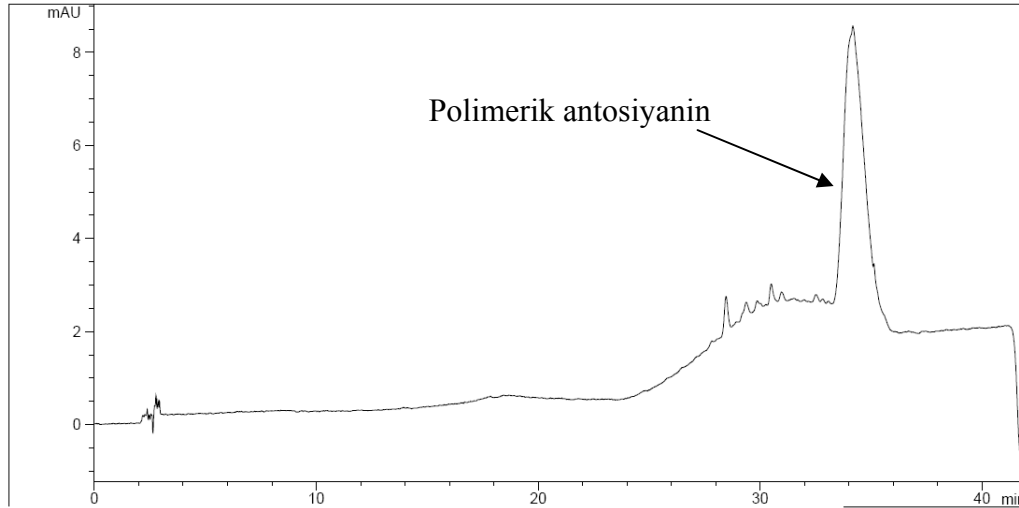
Şekil 7.29. (Devam) Şarap üretim basamaklarının ve uygulanan fermantasyon yöntemlerinin malvinidin-3-o-glukoziti miktarı üzerine etkisi

Cibre fermantasyonu sonrasında sıcak maserasyon ile malvinidin-3-glu miktarının diğer yöntemlere oranla daha yüksek olduğu görülmüş, en düşük değer enzim ilaveli fermantasyon yöntemi ile elde edilmiştir. Daha sonraki basamaklarda malvinidin-3-glu miktarı bütün yöntemlerde sürekli düşüş göstermiştir. Ortamın pH'ı, sıcaklık, oksijen ve ortamda bulunan enzimler antosiyanin stabilitelerine etki eden başlıca parametrelerdir. Şarap üretiminde ise bu parametrelere ilaveten ortamda bulunan diğer fenolik bileşikler (fenolik asitler, flavanoller, flavanoller), alkol derecesi ve SO₂ nin varlığı stabiliteyi etkileyen diğer önemli etkilere sahiptir. Monomerik antosiyaninler fenoliklerle ve asetaldehitlerle reaksiyona girerek yeni kopigmentlerini oluşturabilir. Ortamda bulunan enzimler ve sıcaklık değişimleri ile de polimerik antosiyaninler oluşabilir. Şarap üretiminde yabancı mikroorganizmaların inaktivasyonu amacıyla kullanılan SO₂ antosiyaninlerle reaksiyona girerek renksiz yapıda bileşikler oluşturur.

Antosiyaninlerin stabilitelerini etkileyen bu parametrelerin bazıları kontrol edilebilir olmasına rağmen, şarap üretiminde bazı parametrelerin kontrolü zordur ve engellenemez. Örneğin üretimde kullanılan mayanın spesifik bir pH aralığında çalışması gerekmektedir. Antosiyaninlerin kopigmentlerinin oluşumu

için pH 3-5 Antosiyaninlerin stabilite için optimum pH 1-2 dir. pH 3-5 arasında ise antosiyaninin ana yapısı bozularak yine renkli olan farklı bileşikler (kopigmentler) meydana gelir. Sıcaklık kontrol edilebilir bir parametredir ve bu çalışmada da sıcaklık tüm üretimlerde 25°C da tutulmuştur. Alkol oranı yükseldikçe kopigmentasyon artmaktadır.

Bu çalışmada monomerik antosiyaninlerin değişimleri gözlenmiş olmasına rağmen bozunma ürünleri çok kompleks kimyasal yapılarından dolayı incelenmemiştir. Ancak tüm uygulamalarda, özellikle şarabın dinlendirme aşamasından başlamak üzere şişelendikten sonra 6 ay süreyle incelenen şarap örneklerinde monomerik antosiyaninlerin tamamen bozulup polimerik bileşiklere dönüştükleri gözlenmiştir. Polimerik bileşikler (520 nm de) malvinidin pikinin yanında uygulanan YBSK şartlarında ayrılmadan gelmişlerdir (Şekil 7.29).



Şekil 7.30. Polimerik antosiyanin YBSK kromatogramı

Uygulanan tüm fermantasyon yöntemlerinde monomerik antosiyanin bileşikleri, alkol fermantasyonu sonrasındaki uygulanan şarap üretim prosesinden (dinlendirme, durultma, olgunlaştırma) etkilendiğinden, fermantasyon işleminin bu maddeler üzerindeki etkisi cibre (Çizelge 7.11) ve alkol fermantasyonu (ham şarap) (Çizelge 7.12) sonunda elde edilen ürünlerde incelenmiştir

Çizelge 7.11. Uygulanan fermantasyon yöntemlerinin cibre fermantasyonu sonunda alınan üründe monomerik antosiyanin miktarı üzerine etkisi

