

Spontan ve Saf Maya Fermentasyonunun Karalahna ve Cabernet Sauvignon Üzümlerinden Elde Edilen Şarabın Uçucu Bileşik, Fenolik Madde ve Antosiyaninleri Üzerine Etkisi ve Spontan Fermentasyonda Rol Alan Mayaların Tanımlanması

Program Kodu: 1001

Proje No: 114O431

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU

Araştırmacılar:

Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER

Yrd. Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY

Dr. Mustafa AY

Aslı BAYHAN, Önolog

Bursiyerler:

Burcu ŞİŞLİ

Nesrin Merve ÇELEBİ

TEMMUZ 2016
ANKARA

Önsöz

Son zamanlarda şarapçılıkta kalite kavramının öne çıkmasıyla birlikte, şarap üreticileri, ticari mayalar kullanılarak standart kalitede ve zayıf duyuşal özellikte sıradan şaraplar üretmek yerine, doğal yöntemlerle yüksek tat ve aroma özelliklerine sahip kaliteli şarap üretimine yönelmeye başlamışlardır. Bu kapsamda, yöre-çesit ilişkisi ve özellikle doğal (spontan) fermentasyon tekniğıyle veya üzümlerin yetiştiğı bağlardan yerel maya suşlarının izole edilerek şarap üretiminde kullanılması üzerinde çalışmalar önem kazanmaya başlamıştır. Çanakkale, bağ alanları ve şaraplık üzüm çeşitleri açısından Türkiye' nin önemli illerinden birisidir. Ancak bu bölge üzümleri ve şaraplarının kalitesini ortaya koyan çalışma sayısı son derece sınırlı olup, gerçekleştirilen bu proje ile bu önemli eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, proje kapsamında Çanakkale' ye özgü yerli siyah üzüm çeşidi olan Karalahna ile yabancı menşeli siyah üzüm çeşidi olan Cabernet Sauvignon üzümlerinden spontan (doğal) ve saf maya fermentasyon teknikleri ile kırmızı şarap üretimleri gerçekleştirilmiş ve iki farklı üretim sırasında şaraplardaki uçucu bileşikler ile fenolik madde ve antosiyaninlerdeki değişimler ayrıntılı bir şekilde saptanmıştır. Ayrıca, spontan fermentasyondan sorumlu mayalar izole edilip moleküler düzeyde tanımlanarak, üzümlerin yetiştiğı bölgeye özgü doğal maya florası belirlenmiştir. Böylece bu mayaların, her iki üzüm çeşidinden elde edilen şarapların uçucu bileşenleri, fenolik bileşikleri ve genel lezzet özellikleri gibi temel kalite özelliklerini nasıl etkilediğı ortaya konmuştur.

Bu proje Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliğı Bölümü Yüksek lisans öğrencileri Nesrin Merve ÇELEBI ve Burcu ŞİŞLI' nin tez çalışmalarını kapsamaktadır.

Proje, **Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından, 1001 - Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı** (Proje No: 114O431) kapsamında desteklenmiştir. Projenin gerçekleştirilmesi için maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na ve proje ekibinde yer alan ve emeğı geçen Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER'e, Yrd. Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY'a, Dr. Mustafa AY'a, Önolog Aslı BAYHAN'a ve bursiyerler Nesrin Merve ÇELEBI ve Burcu ŞİŞLI'ye çok teşekkür ederim.

Prof. Dr. Ayşegül Kırca TOKLUCU

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER DİZİNİ	i
TABLolar DİZİNİ	ii
ABSTRACT	iv
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1 Çanakkale bağcılık ve şarap üretimi	4
2.2 Spontan fermentasyonla şarap üretimi ve mayaların tanımlanması	4
2.3 Şarapta uçucu bileşenlerin önemi ve fermentasyon tekniği ile ilişkisi	6
2.4 Şarapta fenolik maddelerin önemi ve fermentasyon tekniği ile ilişkisi	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1 Üzümler	13
3.2 Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	13
3.3 Şarapların Üretimi	14
3.4 Şıra ve Şarapta Gerçekleştirilen Analizler	16
3.4.1 pH Tayini	17
3.4.2 Toplam Asitlik	17
3.4.3 Kurumadde Tayini	17
3.4.4 Kül Tayini	17
3.4.5 İndirgen Şeker Tayini	17
3.4.6. Toplam Fenolik Madde Tayini	18
3.4.7 Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini	18
3.4.8 Renk Yoğunluğu ve Renk Tonu Tayini	19
3.4.9. Yoğunluk Tayini	19
3.4.10 Alkol Tayini	20
3.4.11 Uçar Asit Tayini	20
3.4.12 Serbest ve Toplam SO ₂ Tayinleri	20
3.4.13 Antosiyanin Bileşiklerinin Belirlenmesi	20
3.4.14 Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi	22
3.4.15 Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi	24
3.4.16 Duyusal Analizler	26
3.4.17 Spontan Fermentasyonda Yer Alan Mayaların İzolasyonu ve Moleküler Düzeyde Tanımlanması	27
3.4.18 İstatistiksel Analizler	31

4. BULGULAR VE TARTIŞMA	32
4.1. Şıraların Özellikleri	32
4.1.1 Şıraların Genel Bileşimi	32
4.1.2 Şıraların Antosiyanin Kompozisyonu	34
4.1.3 Şıraların Fenolik Madde Kompozisyonu.....	37
4.1.4 Şıraların Uçucu Bileşen Kompozisyonu	38
4.2 Mayşe Fermentasyonunun Takibi	43
4.3 Şarapların Özellikleri.....	44
4.3.1 Şarapların Genel Özellikleri	44
4.3.2 Şarapların Renk Özellikleri ve Antosiyanin Kompozisyonları	46
4.3.2.1 Şarapların Renk Özellikleri	46
4.3.2.2 Şarapların Antosiyanin Kompozisyonları	49
4.3.3 Şarapların Fenolik Bileşikleri.....	54
4.3.3.1 Şarapların Toplam Fenolik Madde Miktarları.....	54
4.3.3.2 Şarapların Fenolik Madde Kompozisyonları.....	55
4.3.4 Şarapların Uçucu Bileşen Kompozisyonları	58
4.3.5. Şarapların Duyusal Özellikleri	73
4.3.6. Spontan Fermentasyonda Yer Alan Mayaların İzolasyonu ve Moleküler Düzeyde Tanımlanması.....	76
5. SONUÇ.....	84
6. KAYNAKLAR	88
7. EKLERİ.....	99
EK 1. Şarap Üretimlerine İlişkin Görseller.....	99
EK 2. Antosiyanin Bileşiklerinin Standart Eğrileri.....	105
EK 3. Fenolik Bileşiklerin Standart Eğrileri	107
EK 4. Cabernet Sauvignon Şıra ve Şarap Örneklerinin Fenolik Madde Kromatogramları	110
EK 5. Karalahna Şıra ve Şarap Örneklerinin Fenolik Madde Kromatogramları	116
EK 6. Cabernet Sauvignon Şıra ve Şarap Örneklerinin Antosiyanin Kromatogramları	121
EK 7. Karalahna Şıra ve Şarap Örneklerinin Antosiyanin Kromatogramları.....	125
EK 8. Cabernet Sauvignon Şıra ve Şarap Örneklerinin GC-MS Kromatogramları.....	127
EK 9. Karalahna Şıra ve Şarap Örneklerinin GC-MS Kromatogramları.....	130

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1 Malolaktik fermentasyon takibinde değerlendirilen kağıt kromatogram örnekleri	15
Şekil 3.2. Spontan ve ticari maya fermentasyon teknikleri ile şarap üretimi akım şeması .	16
Şekil 3.3. Toplam fenolik madde tayini için oluşturulan gallik asit standart eğrisi	18
Şekil 3.4. Malvidin-3-glikozit için oluşturulan standart eğri.....	22
Şekil 3.5 HPLC’de hazırlanan gallik asit standart eğrisi	24
Şekil 3.6 Şarapların duyuusal değerlendirilmesinde kullanılan skor kağıdı örneği	26
Şekil 4.1. Cabernet Sauvignon şirasına ait 520 nm’de HPLC kromatogramı	35
Şekil 4.2. Karalahna şirasına ait 520 nm’de HPLC kromatogramı	35
Şekil 4.3. Alkol fermentasyonu gidişi (Cabernet Sauvignon)	43
Şekil 4.4. Alkol fermentasyonu gidişi (Karahahna)	44
Şekil 4.5. Cabernet Sauvignon şarabına ait 520 nm’de HPLC kromatogramı örneği	50
Şekil 4.6. Karalahna şarabına ait 520 nm’de HPLC kromatogramı örneği	50
Şekil 4.7 Spontan ve ticari maya fermentasyonu ile üretilen Cabernet Sauvignon şarapların duyuusal profilleri.....	75
Şekil 4.8 Spontan ve ticari maya fermentasyonu ile üretilen Karalahna şarapların duyuusal profilleri	76
Şekil 4.9 Spontan fermentasyon uygulanan şarap örneklerinden elde edilen bazı maya izolatları	77
Şekil 4.10 Genomik DNA’ların %1’lik agaroz jeldeki örnek görünüşleri.....	78
Şekil 4.11 PCR ürünlerinin % 2’lik agaroz jeldeki görünüşleri.....	79
Şekil 4.12 Restriksiyon enzim kesim ürünlerinin % 2’lik agaroz jeldeki görünüşleri.....	80
Şekil 4.13 Restriksiyon enzim kesim ürünlerinin % 2’lik agaroz jeldeki görünüşleri.....	80
Şekil 4.14 Restriksiyon enzim kesim ürünlerinin % 2’lik agaroz jeldeki görünüşleri.....	81
Ek 5.1. Maserasyon öncesi şiranın fenolik madde kromatogramları.....	116
Ek 5.2. Maserasyon sonrası şiranın fenolik madde kromatogramları.....	117
Ek 5.3. Spontan ham şarapların fenolik madde kromatogramları	118
Ek 5.4. Ticari mayalı ham şarapların fenolik madde kromatogramları	119
Ek 5.5. Ticari mayalı şarapların fenolik madde kromatogramları	120
Ek 5.6. Spontan şarapların fenolik madde kromatogramları	121
Ek 7.1. Maserasyon öncesi şiranın antosiyanin kromatogramı	125
Ek 7.2. Maserasyon sonrası şiranın antosiyanin kromatogramı	125
Ek 7.4. Ticari mayalı ham şarapların antosiyanin kromatogramı.....	126
Ek 7.5. Spontan şarapların antosiyanin kromatogramı	126
Ek 7.6. Ticari mayalı şarapların antosiyanin kromatogramı.....	127
EK 9.1. Maserasyondan önce şiranın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (KL)	130