	Dp-3-glu	Cy-3-glu	Pt-3-glu	Pn-3-glu	Mv-3-glu
Çekirdekli (mg/L)					
Doğal	1,17	1,75	2,18	5,33	54,00
Klasik	3,20	3,01	7,34	18,32	68,51
Enzim	0,00	0,78	1,70	2,22	35,09
Sıcak maserasyon	8,59	4,33	12,17	21,05	82,57
Çekirdeksiz (mg/L)					
Doğal	2,00	2,52	4,24	10,40	72,01
Klasik	3,96	1,57	7,51	12,22	86,68
Enzim	0,00	4,18	6,00	9,43	35,40
Sıcak maserasyon	10,30	3,32	15,66	21,23	96,39

Çizelge 7.12. Uygulanan fermantasyon yöntemlerinin alkol fermantasyonu sonunda alınan üründe (ham şarap) monomerik antosiyanin miktarı üzerine etkisi

	Dp-3-glu	Cy-3-glu	Pt-3-glu	Pn-3-glu	Mv-3-glu
Çekirdekli (mg/L)					
Doğal	3,84	6,07	7,69	20,56	14,00
Klasik	1,15	0,44	1,63	2,76	11,83
Enzim	0,00	1,04	1,30	1,83	7,70
Sıcak maserasyon	4,63	2,10	6,37	10,32	41,42
Çekirdeksiz (mg/L)					
Doğal	5,40	5,56	9,99	23,31	58,29
Klasik	3,96	1,57	7,51	12,22	55,97
Enzim	0,00	0,78	1,70	2,22	11,63
Sıcak maserasyon	2,28	0,66	4,23	3,56	21,14

Cibre fermantasyonunda delfinidin-3-glukozit en yüksek konsantrasyona sıcak maserasyon uygulamasında ulaşmıştır. Alkol fermantasyonundan sonrada

çekirdeksiz fermantasyon en yüksek konsantrasyonu gösterirken çekirdekli üretimde Doğal fermantasyon delfinidin-3-glukozit konsantrasyonun daha fazla korunduğu gözlenmiştir. Enzim uygulamalı numunelerde delfinidin-3-glukozite rastlanmamıştır.

Cyanidin-3-glukozit cibre fermantasyonu prosesi sonunda enzim ilaveli çekirdeksiz uygulama en yüksek, çekirdekli uygulama ise en düşük değerleri vermiştir. Bu durum alkol fermantasyonu sonunda değişmiş çekirdekli konsantrasyon bir miktar artarken çekirdeksiz uygulamanın değeri diğer yöntemlerdeki cyanidin-3-glukozit değerinin altına düşmüştür. Sıcak maserasyon uygulaması cibre fermantasyonu prosesindeki maksimum çekirdekli uygulama değerine sahiptir. Ancak sıcak maserasyon uygulamasında alkol fermantasyonundan sonra özellikle çekirdeksiz uygulamada önemli bir azalma göstermiştir. Alkol fermantasyonunda çekirdeksiz üretim de doğal uygulamanın cyanidin-3-glukozit değeri yüksektir.

Cibre fermantasyonunda sıcak maserasyon çekirdekli ve çekirdeksiz uygulamalarında petunidin-3-glukozit en yüksek Doğal fermantasyon ise en düşük değerleri vermiştir. Alkol fermantasyonunda ise doğal fermantasyon değerlerinin artış göstererek en yüksek değerleri verdiği enzim ilaveli ham şarapların pt-3-glu değerleri en düşük konsantrasyonu vermiştir.

Sıcak maserasyon yöntemiyle çekirdekli ve çekirdeksiz üretimler için cibre fermantasyonunda en yüksek monomerik antosiyaninler peonidin-3 glukozit ve malvinidin-3-glukozit elde edilmiştir. Cibre fermantasyonu sonunda sıcak maserasyon yönteminde peonidin-3 glukozit çekirdekli uygulamada 21,05 mg/L çekirdeksiz uygulamada 21,23 mg/L, malvinidin-3-glukozit çekirdekli uygulamada 82,57 mg/L çekirdeksiz uygulamada 96,39 mg/L değerlerine ulaşmıştır. Alkol fermantasyonunda ise doğal fermantasyon peonidin-3 glukozit değeri çekirdekli ve çekirdeksizlerde daha yüksek elde edilmiştir (çekirdekli 20,56 mg/L – çekirdeksiz 23,31 mg/L). Malvinidin-3-glukozit ham şaraplarda maksimum konsantrasyonu çekirdeklide (41,42 mg/L)sıcak maserasyonda çekirdeksizde doğal fermantasyonda (58,29 mg/L) göstermiştir. Peonidin-3 glukozit ve malvinidin-3-glukozit için en düşük konsantrasyonlar cibre fermantasyonunda ve ham şaraplarda enzim ilave edilmiş şarap numunelerinde

ortaya çıkmıştır. Enzim ilaveli fermantasyonda cibre fermantasyonu sonunda alınan ürünlerdeki Peonidin-3 glukozit değerleri çekirdeklide 2,22 mg/L çekirdeksiz uygulamada 9,43 mg/L bulunmuştur. Alkol fermantasyonu sonunda Peonidin-3 glukozit değerleri çekirdeklide 1,83 mg/L, çekirdeksizde 2,22mg/L düşmüştür. Cibre fermantasyonu sonunda enzim ilaveli uygulamadan alınan üründe malvinidin-3-glukozit değeri çekirdeklide 35,09mg/L' ham şarapta 7,7mg/L'ye, çekirdeksiz uygulamada ise 35,40mg/L'den 11,63 mg/L değerine düşmüştür.

8. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmada hammadde olarak kullanılan öküzgözü üzüm tanesinin % 7,8'i kabuk, % 2,3'ü çekirdek, % 88,1'nin pulp olduğu bulunmuştur. Şarap üretimi açısından pulp miktarının yüksek olması şıra verimini olumlu etkilemiştir.
2. Öküzgözü üzümünün kabuğunda toplam antosiyanin miktarı 7,8mg Mvd-3-O-glu/100g çekirdeğinde ise toplam fenol bileşikleri 2,2g GAE/100g ve toplam flavanol 7,44 g kateşin/100golarak belirlenmiştir. Çekirdek ve kabuğun birlikte kullanıldığı cibre fermentasyonunda fenolik bileşiklerin ve flavanollerin büyük bir kısmı çekirdekten, sadece kabuğun kullanıldığı çekirdeksiz fermentasyonda antosiyaninlerin büyük bir kısmı da kabuktan elde edilmiştir
3. Üretimde kullanılan şiranın başlangıç pH değeri 3,32'dir. Fermantasyonda önemli bir etken, fermantasyon sıvısının pH'sı yani asitlik durumudur. Mayalar çoğunlukla zayıf asit ortamda gelişebilir. Farklı fermantasyon metotlarının uygulandığı bu çalışmada kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* subsp. NRRL-Y 12632 liyofilize kültürünün cibre fermentasyonunu sağlanabilmesi için başlangıç şirasındaki pH 3,32 değeri uygun olmuştur.
4. Başlangıç sırasında Brix değerinin % 15,5 olduğu bulunmuştur. Bu değer özellikle kullanılan şiranın alkol fermantasyonunda alkol oluşumu için yeterili olduğunu göstermektedir.
5. Şarapların şişelenme öncesinde pH değeri 3,12–3,33 arasında, TA değerleri 6,3–7,8 g/L arasında değişmiş, yoğunluklar arasında önemli bir fark görülmezken Briks değerleri % 5–5,5 arasında bulunmuştur. Prosesler sonunda doğal fermantasyonda alkol oluşumu % 5 oranında kalmış diğer yöntemlerde en yüksek alkol oluşumuna sıcak fermantasyonla %11 ile ulaşılmıştır.
6. Şarabın durultulması amacıyla jelatin çözeltisi kullanılmıştır. Ancak durultma prosesi sonrası analiz edilen fenolik bileşiklerde önemli(p<0,05) azalmalar olmuştur.

7. Farklı yöntemlerle şarap üretiminde farklı proselerde toplam fenolik bileşikler değişim göstermiştir Değerlerdeki farklar istatistiksel açıdan önemli ($p>0,05$) bulunmuştur.
8. Bulunan sonuçlara göre maya ilavesi, maya ve enzim ilavesi, maya ilavesi ve ısı işlem uygulanması, ayrıca proseslerde uygulanan maserasyonlar, kükürt ilavesi, jelatin ilavesi toplam fenolik bileşiklerin miktarının hem yöntem hem de proseslerde farklı sonuçlar göstermesine yol açmıştır.
9. Toplam fenolik bileşenler maksimum değerlerini çekirdek ayrılmadan yapılmış uygulamalarda ve saf kültürün kullanıldığı prosesler de vermiştir.
10. Yöntemlere bakıldığında sırasıyla sıcak maserasyon, klasik fermantasyon, enzim ilaveli ve son olarak doğal fermantasyon yöntemi uygulamasında toplam fenolik bileşen değerlerinin gittikçe azaldığı görülür.
11. Durultma işlemiyle kullanılan durultma ajanı tipi ve konsantrasyonuna bağlı olarak tüm yöntemlerde toplam fenolik bileşen miktarında belirgin azalış ortaya çıkmıştır.
12. Farklı üretim proselerinin uygulandığı yöntemlerde toplam flavanol değerinin istatistiksel açıdan önemli farklar ($p>0,05$) gösterdiği bulunmuştur.
13. Toplam flavanol değeri uygulanan işlemler içinde çekirdekli ve çekirdeksiz olarak en yüksek sıcak maserasyon yönteminde sahip olmuştur.
14. Araştırmalarda yüksek sıcaklık uygulamalarının taneni artırdığı ve bu süreçte kabukların sırayla temas süresinin uzamasının da flavanolleri artırıcı olduğu görülmüştür.
15. Dinlendirme prosesinde antosiyaninler ve tanenler arasında kompleks oluşumu, polifenoller ve asetaldehit arası meydana gelen reaksiyonlar, şarabın olgunlaştırılması boyunca oksijenle teması toplam flavanol miktarını etkilemiştir.
16. Toplam antosiyanin değerlerinde farklı üretim yöntemlerinde prosesler birbirleri içinde önemli farklar göstermişlerdir. Her yöntemdeki çekirdeksiz üretimde bulunan toplam antosiyanin miktarı beklendiği üzere daha yüksektir. Buda üzümün ana antosiyanin bileşiği olan malvinidin-3-

o-glukozitinin kabuk kısmında yoğunlaşmasındandır. Toplam antosiyanin içeriğinde hem çekirdekli hem de çekirdeksiz fermantasyonla üretilen şaraplarda birbirini izleyen proseslerde hızla bir düşüş görülmüştür.