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar ve özellikleri.....	13
Tablo 3.2 Antosiyaninler için mobil faz gradient akış profili.....	21
Tablo 3.3 Fenolik bileşikler için mobil faz gradient akış profili	23
Tablo 3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonunda kullanılan primer isimleri ve baz dizileri	29
Tablo 3.5 ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin çoğaltılması amacı ile uygulanan PCR bileşenleri ve konsantrasyonları	29
Tablo 3.6 ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin çoğaltılmasında uygulanan PCR programı.....	29
Tablo 3.7 ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin restriksiyon enzim kesiminde kullanılan reaksiyon bileşenleri	30
Tablo 4.1. Cabernet Sauvignon şirasının bazı özellikleri	32
Tablo 4.2. Karalahna şirasının bazı özellikleri	33
Tablo 4.3 Şıraların antosiyanin kompozisyonu	36
Tablo 4.4. Şıraların fenolik madde kompozisyonu.....	37
Tablo 4.5 Cabernet Sauvignon şirasının uçucu bileşen kompozisyonu.....	39
Tablo 4.6 Karalahna şirasının uçucu bileşen kompozisyonu.....	41
Tablo 4.7 Cabernet Sauvignon şarapların genel özellikleri	45
Tablo 4.8 Karalahna şarapların genel özellikleri	45
Tablo 4.9 Cabernet Sauvignon şaraplarının renk özellikleri	46
Tablo 4.10 Karalahna şaraplarının renk özellikleri	47
Tablo 4.11 Cabernet Sauvignon şarapların antosiyanin kompozisyonları	51
Tablo 4.12 Karalahna şarapların antosiyanin	52
Tablo 4.13 Şarapların toplam fenolik madde içerikleri	55
Tablo 4.14 Cabernet Sauvignon şarapların fenolik madde kompozisyonları.....	56
Tablo 4.15 Karalahna şaraplarının fenolik madde kompozisyonları	56
Tablo 4.16 Cabernet Sauvignon şarapların uçucu bileşen kompozisyonları	59
Tablo 4.17 Karalahna şarapların uçucu bileşen kompozisyonları	65
Tablo 4.18 Cabernet Sauvignon şaraplarının duyuşal profilleri	73
Tablo 4.19 Karalahna şaraplarının duyuşal profilleri	74

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, spontan ve ticari maya fermentasyon tekniklerinin Cabernet Sauvignon (CS) ve Karalahna (KL) üzümlerinden elde edilen kırmızı şarapların antosiyaninleri, fenolikleri, uçucu bileşenleri ve duyuşal profilleri üzerine etkilerini belirlemek ve spontan fermentasyondan sorumlu mayaları izole ederek moleküler düzeyde tanımlamaktır. Antosiyanin ve fenoliklerin dağılımı ve konsantrasyonları HPLC-PDA ile belirlenmiş, uçucu bileşenler ise GC-MS ile tanımlanarak miktarları hesaplanmıştır.

CS ve KL genç şaraplarının TMA miktarları malvidin-3-glukozit (Mv-3-Glu) cinsinden sırasıyla 96-70 mg/L ve 48-53 mg/L aralığındadır. Spontan fermentasyon tekniğı, CS şaraplarında daha yüksek TMA içeriğini sağlamıştır. CS ve KL genç şaraplarının toplam fenolik madde (TP) miktarları gallik asit cinsinden sırasıyla 1776-1553 mg/L ve 2358-3052 mg/L aralığında saptanmıştır. Mv-3-Glu, tüm şarap örneklerinde baskın antosiyanin olarak bulunmuştur. Genç şarap örneklerinde belirlenen fenolikler arasında gallik asit ve (+) kateşin en yüksek miktarlara sahiptir. CS genç şaraplarında gallik asit ve (+) kateşin miktarları spontan fermentasyonda önemli derecede yüksek olup, sırasıyla 60,8 ve 62,5 mg/L konsantrasyona sahiptir. KL genç şaraplarının gallik asit ve (+) kateşin miktarları ise ticari maya fermentasyonunda daha yüksektir (sırasıyla 213,6 ve 179,7 mg/L).

CS şaraplarında 38 (17 alkol, 17 ester ve 4 diğere), KL şarap örneklerinde ise 29 (9 alkol, 18 ester ve 2 diğere) adet uçucu bileşen belirlenmiştir. CS genç şaraplarında yüksek alkoller ticari maya fermentasyonunda daha yüksek iken, esterlerin miktarı ise spontan fermentasyon tekniğinde daha fazladır. Aynı şekilde KL şaraplarında da ester miktarı spontan fermentasyon ile elde edilen şaraplarda ön plana çıkmaktadır. Duyusal yönden değerlendirilen örnekler arasında spontan fermentasyon ile üretilen şaraplar iki çeşit için de genel olarak kırmızı meyvemsi aroma yönünden yüksek skorlar almıştır.

Spontan maya fermentasyonu ile KL üzümünden elde edilen şarapların maya tür çeşitliliğı (*Candida albicans*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Dekkera anomala* ve *Issatchenkia terricola*) yönüyle CS (*Dekkera anomala*, *Candida albicans*, *Candida apicola*) üzümlerinden elde edilen şaraplara göre daha zengin bir floraya sahip olduğı, fermentasyonun sonunda her iki üzüm çeşidinde de baskın olan maya türlerinin birbirine benzerlik gösterdiğı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Şarap, spontan fermentasyon, maya, uçucu bileşen, antosiyanin, fenolik

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the changes in volatiles, phenolic compounds and anthocyanins during red wine production from Karalahna (KL) and Cabernet Sauvignon (CS) grapes grown in Çanakkale by spontaneous and pure fermentation techniques and to identify yeasts responsible for spontaneous fermentation by molecular methods. The distributions and concentrations of anthocyanins and phenolics were detected by HPLC-PDA and volatile compounds were identified and quantified by GC-MS.

The amount of total monomeric anthocyanins (TMA) of CS and KL young wines was in the range of 96-70 mg/L and 48-53 mg/L as malvidin-3-glucoside (Mv-3-Glu) equivalents, respectively. Spontaneous fermentation led to higher TMA content in CS wines. Total phenolic content (TP) of CS and KL young wines was found in the range of 1776-1553 mg/L, 2358-3052 mg/L as gallic acid equivalents, respectively. Mv-3-Glu was the most abundant anthocyanin for all must and wine samples. The amount of Mv-3-Glu was significantly higher in spontaneous young CS wines with the concentration of 39,9 mg/L. Gallic acid and (+) catechin had the highest concentrations among the identified phenolics in young wine samples. The amount of gallic acid and (+) catechin of CS young wines were significantly higher in spontaneous fermentation with the concentration of 60,8 and 62,5 mg/L, respectively. On the other hand, the amount of gallic acid and (+) catechin of KL young wines were significantly higher in commercial yeast fermentation with the concentration of 213,6 and 179,7 mg/L, respectively.

A total of 38 (17 alcohols, 17 esters and 4 others) and 29 (9 alcohols, 18 esters and 2 others) volatile compounds were determined in CS and KL wine samples, respectively. In CS young wines the total concentration of higher alcohols were found higher in commercial young wines, while the amount of esters were higher in spontaneous young wines. Similarly, the amount of esters of KL wines was higher in wines obtained by spontaneous fermentation. Based on sensory evaluations, the wines produced by spontaneous fermentation had higher scores in red fruit for both grape varieties.

Wines obtained from KL grapes had a richer microbial flora in terms of variety of yeast species (*Candida albicans*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Dekkera anomala* and *Issatchenkia terricola*) than the wines obtained from CS grapes (*Dekkera anomala*, *Candida albicans*, *Candida apicola*). The dominant yeast species showed similarity at the end of fermentation for both grape varieties.

Keywords: Wine, spontaneous fermentation, yeast, volatile compound, anthocyanin, phenolic

1. GİRİŞ

Şarap, taze üzüm şirasının veya mayşesinin alkol fermentasyonu sonucu elde edilen alkollü bir içki türüdür. Ticari olarak şarap mayalarının kullanımından önce, şarap üretimleri yıllarca spontan fermentasyon yoluyla gerçekleştirilmiştir. Spontan fermentasyon veya başka bir deyişle ‘doğal fermentasyon’, üzümün kabuğunda bulunan doğal mikrofloranın faaliyeti ile gerçekleşen fermentasyon şeklidir. Spontan fermentasyon, farklı endojen *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) suşlarının yanında farklı maya türleri ve bakterilerin (laktik asit ve asetik asit bakterileri) faaliyeti ile gerçekleşmekte ve fermentasyon sürecinde çeşitli mikrobiyal interaksiyonlar meydana gelmektedir. Bu nedenle, spontan fermentasyon tekniğiyle elde edilen şaraplar aromadaki çeşitlilik yönünden çok daha kompleks ve tipik özelliklere sahip olmaktadır (Lopandic ve ark., 2008; Varela ve ark., 2009, Ribéreau-Gayon ve ark., 2006a).

Spontan fermentasyon ile şarap kalitesinin sağlanmasındaki zorluklar nedeniyle üreticiler fermentasyon sürecinde karşılaşılabilecekleri aksaklıkları ortadan kaldırmak ve şarapta arzu edilmeyen aroma oluşumlarının önüne geçmek amacıyla, standart kalitede şarapların eldesine imkan sağlayan, teknolojik özellikleri bilinen ve ticari olarak saflaştırılmış *S. cerevisiae* kültürleri yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ancak saf kültürlerle gerçekleşen fermentasyonla elde edilen şaraplarda karakteristik aroma bileşenlerinin kayıpları da söz konusu olabilmektedir (Romano ve ark., 2003).

Şarapta kaliteden söz edildiğinde, başta aroma ve renk (renk yoğunluğu, renk tonu, stabilite) olmak üzere kompleks yapı, damaktaki burukluk, denge, gövde ve bitiş gibi bazı önolojik kavramlardan bahsedilmektedir (Zoecklein ve ark., 1995).

Şarapta aroma; başlıca üzümün kendi yapısından ileri gelen, bunun yanında fermentasyon süresince ortama katılan primer ve sekonder metabolitler ve olgunlaşma sürecinde gerçekleşen reaksiyonlar neticesinde oluşan uçucu bileşenlerin karışımı ile ortaya çıkmaktadır (Varela ve ark., 2009). Aroma açısından kuşkusuz en önemli bileşik grubunu uçucu bileşenlerin oluşturduğu söylenebilir. Şarapta uçucu bileşenlerin büyük bölümünü alkoller, esterler ve bazı uçucu yağ asitleri oluşturmaktadır. İkiden fazla sayıda karbon atomuna sahip olan alkoller, yüksek alkol olarak tanımlanmaktadır. Yüksek alkollerin bir çoğu fermentasyon aşamasında oluşmakta ve şaraptaki konsantrasyonları 150-550 mg/L’ye ulaşabilmektedir. Ayrıca 6 karbonlu hekzanol ve hekzenol üzümün yapısından ileri gelen ve şaraba karakteristik ham meyve aroması kazandıran diğer önemli alkol bileşikleridir 1-

okten-3-ol ise mantar aroması ile karakterize edilmekte ve *Botrytis cinerea*'nın faaliyeti ile şarapta aromaya katkı sağladığı belirtilmektedir (Ribéreau-Gayon ve ark., 2006b).

Şarapta kalite açısından önemli bir diğer grup ise fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşikler şarabın renginden, burukluk ve acılığında sorumlu bileşikler olmakla birlikte esmerleşme reaksiyonlarına da substrat oluşturmaktadırlar (Zoecklein ve ark., 1995). Fenolik bileşikler yapıları itibariyle flavonoidler (kuersetin, kaempferol, mirisetin, antosiyaninler, kateşin, epikateşin, kondense tanenler vd.) ve flavonoid olmayanlar (gallik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, klorojenik asit, kafeik asit, tirosol vd.) olmak üzere iki temel grup altında toplanmaktadır (Jackson, 2008). Genel olarak, kırmızı şaraplarda monomerik flavanoller kateşin ve epikateşin prosiyanidin kompozisyonunu domine etmektedir (Nikfardjam ve Pickering, 2008). Fenolik bileşikler kaliteli kırmızı şaraplarda bir kalite unsuru olmanın yanında sağlık üzerine olumlu etkileriyle de oldukça önemlidir. Antioksidan özellik gösteren fenolik bileşiklerin başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere oksidatif strese bağlı pek çok hastalık üzerindeki olumlu sonuçları *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla desteklenmiştir (Artero ve ark., 2015).

Antosiyaninler, üzümün kırmızı-bordo renginden sorumlu bileşikler olup, çoğunlukla kabukta yer alırken, bazı çeşitlerde ise etli kısmında da bulunabilmektedir. Kırmızı şaraplarda bulunan temel antosiyaninler; malvidin-3-glukozit, siyanidin-3-glukozit, peonidin-3-glukozit, petunidin-3-glukozit ve delfinidin-3-glukozittir. Bunlar arasında malvidin-3-glukozit major antosiyanin olup, konsantrasyonu toplam antosiyaninlerin %90'ına kadar ulaşabilmektedir (Grenache) (Ribéreau-Gayon ve ark., 2006b). Monomerik antosiyaninler kırmızı şarabın renginden sorumlu iken, bunların açıl-türevleri ise rengin stabilitesi üzerinde etkilidir. Şarabın antosiyanin profili üzüm çeşidi, üretim süreci boyunca uygulanan işlemler ve kullanılan maya kültürüne bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Lesko ve ark., 2014).

Son yıllarda, ticari maya inokülasyonu ile sağlanan fermentasyon verimi, hatasız ve standart şarap üretim imkanını; spontan yani doğal fermentasyonla elde edilen şarabın bölgeye has karakteristiklerini bir araya getirebilmek amacıyla bağlardan izole edilen yerli suşlar ile inokülasyon tekniği kullanılarak şarap üretimi üzerine yapılan çalışmaların yoğunlaştığı görülmektedir. Bu çalışmalarda temel hedef ele alınan şaraplık üzümün kendine has özelliklerini, yetiştiği bölge, toprak ve iklim gibi unsurlardan ileri gelen farklılıklarını ortaya koyabilen, arzu edilen özellikleri ön plana çıkaran kaliteli ve özgün şarapların elde edilmesidir.

Bu çalışma kapsamında, Çanakkale' ye özgü yerli siyah üzüm çeşidi olan Karalahna ile yabancı menşeli siyah üzüm çeşidi olan Cabernet Sauvignon üzümlerinden spontan ve saf maya fermentasyonu olmak üzere iki farklı teknik ile elde edilen kırmızı şarapların fenolik ve antosiyanin bileşikleri, uçucu bileşenleri ve duyuşal profillerinde meydana gelen farklılıkların ortaya konması amaçlanmıştır. Projenin bir diğler amacı ise, spontan fermentasyondan sorumlu mayaları izole edip moleküler düzeyde tanımlayarak, üzümlerin yetiştiğı bölgeye özgü doğal maya florasını belirlemektir.

Yerli üzüm çeşitlerinden farklı fermentasyon yöntemleri ile şarap elde edilmesi ve çeşitli özellikler bakımından incelenmesine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Karalahna şarabı ile ilgili olarak ise literatürde tek bir çalışmaya rastlanılmış olup (Ataol, 2012), bu çalışmada da Bozcaada'da yetiştirilen 6 farklı üzüm çeşidinden kırmızı şarap üretimi sırasında fenolik madde ve antioksidan aktivitedeki değışim izlenmiştir. Ülkemizde çeşitli bölgelerin üzümlerinden üretilen şarapların endojen maya florasının tanımlandığı ve bu floranın şarap kalitesi üzerine etkisinin belirlendiğı sınırlı sayıda çalışma (Nurgel ve ark., 2002a; Nurgel ve ark., 2002b; Nurgel ve ark., 2005) olmasına karşın, özellikle Çanakkale bölgesine özgü Karalahna üzümlerinden spontan fermentasyonla üretilen şarapların endojen maya florasının ve kalitesinin değıerlendirilmesine ilişkin yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma bu konuda bir ilk olma özelliğı taşımaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Çanakkale bağcılık ve şarap üretimi

Çanakkale, bağ alanları ve yetiştirilen üzüm çeşitleri açısından Türkiye'nin önemli illerinden birisidir. Üretilen üzümlerin yaklaşık yarısını şaraplık üzümler oluşturmakta olup, bölgeye özgü başlıca şaraplık üzüm çeşitleri Karasakız (Kuntra), Karalahna ve Vasilaki' dir. Bunların yanısıra, bölgede Cabernet Sauvignon, Merlot, Shiraz, Chardonnay gibi kaliteli şarap veren, dolayısıyla getirisi yüksek olan yabancı menşeli üzüm çeşitleri de yaygın olarak yetiştirilmektedir. Şarap sadece alkollü bir içki değil, aynı zamanda önemli bir üzüm değerlendirme şeklidir. Çanakkale'de çok sayıda şarap işletmesi olduğu göz önüne alındığında, bağcılığın ve şarap üretiminin burada önemli bir üzüm değerlendirme şekli olduğu ve bölge ekonomisi açısından önem taşıdığı anlaşılmaktadır. Literatürde Çanakkale'ye özgü veya bu bölgede yetişen üzüm çeşitleri, bunların şaraba işlenmesi ve şarapların kalite özelliklerinin belirlenmesi üzerine tek bir çalışmaya rastlanılmıştır. Bu çalışmada, Bozcaada'da yetiştirilen 6 farklı siyah üzüm çeşidinden (Karasakız, Karalahna, Cabernet Sauvignon, Merlot, Shiraz, Alicante B.) kırmızı şarap üretimi sırasında fenolik bileşikler ve antioksidan aktivite düzeyindeki değişimler incelenmiştir (Ataol, 2012). Çalışmada fenolik bileşikler ve antioksidan aktivite düzeyi açısından en zengin şarabın Karalahna üzümünden üretildiği ve alkol fermentasyonu sonrasında şarap örneklerinde en yüksek fenolik ve antioksidan aktivite düzeyine ulaşıldığı saptanmıştır.

2.2 Spontan fermentasyonla şarap üretimi ve mayaların tanımlanması

Alkol fermentasyonu, doğal (spontan) fermentasyon ve saf maya fermentasyonu olmak üzere başlıca iki teknikle uygulanmaktadır. Spontan fermentasyon, üzümlerin dış yüzeylerinde doğal olarak bulunan mayaların, işleme sırasında şıra veya mayşeye geçişiyle meydana gelen fermentasyondur. Üzüm şırası veya mayşesinin spontan fermentasyonu, çok sayıda farklı maya tür ve suşları tarafından karakterize edilen karmaşık bir proses olup, şarabın tat ve aromasına çok önemli katkılarda bulunmaktadır. Üzüm şırasında ve fermentasyonun ilk aşamalarında, ortamda düşük fermentasyon aktivitesine sahip maya türleri (*Hanseniaspora*, *Candida*, *Metschnikowia*) baskın olarak bulunurken, fermentasyonun ortasına doğru bu mayalar azalarak ölmeye başlar ve ortama alkole daha dayanıklı olan *Saccharomyces cerevisiae* suşları hakim olur ve fermentasyon sonuna kadar baskın durumda kalır. *S. cerevisiae* tarafından gerçekleştirilen etanol üretimi, *S. cerevisiae* dışındaki mayaların gelişimini etkileyen başlıca faktördür; çünkü *Hanseniaspora*, *Candida*,

Pichia, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia* ve *Issatchenkia* türleri genellikle %5-7' yi aşan alkol konsantrasyonlarına tolere edemezler. Diğer yandan, düşük sıcaklıklarda bu maya türlerinin etanole olan duyarlılıkları azalmakta, bu nedenle 15-20°C'nin altında yürütülen fermentasyonlarda özellikle *Hanseniaspora* ve *Candida* türlerinin şaraba katkıları daha fazla olmaktadır. Bu tip durumlarda, bu maya türleri *S. cerevisiae* ile birlikte fermentasyon sonuna kadar baskın durumda kalarak şarabın aromatik özelliklerini artırmakta ve kompleks, alışılmıştın dışında lezzet profilleri oluşturarak şarabın tüm karakteristiğini olumlu yönde etkilemektedirler (Maro ve ark., 2007). Sonuç olarak, starter kullanılmadan gerçekleştirilen spontan fermentasyonda, hem *Saccharomyces* hem de *Saccharomyces* dışındaki maya türleri gelişmekte ve ortamdaki maya çeşitliliğine bağlı olarak da bu tip şaraplarda kompleks ve karakteristik bir aroma elde edilmektedir. Ticari starter kullanılan fermentasyonda ise, üzümün doğal florası kükürtdioksit (SO₂) ilavesi ile baskılandığından, güvenli bir fermentasyon sağlanmasına rağmen, zayıf bir tat ve aroma özelliklerine sahip sıradan şaraplar elde edilebilmektedir (Bağder ve Özçelik, 2009).