17. Sıcak maserasyon uygulamalı fermantasyon işlemlerinde renk maddelerinin düşük miktarda olması maddelerin sıcaklık ve enzim etkisi ile polimerik antosiyaninlere (lökoantosiyanin) dönüşmesinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Kırmızı şaraptaki asetaldehit ve SO₂ etkisi birbirine bağlıdır ve bunlarda antosiyanini etkiler. Şaraptaki artan SO₂ miktarı pigment ve prosiyanidinlerin polimerizasyonunu yavaşlatır.
18. Enzim ilaveli fermantasyonda ise pektolitik enzim ilavesinin bitki hücrelerinden renk maddelerinin ve çekirdeklerden kateşinlerin ekstraksiyonuna yardımcı olması düşünülmekte idi. Ancak yapılan bu çalışmada bu yöntemle elde edilen toplam monomer antosiyanin miktarları, diğer yöntemlerle elde edilen ürünlerden daha düşük bulunmuştur.
19. Enzimin bu maddelerin diğer maddelerle kondenzasyon reaksiyonunu hızlandırdığı düşünülebilir. Ancak enzim ilaveli fermantasyondan elde edilen ham şarabın renginin berrak kırmızı olması, şaraba rengini veren toplam antosiyanin miktarının az olması ile bir tezat oluşturmaktadır. Bunun da şaraba rengini veren malvinidin-3-O-glukoziti' nin toplam antosiyanin içindeki oranı ile ilgili olduğu düşünülmektedir
20. Farklı yöntemlerle üretilen numunelerde uygulanan işlemlerin antioksidan aktiviteye özellikle çekirdekli ve çekirdeksiz olmanın etkisi görülmüştür. Çekirdekli fermentasyon ile üretilen şarapların antioksidan aktivitesi çekirdeksize göre daha fazla bulunmuştur.
21. Elde edilen ürünlerde antioksidan aktiviteye farklı miktarlarda fenolik bileşen bulunması ve daha fazla, bu bileşenlerin kimyasal yapısı ve şarapta bulunma oranlarının etkisi olduğunu düşünülmektedir.
22. Kırmızı şaraplarda en yüksek antioksidan aktivite değeri bütün proseslerde Sıcak maserasyon yöntemiyle elde edilmiştir. Şarap üreticileri bulanıklık ve tatta meydana gelen olumsuzluklar nedeniyle fenol içeriğini minimize etmekte ancak sağlık koruyucu etkisi düşünüldüğünde daha fazla fenolik

madde sağlamak için bu olumsuzluklar giderilerek, sıcak maserasyon yöntemi şarap üretiminde tercih edilebilir.

23. Yapmış olduğumuz çalışmada antioksidan aktivite değerlerinin büyük oranda toplam fenolik bileşen içeriğiyle korelasyon içinde olduğu görülmüştür .
24. Sadece kabuğun kullanıldığı fermantasyon işlemlerinden elde edilen şarapların fenolik asit ve monomerik antosiyanin bileşiklerince, çekirdeğin kullanıldığı fermantasyon işlemlerinden elde edilen ürünlerin de kateşin türevlerince (kateşin, epikateşin) zengin olduğu görülmüştür.
25. Araştırmacılar şarapların şişede olgunlaştırılmasının, polifenolik içeriğin etkisi üzerine yaptığı çalışmada kateşin konsantrasyonun küçük farklarla sürekli azaldığını belirtmişlerdir. Monomerik ve oligomerik flavanollerin olgunlaştırma boyunca azalmasının, şarapların şişelenerek bekletilmesi boyunca proantasiyanidinlerin interflavanik bağlarının kopmasının bir sonucu olabileceğini, daha küçük boyuttaki polimerlerin oluşmasının son üründe konsantrasyonu artırabileceğini ifade etmişlerdir. Farklı fermantasyon uygulamalarıyla elde edilmiş öküzgözü şarabımızda da şişelendikten sonra kateşin ve türevlerinde azalmalar olmuştur.
26. Hidroksibenzoik asitler (gallik asit, protokateşik asit), Hidroksisinnamik asitler (hidroksi sinnamik asit türevi, klorojenik asit, parakumarik asit, ferulik asit) temelde üzüm kabuğunda lokalize olmuşlardır. Bu nedenle cibre fermantasyonunda en yüksek miktarda bulunmuşlardır.
27. HCA ve HBA üzüm kabuğunun uzaklaştırılmasıyla muhtemelen seyrelmeğe bağlı veya uçucu fenollerin başka biçimde oluşması nedeniyle ya da mayalar tarafında parçalanma sonucunda azalma meydana gelmiştir. Sıcaklığın bu bileşenlerin üzerine etkisi minimum olarak görülmüştür. Presleme, dinlendirme, durultma ve filtrasyon uygulamaları hidroksisinnamik asitleri olumsuz etkilemiştir.
28. Öküzgözü üzümünden elde edilen şarapta yapılan YBSK analizleri sonucunda, şarapta ana antosiyanin bileşenin malvinidin-3-glukozit olduğu görülmüş bu bileşiğin yanı sıra delfinidin-3-glukozit, cyanidin-3-glukozit,

peonidin-3 glukozit, petunidin-3-glukozit, monomerik glikozitleri ile cyanidin, peonidin, malvinidin aglikonları belirlenmiştir.