Şarabın kalitesi, fermentasyon süresince ortama hakim olan mayaların türüne bağlı olarak önemli değişiklikler göstermektedir. Fermentasyon sırasında ortamda bulunan maya tür ve sayıları üzüm çeşidi, üzümün üretildiği bölge, iklim koşulları, bağların yaşı gibi faktörlere bağlı olduğundan, farklı coğrafik bölgelerde yetişen üzüm çeşitlerine özgü önemli enolojik türlerin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar da artmaktadır. Örneğin, Lopandic ve ark. (2008) Avusturya'da şarap üretim bölgelerinden sağlanan ve spontan fermentasyonla üretilen beyaz ve kırmızı şaraplardan mayaları izole ederek moleküler düzeyde tanımlamış ve böylece bu bölge için önemli enolojik türlerin tipik özelliklerini ortaya koymuştur. Benzer şekilde Maro ve ark., (2007) da İtalya'nın Campania bölgesine özgü beyaz üzüm çeşidinin (Catalanesca) spontan fermentasyonla beyaz şaraba işlenmesi sırasında tipik maya suşlarını tanımlamıştır. Yöresel şarapların kalitesini artırmak ve karakteristik aromasını korumak amacıyla bağ alanlarından yerli maya suşlarının izole edilerek şarap üretimlerinde kullanılması üzerine yapılan çalışmalar da giderek artmaktadır (Callejon ve ark., 2010; Blanco ve ark, 2012; Tristezza ve ark., 2012). Liang ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, yöresel şarap aroma ve kalitesini artırmak amacıyla Çin'deki bağ alanlarından izole edilip seçilen 12 yerli *Saccharomyces* suşu kullanılarak, Cabernet Sauvignon üzümlerinden kırmızı şarap üretimi gerçekleştirilmiş ve elde edilen şarapların uçucu bileşikleri ve duyuşal özellikleri ticari maya ile üretilen şarap örnekleri ile karşılaştırılmıştır (Liang ve ark. 2013). Yakın bir zamanda yapılan bir çalışmada ise Portekiz'e özgü Touriga Nacional (TN) siyah üzüm çeşidi ile spontan fermentasyon

gerçekleştirilerek non-*Saccharomyces* mayalar izole edilmiştir. İzole edilen mayaların inokülasyonu ile üretilen TN şarapları duyuşal özellikler yönünden incelenerek *S. cerevisiae* ile üretilen şaraplarla karşılaştırılmış ve farklılıkları ortaya konmuştur (Teixeira ve ark. 2014). Buna göre non-*Saccharomyces* mayalarla elde edilen şaraplar tatlılık, kompleks yapı ve yumuşaklık özellikleri ile *S. cerevisiae* ile üretilen şarapların önüne geçmişlerdir. Gövde ve bitiş açısından önemli bir farklılık olmadığı ancak şarapların genel izleniminin değerlendirilmesinde bazı non-*Saccharomyces* maya türlerinin ön plana çıktığı kaydedilmiştir. Ciani ve Maccarelli (2014) ise, *S. cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii*, *Candida stellata*, *Saccharomyces ludwigii*, *Hanseniaspota uvarum* ve *Kloeckera apiculata* mayalarının inokülasyonu ile elde ettikleri şarapların bazı önolojik özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmaya göre *Candida stellata* ve *Torulaspota delbrueckii* tat ve aromayı olumlu etkilemişlerdir. Seçilen non-*Saccharomyces* mayaların yeni fermentasyon tekniklerinde aromayı optimize etmek için uygulanabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Ülkemizde de çeşitli bölgelerin üzümünden üretilen şarapların endojen maya florasının tanımlandığı ve bu floranın şarap kalitesi üzerine etkisinin belirlendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Nurgel ve ark., 2002a; Nurgel ve ark., 2002b; Nurgel ve ark., 2005). Ancak, özellikle Çanakkale bölgesine özgü, fenolik bileşikler ve antioksidan aktivite açısından oldukça zengin bir çeşit olan (Ataol, 2012) Karalahna üzümünden spontan fermentasyonla üretilen şarapların endojen maya florasının ve kalitesinin değerlendirilmesine ilişkin yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır.

2.3 Şarapta uçucu bileşenlerin önemi ve fermentasyon tekniğı ile ilişkisi

Şarap aroması, şarabın kalitesini etkileyen en önemli unsurlardan birisidir. Çeşitli uçucu bileşiklerden oluşan aroma, şarabın duyuşal özelliklerini belirleyen önemli bir kalite ölçütüdür. Fermentasyon aromasını oluşturan temel bileşikler; yüksek alkoller, esterler, organik asitler ve karbonil bileşikleridir (Bağder ve Özçelik, 2009). Fermentasyonda rol alan mayalar, şarabın uçucu aroma bileşenleri üzerine önemli katkılarda bulunmaktadır. Mayaların bu öneminden dolayı, literatürde fermentasyon tekniğı ve ortamda bulunan maya türlerinin şarabın uçucu bileşenleri üzerine etkisini inceleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu araştırmaların büyük bir kısmı da yurtdışında yapılmış çalışmalar olup, çoğunlukla beyaz şarap üretimini kapsamaktadırlar. Örneğın, Egli ve ark. (1998), farklı *S. cerevisiae* suşlarının inokülasyonu ve spontan fermentasyonla üretilen Riesling ve Chardonnay beyaz şaraplarının duyuşal profillerini karşılaştırmışlardır. Çalışmada spontan fermentasyonla elde edilen şarapların birçok tanımlayıcı terim açısından (gövde, baharat,

çiçeksi, meyvemsi, tatlı) yüksek skorlar aldığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, Varela ve ark. (2009) spontan fermentasyon ve saf maya fermentasyonu ile üretilen beyaz şarapların (Chardonnay) uçucu bileşiklerini incelemişler ve spontan fermentasyonla üretilen şarapların daha yüksek konsantrasyonda yüksek alkol içerdiğini, buna karşın asetat esterlerinin ise daha düşük konsantrasyonda olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, spontan fermentasyonla üretilen beyaz şarapların, aroma üzerine etkili ve saf maya fermentasyonu ile elde edilen şaraplarda bulunmayan 3 farklı uçucu bileşeni içerdiği belirlenmiştir. Ancak bu çalışmada spontan fermentasyonda yer alan mayaların izolasyon ve tanımlanması yapılmadığından, uçucu bileşenler ile maya popülasyonu arasında bir ilişki kurulamamıştır. Blanco ve ark. (2013) ise İspanya'ya özgü Godello ve Albarino üzümlerinden, hem spontan fermentasyonla hem de bağlardan izole edilen 2 farklı maya suşu ile bir ticari maya kullanarak beyaz şarap üretmişler ve şarapların aroma bileşikleri ile duyuşal özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada maya suşlarına bağlı olarak şarapların aroma bileşikleri ve duyuşal özelliklerinde önemli farklılıklar saptanmıştır. Duyusal yönden değerlendirilen Godello şarapları arasında, panelistler tarafından en çok beğeni kazanan spontan fermentasyon ile elde edilen şaraplar olmuştur. Hyma ve ark. (2011), farklı maya tür ve suşlarıyla elde edilen beyaz şarapların (Chardonnay) tüketiciler tarafından ayırt edilebilmeleri üzerine bir araştırma yapmışlardır. Çalışmada ticari şarap mayası ve yabancı *S. cerevisiae* suşlarının yanında *Saccharomyces* cinsine ait farklı bir tür olan *Saccharomyces paradoxus* ile elde edilen şaraplar bir dizi üçgen testi ile tüketicilere sunulmuştur. Araştırmacılar, şarap mayaları ile meyvemsi ve çiçekimsi aromalara sahip şaraplar elde edilirken, yabancı mayalar ile toprağımsı ve sülfürlü karaktere sahip şarapların ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Diğer yandan kırmızı şarap üretiminde mayaların uçucu bileşenler üzerine etkisini inceleyen bazı çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğın, Takush ve Osborne (2012) maya türleri ve suşlarının Pinot Noir üzümlerinden elde edilen kırmızı şarapların tat ve aroma bileşikleri üzerine etkisini incelemişler ve maya türlerinin şarap aromasını önemli düzeyde etkilediğini saptamışlardır. Tufariello ve ark. (2014), Güney İtalya'ya özgü Negroamaro çeşidi kırmızı üzümlerle ticari maya kullanımı ve endojen *S. cerevisiae* suşlarının inokülasyonu ile elde edilen şarapları uçucu bileşenleri açısından karşılaştırmışlardır. Çalışmada farklı iki bölgeden hasat edilen (Kuzey ve Güney Salento) Negroamaro üzümleri ile ticari maya kültürü ve yerli *S. cerevisiae* suşları kullanılarak kırmızı şaraplar elde edilmiştir. Kuzey Salento bölgesinden izole edilen suşlarla üretilen şarapların, 1-hekzanol, 1-heptanol ve benzil alkol konsantrasyonlarının ticari maya kullanılan şaraplara göre daha düşük düzeyde olduğu görülmüştür. Güney suşları ile elde edilen şarapların ise kuzey suşları

ile üretilen şaraplara kıyasla, daha yüksek konsantrasyonlarda ester ve yağ asitleri içerdikleri ve daha kompleks bir profil sergiledikleri belirtilmiştir. Ayrıca şarapların duyuşal profillerinin, özellikle meyvemsi ve baharat aromaları yönünden önemli farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Gammacurta ve ark. (2014) ise, Bordeaux kırmızı şaraplarının olgunlaşma süresince ester bileşikleri ve meyvemsi aromanın sürekliliği üzerine kullanılan maya ve bakteri suşlarının etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla 4 farklı bölge ve bağbozumu döneminden 4 adet kırmızı şarabın (Cabernet Sauvignon ve Merlot) ester kompozisyonları HS-SPME-GC-MS (Tepe Boşluğu-Katı Faz Mikroekstraksiyon-Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi) tekniği ile belirlenmiştir. Alkol fermentasyonundan itibaren 12 ay boyunca analizler düzenli olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, olgunlaşmanın 3. ve 12. ayının sonunda şaraplar arasında kullanılan maya suşuna bağlı olarak duyuşal yönden farklılık olduğu belirlenmiştir. Özellikle ester bileşiklerinin maya suşundan önemli derecede etkilendiği belirtilmiştir.