29. Monomerik antosiyaninler fenoliklerle ve asetaldehitlerle reaksiyona girerek yeni kopigmentlerini oluşturabilir. Ortamda bulunan enzimler ve sıcaklık değişimleri ile de polimerik antosiyaninler oluşabilir. Şarap üretiminde yabancı mikroorganizmaların inaktivasyonu amacıyla kullanılan SO₂ antosiyaninlerle reaksiyona girerek renksiz yapıda bileşikler oluşturur.
30. Antosiyaninlerin stabilitelelerini etkileyen bu parametrelerin bazıları kontrol edilebilir olmasına rağmen, şarap üretiminde bazı parametrelerin kontrolü zordur ve engellenemez. Örneğin üretimde kullanılan mayanın spesifik bir pH aralığında çalışması gerekmektedir. Antosiyaninlerin kopigmentlerinin oluşumu için pH= 3-5 Antosiyaninlerin stabiliteleleri için optimum pH= 1-2 dir. pH 3-5 arasında ise antosiyaninin ana yapısı bozularak yine renkli olan farklı bileşikler (kopigmentler) meydana gelir. Sıcaklık kontrol edilebilir bir parametredir ve bu çalışmada da sıcaklık tüm üretimlerde 25°C da tutulmuştur. Alkol oranı yükseldikçe kopigmentasyonu artırmıştır.
31. Bu çalışmada monomerik antosiyaninlerin değişimleri gözlenmiş olmasına rağmen bozunma ürünleri çok kompleks kimyasal yapılarından dolayı incelenmemiştir. Ancak tüm uygulamalarda, özellikle şarabın dinlendirme aşamasından başlamak üzere şişelendikten 6 ay süreyle incelenen şarap örneklerinde monomerik antosiyaninlerin tamamen bozulup polimerik bileşiklere dönüştükleri gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akman, A.V., Yazıcıoğlu, T. (1960), *Fermantasyon Teknolojisi, Şarap Kimyası Ve Teknolojisi*, A.Ü.Z.F.Yayımları, 604
- Aktan, N., Kalkan, H. (2000), *Şarap Teknolojisi*, Kavaklıdere Eğitim Yayınları , No:4, Ankara.
- Aktan, N., Kalkan, H. (2003), *Kırmızı şaraplarada polifenollerin stabilitesini etkileyen faktörlerin belirlenmesi üzerine araştırmalar*, Proje no:TARP-2135, Ankara
- Anlı, E. (2001), “Anadolu ve şarap”, *Gıda Teknolojisi ve Tarım Dergisi*, **26**(12), 29–30.
- Anlı, R. E. (2004), “Farklı şarap işleme yöntemlerinin Kalecik Karası şarabının fenol bileşimi ve antioksidan kapasitesi üzerine etkisi”, *Gıda Dergisi*, **29** (6), 451–455.
- Altuğ, T. (2001), *Gıda Katkı Maddeleri*, Meta Basımevi, 19–36.
- Anonim (1976), *Şaraplar*, TS521,TSE.
- Anonim (2003), <http://grapestompers.com/articles/stuckfermantation.htm>.
- Anonim (2006), *Recueil des methodes internationales d' analyse des vins et des moûts*, Office International de la Vigne et du vin, Paris, 321 s.
- Anonim, (2007), Glycolsis
<http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/255/255atp/glycolysis.htm>
- Avcı, A. (2004), *Bazı Thermoaerobacter suşlarının etanol üretim oranlarının karşılaştırılması*, Ankara Üniversitesi,
http://papyrus.ankara.edu.tr/tez/FenBilimleri/Yuksekk_Lisans_Tezleri/2004/FY2004_38/ayseavciYLtez.pdf
- Baraowski, E.S. ve Nagel,C.W. (1983), “Kinetics of malvinidin-3-glucoside condensation in wine model systems”, *J.Food Sci.*, **48**, 419-429.
- Bakker, J. (1986), “ HPLC of antocyanins in port wines: determination of ageing rates”, *Vitis*, **25**, 203–214.
- Bakker, J. ve Timberlake, C.F. (1986), “The mechanism of color changes in aging port wine”, *Am.J. Enol.Vitic.*, **37**, 288-292.

- Bilaloğlu, G.V. ve Harmandar M. (1999), *Flavonoidler*, Aktif Yayınevi, 382.
- Bonilla, F.,Mayen, M., Merida, J. ve Medina, M. (1999), ‘‘Extraction of phenolics compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants’’, *Food Chem.*, **66**, 209-215.
- Cabaroğlu, T., Canbaş, A, Gnata, Z. ve Bayonove,C. (1999), ‘‘Emir zmnn şaraba işlenmesinde saf maya(Saccharomyces cerevisiae-K1) kullanımının aroma maddelerini üzerine etkisi’’, *Tr.Journal of Agriculture and Forestry*, **23**(1), 137-143.
- Castillo-Sa’nchez, J. J., Mejuto, J. C., Garrido, J., ve Garcia-Falcon, S. (2006), ‘‘Influence of wine-making protocol and fining agents on the evolution of the anthocyanin content, colour and general organoleptic quality of Vinhao wines’’, *Food Chem.*, **97**, 130–136.
- Cemeroğlu, B. (1982), *Meyve Suyu retim Teknolojisi*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Yayını
- Cemeroğlu, B., Acar. J. (1986), *Meyve Ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:6.
- Cemeroğlu. A.P ve Cemeroğlu, B.S. (1998), ‘‘Sağlık açısından gıda fenolikleri’’, *Gıda Teknolojisi*, **3**(9), 52–55.
- Choi, Y.S., Lee, B.N., Kim, J.H. ve Kim, N.S. (2000), ‘‘Concentration of phytoestrogens in soy beans and soybean products in Korea’’, *J. Sci.Food. Agri.*, **80**, 1709-1712
- abuk, B., Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, [http://papyrus.ankara.edu.tr/tez/FenBilimleri/YukseK_Lisans_Tezleri/2004/FY2004_130/yukseK_lisans_tezi_\(fen_bilimleri_enstitusu\)_Burcak_CABUK.pdf](http://papyrus.ankara.edu.tr/tez/FenBilimleri/YukseK_Lisans_Tezleri/2004/FY2004_130/yukseK_lisans_tezi_(fen_bilimleri_enstitusu)_Burcak_CABUK.pdf)
- akmakı, S. ve elik, İ. (1994), *Gıda Katkı Maddeleri*, Atatürk Üniv.Ziraat Fak. Yayınları, Erzurum, No:164, 59–74.
- elik, H. (2002), *zm çeşit Kataloğu*, Sun Fidan A.ř., Mesleki Kitaplar Serisi no:2, 137.
- Dallas, C. ve Laureano, O. (1994), ‘‘Effect of SO₂ on extraction of individual anthocyanins and coloured matter of three Portuguese grape varieties during winemaking’’, *Vitis*, **33**, 41-47