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada ise, endojen non-*Saccharomyces* türü mayaların Cabernet Sauvignon üzümlerinden spontan fermentasyonla elde edilen kırmızı şarapların aroması üzerine etkileri araştırılmıştır (Liu ve ark. 2016). Çalışmada spontan ve inoküle fermentasyon teknikleri ile üretilen şarapların aromatik yapıları arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir. Spontan fermentasyonla elde edilen kırmızı şaraplarda orta zincirli yağ asitleri, esterler ve terpenler yüksek miktarda bulunurken; inoküle fermentasyonla üretilen şaraplarda aldehitler ve yüksek alkollerin öne çıktığı saptanmıştır. Ayrıca non-*Saccharomyces* türü mayaların şaraba meyvemsi aroma kazandırdığı da ifade edilmiştir.

Yerli üzüm çeşitlerinden elde edilen şaraplarda uçucu bileşenlerin belirlenmesi üzerine sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Örneğin, Bağatar ve Selli (2013) Ürgüp yöresinde yetiştirilen önemli beyaz şaraplık üzüm çeşitlerinden Emir üzümünden spontan ve ticari maya (*Saccharomyces cerevisiae*-7) uygulayarak iki farklı yolla beyaz şarap üretmişler ve elde edilen şaraplarda aroma ve aroma-aktif bileşikleri incelemişlerdir. Ancak, beklenilenin aksine ticari maya kullanılan şarapta aroma maddelerinin toplam miktarı ve sayısı spontan elde edilene göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada maya izolasyonu ve karakterizasyonu da yapılmamıştır. Sincar (2010) ise Kalecik karası üzümlerinden elde edilen şarapların aroma maddeleri üzerine soğuk maserasyon (7 °C' de 5 gün) uygulamasının etkisini incelemiş ve elde edilen şaraplarda aroma maddelerinin büyük bir kısmını alkoller ve ester bileşiklerin oluşturduğunu ve soğuk maserasyon uygulamasının şarapların aroma maddelerini artırdığını saptamıştır. Ancak ülkemizde yerli siyah üzüm çeşitlerimizden kırmızı şarap üretimi sırasında fermentasyon tekniği (spontan veya saf maya fermentasyonu)

ve buna bağlı olarak ortamda bulunan maya türlerinin belirlenip, uçucu bileşenler üzerine etkisinin incelendiği ve maya karakterizasyonunun yapıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Nurgel ve ark. (2002a), *S. cerevisiae* mayalarının yerli beyaz üzüm eşitlerimizden biri olan Emir  z mlerinden elde edilen şarapların aroma bileşikleri ve fermantasyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. GC-FID (Gaz Kromatografisi-Alev İyonizasyon Dedektör) ve GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi) yöntemleri ile gerçekleştirilen aroma maddeleri analizlerinde aroma bileşiklerinin toplam miktarının, ticari ve endojen şarap mayalarının eklenmesiyle artış göstermediği fakat bazı aroma maddelerinde farklılıkların meydana geldiği saptanmıştır. Başka bir çalışmada ise, Kalecik Karası  z mlerinden elde edilen şarapların aroma bileşenleri üzerine endojen ve ticari *S. cerevisiae* mayalarının etkisi incelenmiştir (Nurgel ve ark. 2002b). Çalışmada, uçucu bileşenlerin miktarının endojen ve ticari mayaların kullanımıyla birlikte artış gösterdiği; izoamil alkol, izoamil asetat, etil oktanoat ve etil dekanooat miktarlarının algılanma eşik değerlerini aştığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, endojen ve ticari *S. cerevisiae* mayalarının spontan fermantasyona göre daha yüksek fermentasyon yeteneğine sahip olduğu ve bu mayaların kullanımı ile daha yüksek etil alkol miktarına ulaşıldığı saptanmıştır.

2.4 şarapta fenolik maddelerin önemi ve fermentasyon tekniği ile ilişkisi

şaraplarda kalite üzerinde etkili olan en önemli bileşenlerden birisi de fenolik bileşiklerdir. Özellikle siyah üzümlerin ve bu üzümlerden elde edilen kırmızı şarapların renkleri ve duysal özellikleri  zerin fenolik bileşikler önemli rol oynamaktadırlar. Bu bileşikler arasında en önemlileri ise kırmızı renkli antosiyaninler ve renksiz nitelikteki proantosiyanidinlerdir. Üzümlerde fenolik bileşik miktarı üzüm çeşidine, üzümlerin olgunluk durumuna ve yetiştirildiği yörenin iklim koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermektedirler. Fransa, İtalya, İspanya gibi şarapçılığın gelişmiş olduğu ülkelerde bağ bölgeleri ve iklim koşularının şaraplardaki fenolik bileşikler üzerine etkilerinin incelendiği çok sayıda araştırmalar yapılmış olmasına rağmen (Guerrero ve ark, 2009; Burin ve ark. 2011; Muccillo ve ark., 2014), ülkemizde yerli üzüm çeşitlerimiz ve bu üzümlerin yetiştirildiği bağ bölgeleri ve iklim koşularının üzümlerin ve şarapların fenol bileşikleri üzerine etkilerini konu alan çalışma sayısı son derece sınırlıdır. Bu alanda yapılan en kapsamlı alışma Kelebek (2009) tarafından, Denizli ve Elazığ bölgelerinin  k zg z  ve Boğazkere  z mleri ile Ankara ve Nevşehir bölgelerinin Kalecik karası üzümlerinde yapılmıştır. Çalışmada bu üzümlerin şaraplarında bulunan, renkli ve renksiz fenol bileşikleri incelenmiş ve çeşit, bölge ve iklim koşularının fenolik bileşikler üzerine etkileri

belirlemiştir. Çalışmada incelenen üzümlerin toplam antosiyanin miktarlarının ve renksiz fenolik bileşiklerinin bölgelere göre değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Örneğin, Denizli bölgesi üzümlerinin Elazığ bölgesi üzümlerine göre ve Ankara bölgesi üzümlerinin Nevşehir bölgesi üzümlerine göre antosiyanin bakımından daha zengin oldukları belirlenmiştir. Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada ise Bozcaada'da yetiştirilen 6 farklı siyah üzüm çeşidinden (Karasakız, Karalahna, Cabernet Sauvignon, Merlot, Shiraz, Alicante B.) kırmızı şarap üretimi sırasında fenolik asitler, toplam antosiyanin ve antioksidan aktivite düzeyindeki değişimler incelenmiş ve alkol fermentasyonu sonrasında şarap örneklerinde en yüksek fenolik ve antioksidan aktivite düzeyine ulaşıldığını belirlenmiştir (Ataol, 2012). Çalışmada fenolik asitler ve antioksidan aktivite düzeyi açısından en zengin şarabın Karalahna üzümünden üretildiği saptanmıştır. Ancak çalışmada fermentasyon tekniğinin (spontan ve ticari maya) etkisi incelenmemiştir.

Şıra ve şaraptaki fenol bileşikleri ile maserasyon sıcaklığı ve süresi arasında da kuvvetli bir ilişki bulunmaktadır. Sıcaklığın yükselmesi, renkli ve renksiz fenol bileşikleri miktarını arttırmaktadır. Örneğin, Anlı (2004), farklı maserasyon teknikleri uygulayarak Kalecik Karası üzümlerinden kırmızı şarap üretimleri gerçekleştirmiş ve şarapların fenolik bileşikleri ile antioksidan özellikleri üzerine uygulanan işlemlerin etkilerini incelemiştir. Çalışmada, sıcak maserasyon tekniği ile üretilen şarapların fenol içeriği ile antioksidan özellikler açısından daha zengin oldukları saptanmıştır. Benzer şekilde, Öküzgözü üzümlerinden kırmızı şarap üretiminde fermentasyon işleminden önce gerçekleştirilen sıcak maserasyon (65°C) uygulamasının toplam tanen miktarını artırdığı ancak şaraba rengini veren toplam antosiyanin miktarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (Borazan ve Bozan, 2006). Diğer yandan, Sincar (2010) Kalecik karası üzümlerinden elde edilen şarapların antosiyanin bileşimleri üzerine soğuk maserasyon (7 °C' de 5 gün) uygulamasının etkisini incelemiş ve uygulamanın şarapların antosiyanin bileşimini artırdığını saptamıştır. Benzer şekilde literatürde kırmızı şarap üretiminde soğuk maserasyon uygulamasının şarapların renkli ve renksiz fenol içeriklerini arttırdığına dair birçok çalışma bulunmaktadır (Gil-Munoz ve ark., 2009; Álvarez ve ark., 2009; Heredia ve ark. 2010, Kelebek ve ark., 2010).

Mayaların kırmızı şarabın renginden sorumlu antosiyaninler üzerine etkisi ve şarap renginde nasıl değişiklik gösterdiğine dair çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Örneğin Morata ve ark. (2003) mayaların antosiyaninleri kendi hücre duvarlarına absorbe edebildiğini ve maya suşlarının hücre duvarlarındaki farklılıklara bağlı olarak da renkte farklılıklar ortaya çıktığını bildirmektedirler. Diğer yandan, Hayasoka ve ark. (2007) iki

farklı maya suşu ile Cabernet Sauvignon üzümlerinden üretilen şarapların renklerinde meydana gelen farklılıkları, mayaların fermentasyon sırasındaki asetaldehit üretimlerindeki farklılık ile açıklamıştır. Çalışmada daha yüksek asetaldehit üreten maya suşuyla üretilen şarapta daha yoğun renk oluşumu saptanmıştır. Yine son zamanlarda yabancı üzüm çeşitlerinin farklı maya suşları ile kırmızı şaraba işlenmeleri sırasında, mayaların fenolik bileşikleri üzerine etkilerinin ortaya konulduğu çalışmalar da yapılmaktadır (Monagas ve ark., 2007, Blazquez ve ark., 2012; Carew ve ark., 2013).

Bautista-Ortín ve ark. (2007), Monastrell (Mourvèdre) üzümlerinden ardışık iki yıl süresince, kırmızı şarap üretiminde iki farklı ticari maya kültürü kullanımının alkol fermentasyonu ve olgunlaşma süresince şarapların renkleri ve fenolik bileşikleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada 2002 yılında elde edilen şaraplar arasında önemli bir farklılığın görülmediği ancak 2003 yılında ticari mayalardan biriyle üretilen şarapların daha yüksek renk yoğunluğu ve fenolik madde içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, şarap üretiminde farklı maya kullanımının elde edilen şarabın rengi üzerinde etkili olduğuna vurgu yapmışlardır. Sorrentino ve ark. (2012) ise, İtalya'nın güney bölgesine özgü en eski çeşitlerden biri olan Aglianico üzümünden izole edilen ve morfolojik, biyokimyasal ve moleküler metotlarla tanımlanan *Saccharomyces* ve non-*Saccharomyces* cinsi mayalardan seçilen suşları ticari maya ile kombine olarak şıranın yeniden inokülasyonunda kullanarak şarap üretimleri gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada endojen mayaların şarapların renk değerlerini ve polifenol içeriğini artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca HPLC-UV sonuçlarına göre, gallik asit, kateşin ve resveratrol konsantrasyonlarında istatistiksel açıdan önemli derecede artış meydana geldiği saptanmıştır.