- Dallas, C. ve Laureano, O. (1994), "Effects of pH, sulphur dioxide, alcohol content, temperature and storage time on colour composition of a young Portuguese red table wine". *Journal of the Science of Food and Agri.*, **65**, 477–485.
- Davalos, A., Bartolome, B., Gomez-cordoves, C. (2004), "Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars", *Food Chem.*
- DeBeer, D., Joubert, E., Gelderblom, W.C.A. ve Manley, M. (2005), "Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines and selected phenolic compounds: in vitro inhibition of microsomal lipid peroxidation", *Food Chem.*, **90**, 569-577.
- Dell'Agli, M., Busciala, A. ve Bosisio, E. (2004), "Vascular effects of wine polyphenols", *Cardiovascular Research*, **63**(4), 593-602.
- De Lange, D.W. (2007), "From red wine to polyphenols and back: A journey through the history of the French Paradox", *Thrombosis Research*, **119**, 403–406.
- Deryaoğlu, A. ve Canbaş, A. (2003), "Elazığ yöresi öküzgözü üzümlerinde olgunlaşma sırasında meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler", *Gıda Dergisi*, **28**(2), 131–140.
- Deryaoğlu, A. ve Canbaş, A. (2004), "Elazığ yöresi boğazkere üzümlerinde olgunlaşma sırasında meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler", *Gıda Dergisi*, **29**(1), 105–114.
- Duran, M. (2003), *Üzüm etüdü*, İTO Dış Ticaret Araştırma Servisi.
- Ertugay, Z., Kurt, A., Elgün, A. ve Gökalp, H.Y (1994), "Fermantasyon teknolojisi", *Gıda Bilimi ve Teknolojisi*, Atatürk Üniversitesi Yayınları no:671, Erzurum, 305-368.
- Frankel, E.N. ve Meyer, A.S. (2002), "The problems of using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants", *J.Sci.Food Agric.*, **80**, 1925-1941.
- Floyd, R. (1990), "Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia", *Faseb J.*, 2587-2597.
- Gao, L., Girard, B., Mazza, G., ve Reynolds, A. G. (1997), "Changes in anthocyanins and color characteristics of Pinot Noir wines during

- different vinification processes”, *J. Agri. and Food Chem.*, **45**, 2003–2008.
- Gil-Munoz, R., Gomez-Plaza, E., Martinez, A. ve Lopez-Roca, M. (1999), “Evolution of phenolic compounds during wine fermentation and post-fermentation: influence of grape temperature”, *Journal of Food Composition and Analysis*, **12**, 259-272.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M. Ve Zorba, Ö. (1997), *Et Ürünleri İşleme Mühendisliği*, Atatürk Üniv. Yayınları.
- Gökalp, H.Y., Nas, S. ve Certel, M. (2002), *Biyokimya; Temel Yapı ve Kavramlar*, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Matbaası, Denizli, Ders kitapları yayın no:001, 347-359.
- Gözükara, E. (2001), *Biyokimya Cilt-2*, Nobel Tıp Kitabevleri 4.baskı.
- Griffith, A.P., ve Collion, MW (2001), “Improved methods for the extraction and analysis of isoflavones from soy-containing foods and nutritional supplements by reversed phase high performance liquid chromatography and liquid chromatography –mass spectrometry”, *J.Chromatogr.A.*, **913**, 397-413.
- Guendez, R., Kallithraka, S., Makris, D.P. ve Kefalas, P. (2005), “Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: correlation with antiradical activity”, *Food Chem.*, **89**(1), 1-9.
- Gu, L. ve Gu, W. (2001), “Characterisation of soy isoflavones and screening of novel malonyl glycosides using high performance liquid chromatography-electrospray ionisation- mass spectrometry”, *Phytochem.Anal.*, **12**, 377-382 .
- Gümrükçüoğlu, A., Onur, M. A. (2006), *Serbest radikaller*, <http://www.bioclub.hacettepe.edu.tr/makales/fizyo/05.htm>
- Güven, S. (2003), “Şarap üretimindeki alkol fermantasyonunda görülen duraklamalar”, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, No:15, 12–17.
- Hoff, J.-F. ve Singley, T.-J. (1977), “A method for determination of tannin in foods by means of immobilized enzymes”, *Journal of Food Science*, **42**, 1956.

- Huang, M., Ho, C. ve Lee, C (1992), “Phenolic compounds in food: an overview”, *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I*, American Chemical Society, 2-8.
- Jacobs, M.B. ve Robert, E. (1973), *The Chemical Analysis of Foods and Food Products*,. Krieger Publishing Co.,USA., 259-260.
- Karabayır, C. (2005), *İhracatı geliştirme etüt merkezi şarap sektör araştırması*, T.C.Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı, Araştırma ve Geliştirme Başkanlığı Tarım Dairesi, İGEME.
- Karadeniz, F. ve Ekşi, A. (2002), “Gıdalardaki başlıca fenolik bileşikler”, *Gıda Dergisi*, 80–85.
- Katalinic, V., Modun, D., Music, I. ve Boban,M. (2004), “Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin”, *Food Chem.*, **86**, 593-600.
- Kennedy, J.A. (1987), Proantocyanidins in *Vitis vinifera* L.C.V, Cabernet Sauvignon Berries Changes Durin Fruit Ripening, Doctor of philosophy thesis of the University of California.
- Keskin, H. (1975), *Gıda Kimyası*, Şirketi Mürettibiye Basımevi, İstanbul,48–49.
- Kılıç, O. (1990), *Alkollü İçkiler Teknolojisi*, Uludağ Üniversitesi Yayınları, no;.7–023–0199, 86-164.
- Köseoğlu, S.S., Rhee, K.C.,Wilson ve R.F. (1996), “Advances in oils and fats antioxidants and oilseeds by products”, İstanbul, 244.
- Lotito, S.B., Actis-Goretta, L., Renart, M.L., Caligiuri, M., Rein, D., Schmitz, H.H., Steinberg, F.M., Keen, C.L. ve Fraga, C.G. (2000), “Influence of oligomer chain length on the antioxidant activity of procyanidins”, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **276**(3), 945-951.
- Louli,V., Ragoussis, N. ve Magoulas, K. (2004), “Recovery of phenolic antioxidant from wine industry by-products”, *Bioresouce Tech.*, **92**, 201-208.
- Lu, Y. ve Foo, L.Y. (2000), “Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace”, *Food Chem*, **68**(1), 81–85.
- Makascioğlu, F., Dik, T, Kıncal, N.S., (2007), “Üzüm cibresindeki antioksidanların sap,kabuk ve çekirdek arasındaki dağılımı”, *4.Ulusal*