Lesko ve ark. (2014), laboratuvar koşullarında hazırladıkları şarap model sistemlerini spontan fermentasyon ve 4 farklı ticari maya ile fermentasyona tabi tutmuşlar ve fermentasyon sonunda toplam polifenolik ve antosiyanin miktarı, antosiyanin monomer profili, renk yoğunluğu, renk tonu ve polimerik antosiyaninlerin oranı belirlenmiştir. Çalışmada spontan fermentasyon uygulanan model solüsyonunun daha yüksek antosiyanin düzeyde konsantrasyonuna sahip olduğu saptanmıştır. Buna karşın, ticari maya suşlarının faaliyet gösterdiği inoküle fermentasyon sonucunda ise model solüsyonun diğer renk karakteristikleri yönünden üstün olduğu belirlenmiştir.

Nikfardjam ve Pickering (2008), iki Macar ve iki Kanada (Amerikan-Fransız hibrit) çeşidi üzümünden şarap üretiminde ticari maya kullanımının şarapların fenolik bileşik kompozisyonları üzerine etkilerini incelemişlerdir. Şarapların yarısına ticari maya (OptiRed®) inokülasyonu yapılırken, kontrol grubunu EC1118 no.lu *S. cerevisiae* suşu ile

inoküle edilen şaraplar oluşturmuştur. Elde edilen şaraplarda toplam fenolik madde miktarları Kanada çeşitlerinde kontrol grubunda daha yüksek iken, Macar çeşitlerinde muamele grubunda (OptiRed®) daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Ayrıca gallik asit, tirosol, kateşin, kafeik asit, *p*-kumarik asit, feruik asit ve trans-resveratrol renksiz fenolik bileşiklerinde çeşitten ileri gelen farklılıklar da belirlenmiştir. Çalışmada çeşitlerin geneli için, ticari maya ile elde edilen şaraplarda prosiyanidinlerin büyük kısmını polimerik yapı gösteren bileşiklerin oluşturduğu belirtilmiştir.

Valentao ve ark (2007) Portekiz'e özgü Touriga Nacional üzümlerinden *Dekkera bruxellensis* inokülasyonu ile kırmızı şarap üretmişler ve antosiyanin kompozisyonunu incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan maya türünün, şarabın antosiyanin kompozisyonunda *S. cerevisiae* inokülasyonu yapılmış olan kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli bir farklılık yaratmadığı tespit edilmiştir.

Carew ve ark. (2013) Avustralya'nın Tazmania bölgesinden hasat edilen Pinot Noir üzümlerini farklı *S. cerevisiae* türleri (*S. cerevisiae* RC212, *S. cerevisiae* EC1118, *S. cerevisiae* AWRI1176) ve ardışık olarak önce yabani maya ve onu takiben *S. cerevisiae* EC1118 inoküle ederek fermente etmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, şarapların fenolik ve antosiyanin miktarlarının kullanılan maya suşuna bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. Çalışmada *S. cerevisiae* RC212 ile inoküle edilen şaraplarda antosiyanin, renk yoğunluğu, toplam fenol değerlerinin diğer maya türleri ile elde edilen şaraplara oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Li ve ark. (2015) ticari maya (AWRI R₂) ve Beihong siyah üzümlerinin spontan fermentasyonundan izole ettikleri *S. cerevisiae* suşunun (BH₈) şaraptaki proantosiyanidin içeriğine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada fermentasyonun ilk 4 gününde proantosiyanidin miktarında BH₈ suşunun yaklaşık %78, ticari mayanın %67 azalma meydana getirdiği tespit edilmiştir. Buna ek olarak proantosiyanidinlerin orta derecede polimerizasyona uğradığı ve kompozisyonunun kaydadeğer bir değişim geçirdiği sonucuna ulaşılmıştır.

González-Royo ve ark. (2016) 3 adet ticari *S. cerevisiae* mayasının Cabernet Sauvignon şarabı ve laboratuvar koşullarında hazırladıkları model şaraplardaki renk, fenolik bileşik, polisakkarit ve burukluğu üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Tüm maya türlerinde renk yoğunluğunda önemli ölçüde azalma meydana gelmiştir. Mayaların burukluk üzerindeki etki mekanizması, mayaların tükürük bezleri ve tanenler arasındaki etkileşimi engelleyerek burukluk hissini azaltan polisakkarit ve oligosakkaritleri serbest hale geçirmesi ve ayrıca burukluktan sorumlu olan prosiyanidinlerin doğrudan çökelme veya absorpsiyonuna etki etmeleri ile açıklanmıştır

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Üzümler

Çalışmada yabancı menşeli Cabernet Sauvignon ile Çanakkale Bozcaada'ya özgü yerli bir üzüm çeşidi olan Karalahna üzümleri kullanılmıştır. Cabernet Sauvignon, başta Avrupa olmak üzere dünyanın pek çok bölgesinde yaygın olarak yetiştirilmekte olup, bordo şarap sınıfında en bilinen üzüm çeşididir. Çekirdekli, asidik, ufak taneli olmakla birlikte oldukça koyu renkte sert kabuğa sahiptir. Genetik yapısı itibariyle 'Cabernet Franc' ve 'Sauvignon Blanc' türlerinden köken aldığı bilinmektedir (Jackson, 2008). Bozcaada'ya özgü olan Karalahna üzüm çeşidinin ise taneleri yuvarlak ve iri, koyu mor renkli, kalın kabuklu olup, tane içi etli ve renksizdir. Karalahna üzümlerinden üretilen şarapların rengi oldukça koyu yakut kırmızı olduğundan, bu şaraplardan ülkemizde uzun yıllar açık renkli şarapların renk ıslahında yararlanılmıştır. Ancak son zamanlarda tek çeşit olarak da şarap üretiminde kullanılmaya başlanmıştır (Anlı, 2006).

Cabernet Sauvignon çeşidi üzümler Eceabat/Çanakkale'de bulunan Vinero Bağcılık San. ve Tic. A.Ş.'nin sahip olduğu bağlardan, Karalahna çeşidi üzümler ise Bozcaada'da bulunan bağlardan uygun hasat döneminde elle hasat edilerek şarap işletmesine (Vinero Şarap; Eceabat) getirilmiştir. Uygun hasat zamanı; bağda üzümlerin renk, tekstür ve tatlarının kontrolü ve nihai olarak briks değerlerinin ölçümüne bağlı olarak belirlenmiştir. Şarap üretimleri Vinero Bağcılık'ın şarap işletmesinde gerçekleştirilmiştir.

3.2 Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan tüm kimyasal malzemeler ve mikrobiyel besiyerleri Merck (Darmstadt, Almanya) ve Sigma Aldrich (St. Louis, MO, ABD)'den temin edilmiştir. Kimyasal malzemeler analitik ve/veya kromatografik saflıktadır. Kullanılan cihazlar ve bunlara ait özellikler Tablo 3.1'de verilmiştir.

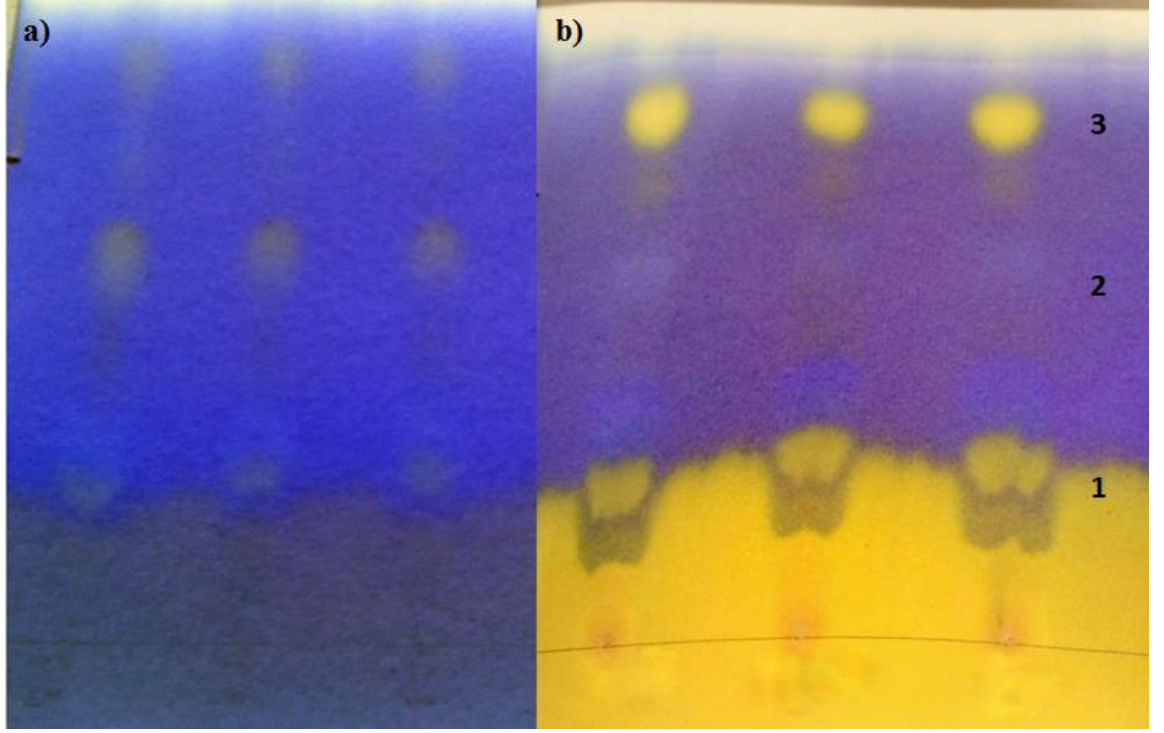
Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar ve özellikleri

Cihaz	Marka ve Model
pH-metre	Sartorius, PB-11, Almanya
Analitik terazi	RADWAG, Polonya
Hassas terazi	Sartorius TE 214 S, Almanya
Vorteks	Biosan V-1, Riga, Letonya
Su banyosu	GFL, Almanya

Spektrofotometre	Shimadzu, UV-1800, Japonya
Ebulyometre	Dujardin-Salleron, Fransa
HPLC	Shimadzu, DGU-20A, Japonya
Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS)	GC 6890N, MS 5975C, Agilent Technologies, ABD