- Meslek Yüksekokulları Sempozyumu Bildiriler Kitabı* (Ed:Kırtay,E., Dirgar, E., Meriç, K.), Ege Üniversitesi Yayını,İzmir, 460-463
- Main, G., Morris, J.R. (1991), “Color of Riesling and Vidal wines as affected by bentonite, cufex, sulfur dioxide juice treatments”, *Am.J.Enol.Vitic.*, **42**(4), 354-356 .
- Makris, D.P., Kallthra, S. ve Kefalas, P (2006), “Flavonols in grapes, grape products and wines:Burden, profile and influential parameters”, *J. Food Comp.and Analysis*, **19**, 396-404.
- Mağden, H. (1990), *Alkolometreler Ve Alkol Tabelaları*, Tekel Enstitüleri Yayını, No;361 EM/37.
- Mağden, A. (1993), *Şarap Analiz Yöntemleri*,Tekel Enstitüleri Yayını
- Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C.(2005), “Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I.Review of 97 bioavailability studies”, *Am J Clin Nutr.*,**81**, 23– 42.
- Markham, K.R. (1982), Technics of flavonoid identification, *Academic Pres*, 1-13, London.
- Matejicek, D., Mikes, O., Klejdus, B., Sterbova, D. ve Kurban, V. (2005), “Changes in contents of phenolic compounds during maturing of barrique red wines”, *Food Chem.*, **90**(4), 791-800.
- Minussi, R.C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G.M. ve Duran, N. (2003), “Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines”, *Food Chem.*, **82**, 409-416.
- Monagas, M., Gomez-Cordaves, C. Ve Bartolome, B.(2006), “Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera L.*, during ageing in bottle”, *Food Chem.*, **95**, 405-412.
- Montealegre, R.R., Peces, R.R., Vozmediano, J.L.C., Gascuena, J.M. ve Romero, E.G., (2006), “ Phenolic compounds in skin and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in warm climate”, *J. Food Comp.and Analysis*, **19**, 687-693.
- Morata, A., Gomez-Cordaves, M.C., Calderon, F. ve Suarez, J.A.(2006), “Effect of pH, temperature and SO₂ on the formation of pyranoanthocyanins

- during red wine fermentation with two species of *Saccharomyces*”, *International J.of Food Microbiology*, **106**, 123-129.
- Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, A., Nuncz, M.J. ve Parajo, J.C. (2001), “Natural antioxidants from residual sources”, *Elsevier Science Publishers*, **72**, 145-171.
- Nakamura, Y., Tsuji, S. ve Tonogai, Y. (2003), “Analysis of proanthocyanidins in grape seed extarcts, health foods and grape seed oils”, *Journal of Health Science*, **49**(1), 45-54 .
- Negro, C., Tommasi, A. ve Micelli, A. (2003), “Phenolic compounds and antioxidant activitiy from red grape marc extracts”, *Bioresource Tech.*, **87**, 41-44.
- Netzel, M., Strass, G., Bitsch, I., Könitz, R., Christmann, M. ve Bitsch, R. (2003), “Effect of grape processing on selected antioxidant phenolics in red wine”, *J. Of Food Eng.*, **56**, 223-228.
- Nicoli, M.C., Manzocco, L. ve Calligaris, S. (2000), “Effect of enzymatic and chemical oxidation on the antioxidant capacity of catechin model systems and apple derivatives”, *J. Agri. and Food Chem.*, **48**, 4576–4580.
- Oktay, M., Gülçin, İ. ve Küfrevioğlu, Ö.İ. (2003), “Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts”, *Lebensm- Wiss.U.-Techn*, **36**, 263-271.
- Ough, C.S., Amerine, M.A. (1988), *Methods for analysis of musts and wines*, A Wiley-Interscience Publication, 2.nd edition, Canada, 367.
- Pamir, H. (1985), *Fermantasyon Mikrobiyolojisi*, Ankara Üniversitesi ziraat fakültesi yayınları No.936, Ders Kitabı:267.
- Parley, A. (1997), The Effect of Pre-Fermentation Enzyme Maceration on Extraction and Colour Stability in Pinot noir Wine, Lincoln University, MSc. Thesis
- Parley, A. (1999), *Part II. Technology of Red Wine Vinification*, M.Appl.Sci., Voodoo and Art Of Red Wine Making, USA.
- Perez-Lamela, C., Garcia-Falcon, M. S., Simal-Gandara, J. ve Orriols-Fernandez, I. (2007), “Influence of grape variety, wine system and enological