3.3 Şarapların Üretimi

İşletmeye alınan üzümler, spontan ve ticari (maya inokülasyonu) fermentasyon teknikleri olmak üzere iki farklı yöntemle üç tekerrürlü olarak şaraba işlenmiştir. Bu amaçla üzümler saplarından ayrılarak mayşeye işlendikten sonra, 25 litrelik cam damacanalara alınarak 15 mg/L SO₂ ilavesi yapıp, soğuk maserasyon uygulaması için 7-8°C'de 4 gün süreyle bekletilmiştir. Soğuk maserasyonun ardından mayşe sıcaklığı 13°C'ye çıkarılarak fermentasyonun başlaması sağlanmıştır. Ticari fermentasyon için uygun sıcaklığa getirilen mayşe, ticari *S. cerevisiae* suşu ile (Zymaflore FX10 Laffort, 20 g/hL) inoküle edilmiştir. Fermentasyon süresinde yüzeyde oluşan katman günde iki kez kırılarak karıştırma sağlanmış ve şıranın homojen hale gelmesi sağlanmıştır. Mayşe fermentasyonunun seyri, günlük yapılan yoğunluk ve sıcaklık ölçümleri ile takip edilmiştir. Fermentasyonun bitimine ise indirgen şeker tayini yapılarak karar verilmiştir (ortalama 4 g/L indirgen şeker). Mayşe fermentasyonunun ardından ham şaraplar havalı olarak başka cam damacanalara aktarılmış ve malolaktik fermentasyon aşamasının (18-20°C) gerçekleşmesi takip edilmiştir. Laktik asit bakterilerinin faaliyet göstermesiyle, malik asidin laktik aside dönüşümünün gerçekleştiği malolaktik fermentasyon aşaması rutin yapılan kağıt kromatografisi testleri ile izlenmiştir. Malolaktik fermentasyonunun takibinde kullanılan kağıt kromatogramı örneği Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1 Malolaktik fermentasyon takibinde değerlendirilen kağıt kromatogram örnekleri

(1: tartarik asit, 2: malik asit, 3: laktik asit)

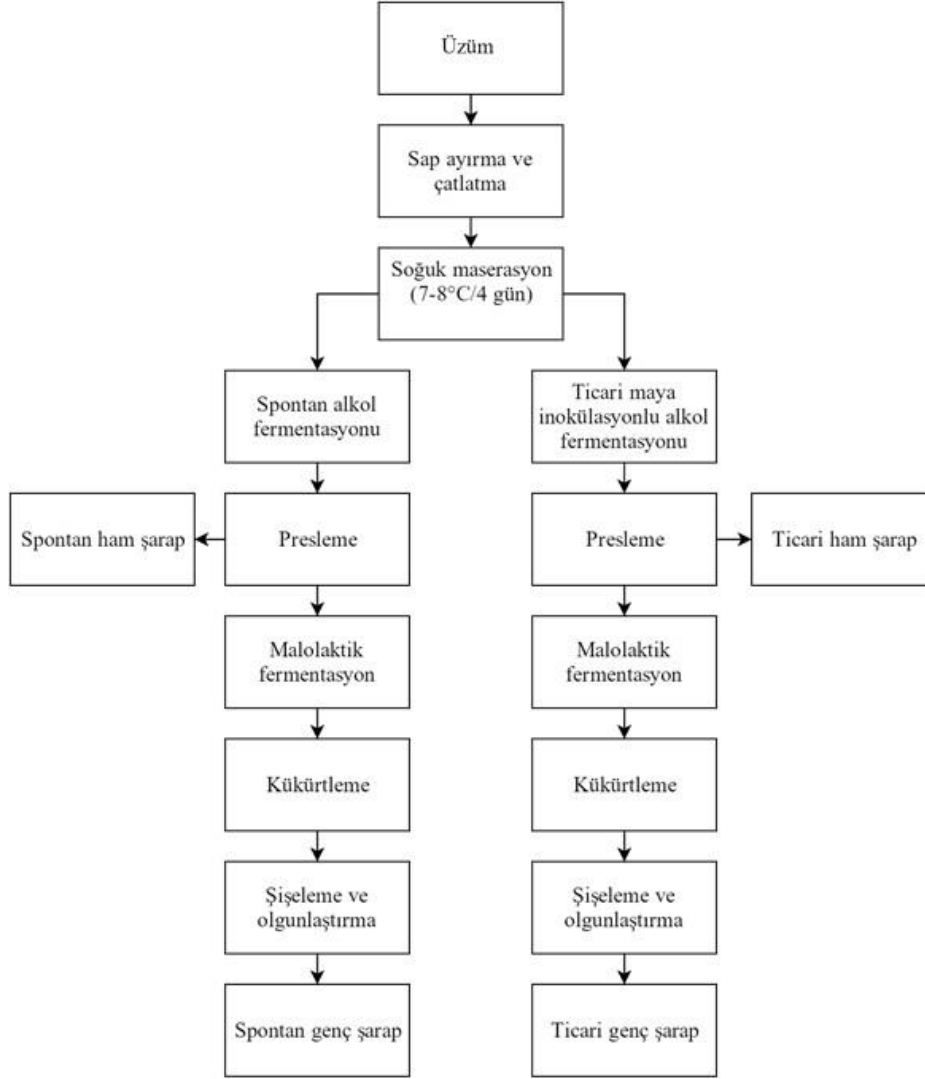
a) Malolaktik fermentasyon öncesi b) Malolaktik fermentasyon sonrası

Malolaktik fermentasyonun tamamlanmasından sonra 25 mg/L serbest kükürt içerecek şekilde kükürtlünen şaraplar şişelenmiştir. Şarap üretimine ilişkin görseller EK 1’de verilmiştir. Şaraplar yaklaşık olarak 6 ay bekletildikten sonra analizler gerçekleştirilmiştir. Şarapların üretim akım şeması Şekil 3.2’de verilmiştir.

Çalışmada gerçekleştirilen örnekleme aşamaları aşağıdaki gibidir:

- Fermentasyon öncesi (şıra): Üzümlerin mayşeye işlenmesi sırasında alınan şıra örnekleri analizler gerçekleştirilene kadar -18°C ’de dondurularak muhafaza edilmiştir. Şıra örnekleri, uygulanan maserasyon işleminden önce ve sonra olmak üzere iki aşamada alınmıştır.
- Mayşe fermentasyonu sonu (ham şarap): Alkol fermentasyonu tamamlandıktan sonra preslenerek posalarından ayrılan spontan ve ticari teknikle üretilmiş olan şaraplar “ham şarap” örnekleri olarak alınmış ve analizler gerçekleştirilene kadar -18°C ’de dondurularak muhafaza edilmiştir.

- Malolaktik fermentasyon sonu (genç şarap): Malolaktik fermentasyon aşaması tamamlanan ve şişelenen şaraplar yaklaşık 6 ay bekletildikten sonra “genç şarap” örnekleri olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2. Spontan ve ticari maya fermentasyon teknikleri ile şarap üretimi akım şeması

3.4 Şıra ve Şarapta Gerçekleştirilen Analizler

Şırada; pH, toplam asitlik, kurumadde, kül, indirgen şeker, toplam fenolik madde, toplam monomerik antosiyanin miktarı, renk yoğunluğu ve renk tonu tayinleri ile fenolik bileşik, antosiyanin ve uçucu bileşen analizleri yapılmıştır. Şaraplarda ise bu analizlere ek olarak yoğunluk, alkol, uçar asit, serbest ve toplam SO₂ analizleri ile duyuşal analizler gerçekleştirilmiştir.

3.4.1 pH Tayini

Şıra ve şarapta pH tayini, pH-metre (Sartorius PB-11 - Almanya) cam elektrodunun doğrudan örneğe daldırılması ile ölçülmüştür.

3.4.2 Toplam Asitlik

Toplam asitlik tayini için 10 mL şıra/şarap örneği, 90 mL distile su ile seyreltikten sonra 0,1N NaOH çözeltisi ile pH 8,1 değerine kadar titre edilmiştir (Cliff ve ark., 2007). Sonuçlar, Eşitlik 3.1'e göre tartarik asit cinsinden "g/L" olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam Asitlik, } \frac{g}{L} = \frac{75 \times N \times S}{M} \quad (3.1)$$

N: Titrasyon için kullanılan NaOH çözeltisinin normalitesi

S: Titrasyon için harcanan 0,1N NaOH çözeltisi, mL

M: Alınan örnek miktarı, mL

3.4.3 Kurumadde Tayini

10 mL şıra/şarap örneğinin kurutma kaplarında 100±5°C'de etüvde kurutulmasıyla gerçekleştirilmiş ve sonuçlar "g/L" kurumadde olarak ifade edilmiştir (Cemeroğlu, 2013).

3.4.4 Kül Tayini

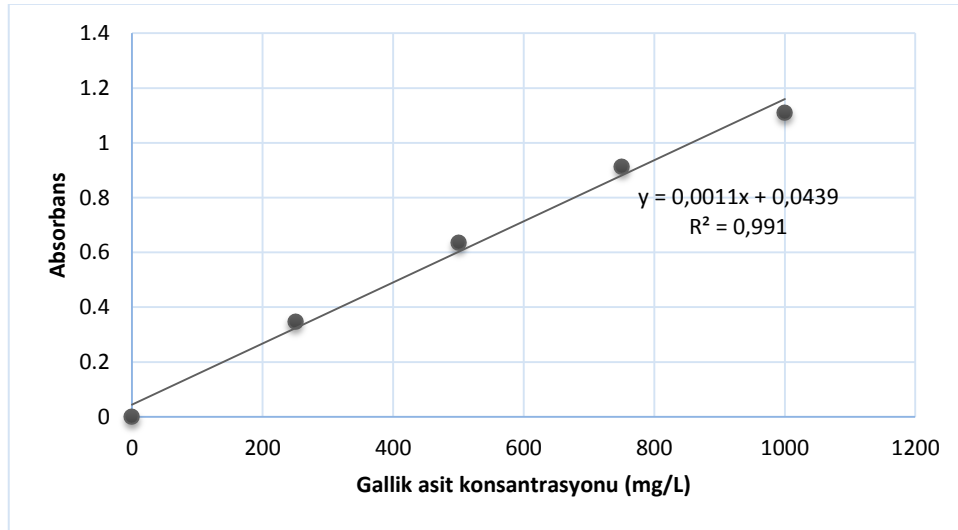
15 mL şıra/şarap örnekleri porselen krozelerde öncelikle su ve alkolünün uçurulması amacıyla kaynar su banyosunda bekletilmiş, etüvde kurutma uygulanmış ve son olarak ön yakma işlemiyle kül fırınında beyaz kül elde edilene kadar 525-550°C'de yakılmıştır (Ough ve Amerine, 1988). Kül miktarları "g/L" şeklinde ifade edilmiştir.