- treatments on the colour stability of young red wines”, *Food Chem.*, **101**, 601–606.
- Philpott, M. ve Ferguson, L.R. (2004), “Immuno nutrition and cancer”, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **551**(1–2), 29–42.
- Pinelo, M. Del Fabbro, P., Manzocco, L., Nunez, M.J. ve Nicoli, M.C. (2005), “Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* by products”, *Food Chem.*, **92**(1), 109-117.
- Pour Nikfardjam, M.S., Mark, L., Avar, P., Figer, M. ve Ohmacht, R. (2006), “Polyphenols,anthocyanins, and trans-resvetrol in red wines of the Hungarian Villany region”, *Food Chem.*, **98**, 453-462.
- Ramos, T., Fleuriet, A., Rascalou, M. ve Macheix, J.J. (1993), “The effect of anaerobic metabolism of grape berry skins on phenolic compounds”, *Am.J.Vitic.*, **44**(1), 13-16
- Renaud S ve de Lorgeril M. (1992), “Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease”, *Lancet*, **339**,1523–1526.
- Rice-Evans, C.A., Packer, L (1998)., *Flavonoids in Health and Disease*, Marcel Dekker.Inc.,USA.,35-59.
- Rice-Evans, C. (2001). “Flavonoid antioxidants”, *Current Medicinal Chemistry*, **8**, 797–807.
- Risch, S.J., Ho,C. (1997), “Spices flavor chemistry antioxidant properties”, *Ame.Chem.Society*, ACS symposium series, No:660, Washington DC.,177.
- Rivas-Gonzalo, J.C., Bravo-Haro, S., ve Santos-Buelga,C. (1995), “Detection of compounds formed through the reaction of malvinidin-3-monoglucoside and catechin in prensence of acetaldehyde”, *J.Agric.Food Chem.*, **43**, 1444-1449.
- Saldamlı, İ.(1985)., *Gıda Katkı Maddeleri Ve İngredientler*, Hacettepe Üniv.,81-91,
- Saldamlı, İ.(1998)., “Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri”, *Gıda Kimyası*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 435-452.

- Sanchez, M.C., Larrauri, J.A. ve Saura, C.F. (1998), "A procedure to measure antiradical efficiency of polyphenols", *J.Sci.Food Agric.*, **76**, 270-276.
- Sellappan S. ve Akoh, C.C. (2002), "Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries", *J. Agri. and Food Chem.*, **50**, 2432-2438.
- Shahidi, F. ve Naczk. M. (1995), *Food Phenolics, Sources Chemistry Effects. Application*, Technomic, USA.
- Shahidi, F. ve Naczk, M. (2003), *Phenolics in Food and Nutraceuticals*, CRC Press.
- Shi, J., Mazza, G. ve Le Maguer, M. (2002), *Functional Foods Biochemical and Processing*, CRC Press, **2**, 71-133.
- Sims, C.A. ve Bates, R.P. (1994), "Effect of skin fermentation time on the phenols, anthocyanins, ellagic acid sediment and sensory characteristics of red Vitis rotundifolia wine", *Am.J.Enol.Vitic*, **45**(1), 56-62.
- Singleton, V.L. (1987), "Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines and model systems: Observations and practical implications", *Am.J.Enol.Vitic.*, **38**, 69-77.
- Somers, T.C., ve Westcombe, L.G. (1982), "Red wine quality: The critical role of SO₂ during vinification and conservation", *Aust.Grapegrow Winemaker* **220**, 68-74.
- Somers, T.C. ve Evans, M.E. (1986), "Evolution of red wines I. Ambient influences on colour composition during early maturation", *Vitis*, **25**, 31-39.
- Şahin, İ., (1995), *Endüstriyel Mikrobiyoloji*, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ders notları, No:64.
- Tangolar, S., Ergenoğlu, F. ve Gök, S. (1996), *Üzüm Çeşitleri Kataloğu*, Çukurova Üniv.Ziraat Fak.Yardımcı Ders Kitapları, No:29, Ç.Ü.Ziraat F.Ofset Atölyesi.
- Tanlası, A. ve Karacan, H. (2001), "Nar şarabı", *Gıda Teknolojisi ve Tarım Dergisi*, **26** (12), 26-27.
- Telli R. (2000), *Alkollü İçecekler Teknolojisi*, Süleyman Demirel Üniversitesi Ders Kitapları, 55-60.

- Tilmaç, F., Çakar, M. (2003), *Fransa, İsviçre, İtalya'da Şarapçılık ve Türkiye Modeli*, İstanbul Ticaret Odası, Yayın No:2003-48.
- Tosun, İ., Yüksel, S. (2003), “Üzüm meyvelerinin antioksidan kapasitesi”, *Gıda dergisi*, **28**(3), 305-311.
- Wanasundra, U.N., Shahidi. F.(1998), “Antioxidant and prooxidant activity of green tea extracts in marine oils”, *Food Chem.*, **63** (3) ,335–343.
- Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker,E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D ve Sporns, P. (2005), “Polyphenolics”, *Handbook of Food Analytical Chemistry vol. II*, JohnWiley& Sons Inc., New Jersey, 61-535.
- Yen, G.C. ve Hung, C.Y. (2000), “Effects of alkaline and heat treatment on antioxidative activity and total phenolics of extracts from Hsian –tsao (*Mesona Procumbens Hemsl.*)”, *Food Research International*, **33**, 487–492.
- Yıldız, H., Baysal, T.(2003), “Bitkisel fenoliklerin kullanım olanakları ve insan sağlığı üzerine etkileri”, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, No:14, 29 - 36.
- Yılmaz, Y. ve Toledo, R.T. (2003), “Health aspect of functional grape seed constituents”, *Trends in Food Sci.&Tech.*, **15**, 422-433.
- Yılmaz, Y. ve Toledo, R.T. (2004), “Major flavonoids in grape seeds and skins: Antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid”, *J. Agri. and Food Chem.*, **52**, 255–260.
- Yücel, U.(1992), Ege bölgesinde üretilen bazı üzüm çeşitlerinden maserasyon karbonil yöntemi ile şarap üretimi üzerine araştırmalar, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.