3.4.5 İndirgen Şeker Tayini

Luff-Schoorl metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Güven, 2008). Carrez çözeltileri ile rengi giderilen şıra ve şarap örnekleri, uygun seyreltme işlemi yapıldıktan sonra Luff çözeltisi ile kaynatılarak indirgen şekerlerin oksidasyonu sağlanmıştır. Kullanılmamış olan oksidasyon maddelerinin miktarı tiyosülfat çözeltisi ile geri titre edilerek hesaplanmıştır. Şahit deney yapıldıktan sonra ilgili tablodan yararlanılarak harcanan tiyosülfat çözeltisi miktarına göre şaraptaki indirgen şeker miktarı "g/L" olarak hesaplanmıştır.

3.4.6. Toplam Fenolik Madde Tayini

Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Yöntem, fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgemesi ve oluşan mavi rengin spektrofotometrede ölçümü prensibine dayanmaktadır. Örnekler, ideal absorbans aralığında (0,4-0,6) çalışabilmek amacıyla 5 kat seyreltilmiştir. Seyreltme aşamasından sonra deney tüplerinde 100 µL seyreltilmiş şıra/şarap örneğinin üzerine 900 µL distile su eklenmiş, ardından 5 mL 0,2 N Folin-Ciocalteu reaktifi ve 4 mL sodyum karbonat çözeltisi (75 g/L) eklenip karıştırılmış ve 2 saat süreyle karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800 UV-VIS Spektrofotometre, Japonya) 765 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülmüştür. Toplam fenolik miktarını belirleyebilmek için hazırlanan ve Şekil 3.3’de verilen gallik asit (Fluka, MO, ABD) kalibrasyon eğrisinden yararlanılmıştır. Sonuçlar gallik asit cinsinden mg/L olarak verilmiştir.



Şekil 3.3. Toplam fenolik madde tayini için oluşturulan gallik asit standart eğrisi

3.4.7 Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini

Antosiyaninlerin pH 1,0 ve pH 4,5 ortamlarındaki absorbans değerleri arasındaki fark, doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır. Bu prensibe dayanan, Fuleki ve Francis (1968) tarafından önerilen ve Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından geliştirilen pH-diferansiyel yöntemi kullanılmıştır. Örnekler pH tampon çözeltileri (pH 1,0 ve pH 4,5) ile ideal aralıkta okuma sağlayacak absorbans değerlerine seyreltilmiştir. Şarap örneklerinin spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800 UV-VIS Spektrofotometre, Japonya)

spektrum taraması yapılmış ve maksimum absorbans verdiği dalga boyu tespit edilmiştir (524 nm). Analizlerde bu dalga boyu esas alınmış, bulanıklık unsurlarının etkisini elimine etmek amacıyla ise 700 nm’de okuma yapılmıştır.

Aşağıda verilen eşitlikler (Eşitlik 3.2 ve Eşitlik 3.3) ile örneklerin toplam monomerik antosiyanin miktarı malvidin-3-glikozit cinsinden mg/L olarak hesaplanmıştır. Malvidin-3-glikozit için molekül ağırlığı 493,2 g/mol ve molar absorptivite ise 28000 L/cm mol olarak hesaba katılmıştır (Lee, 2005).

Hesaplama:

$$A = (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \quad (3.2)$$

$$\lambda_{\max} = 524 \text{ nm}$$

$$\text{Monomerik antosiyanin miktarı, } \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{Sf} \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (3.3)$$

A: Absorbans farkı

MW: Malvidin-3-glikozit molekül ağırlığı

Sf: Seyreltme faktörü

ϵ : Molar absorptivite

l: Spektrofotometre küveti katman kalınlığı. l: 1 cm

3.4.8 Renk Yoğunluğu ve Renk Tonu Tayini

Örneklerin, 420 nm, 520 nm ve 620 nm dalga boyundaki absorbans değerleri saf suya karşı ölçülmüş ve aşağıdaki eşitlikler (Eşitlik 3.4 ve 3.5) kullanılarak renk yoğunluğu ve renk tonu değerleri hesaplanmıştır (Ribéreau-Gayon ve Glories, 2006b).

$$\text{Renk yoğunluğu} = A_{420} + A_{520} + A_{620} \quad (3.4)$$

$$\text{Renk tonu} = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad (3.5)$$

3.4.9. Yoğunluk Tayini

Örneklerin yoğunlukları piknometre ile 20°C’de ölçülmüş ve “g/mL” olarak

verilmiştir (Ough ve Amerine, 1988).

3.4.10 Alkol Tayini

Şaraplarda alkol tayini Dujardin-Salleron (Fransa) ebulyometre ile gerçekleştirilmiş ve alkol miktarları “hacim/hacim” (v/v) olarak ifade edilmiştir. Kaynama noktasına karşılık alkol derecesini gösteren skaladan yararlanılarak alkol derecesi okunmuştur.

3.4.11 Uçar Asit Tayini

Buhar distilasyonunun ardından örneklerin standart sodyum hidroksit çözeltisi ile titrasyonu prensibine göre gerçekleştirilmiş ve sonuçlar “g/L asetik asit” olarak ifade edilmiştir (Zoecklein ve ark., 1995).

3.4.12 Serbest ve Toplam SO₂ Tayinleri

Serbest SO₂ miktarı, %25’lik sülfürik asit (H₂SO₄) çözeltisi ile asitlendirilen örneklerin nişasta çözeltisinin indikatörlüğünde N/64’lük iyot (I₂) çözeltisi ile titrasyonu prensibi ile tespit edilmiştir. Toplam SO₂ miktarı için ise, 1N NaOH çözeltisi eklenen örnekler 15 dakikalık hidrolizasyondan sonra aynı işleme tabi tutulmuştur (Güven, 2008). Sonuçlar mg/L cinsinden ifade edilmiştir.

3.4.13 Antosiyanin Bileşiklerinin Belirlenmesi

Şıra ve şarap örneklerinin antosiyanin dağılımlarının belirlenmesi HPLC yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Örnekler saflaştırma işlemi uygulanmadan, yalnızca 0,20 µm’lik membran filtreden geçirilerek amber renkli viallere alınmış ve cihazın autosampler ünitesine yerleştirilerek bekletilmeden enjeksiyona geçilmiştir.

Kullanılan HPLC koşulları

Kolon: Ters faz (reverse phase) C18 kolonu (250 x 4.6 mm, 5 µm), (Phenomenex Inc. Los Angeles, CA, A.B.D.)

Akış hızı: 1 mL dk⁻¹

Elüsyon süresi: 36 dk

Enjeksiyon hacmi: 30µL

Dalga boyu: 520 nm

Dedektör: UV Dedektör (PDA)

Hareketli (mobil) faz:

A: Asetonitril (%100)

B: *o*-fosforik asit:asetikasit:asetonitril:su (1:10:5:84; v/v/v/v) karışımı

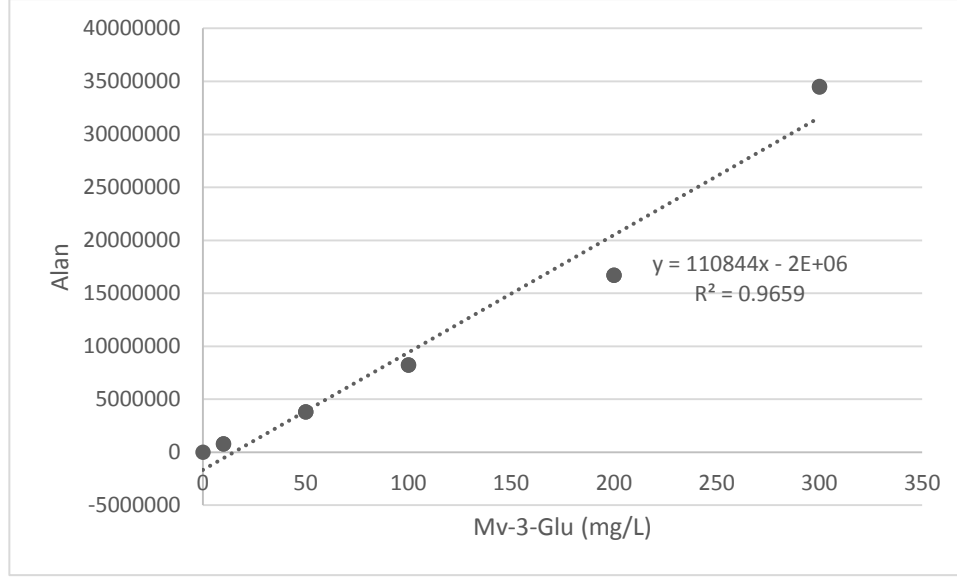
Antosiyaninlerin belirlenmesinde Dıblan (2013) tarafından modifiye edilen gradient akış profili kullanılmış olup akış profili Tablo 3.2’de görülmektedir.

Tablo 3.2 Antosiyaninler için mobil faz gradient akış profili

Süre (dk)	%A	%B
0	1	99
10	12	88
16	22	78
25	50	50
30	1	99
35	1	99

Antosiyanin kromatogramlarının değerlendirilmesi

Elde edilen antosiyanin pikleri, standart maddelerin geliş süresi (retention time) ve PDA (Fotodiyot Dizileri) dedektörde elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılması ile tanımlanmıştır. Bu amaçla 4 adet antosiyanin standardı (Fluka, MO, ABD) kullanılmıştır. Bunlar; malvidin-3-glikozit (Mv-3-Glu), peonidin-3-glikozit (Peo-3-Glu), delfinidin-3-glikozit (Dp-3-Glu), siyanidin-3-glikozittir (Cy-3-Glu). Antosiyaninin standartları asitli suda (%0,01 HCl) çözündürülerek hazırlanmıştır. Her bir antosiyanin standardı için en az 5 veriye dayalı kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bu eğriler örneklerin antosiyanin miktarlarının hesaplanmasında kullanılmıştır. Malvidin-3-glukozit için hazırlanmış olan standart eğri grafiği ve kalibrasyon denklemi Şekil 3.4’te verilmiştir. Kullanılan diğer antosiyanin standartlarının eğrileri ise Ek 2’de yer almaktadır.



Şekil 3.4. Malvidin-3-glikozit için oluşturulan standart eğri

3.4.14 Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi

Şıra ve şarap örneklerinde fenolik bileşiklerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için HPLC-PDA (Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi-Fotodiyot Dizileri) kullanılmıştır. Örnekler 10 kat seyreltilerek, 0,20 µm gözenek çapındaki membran filtreden geçirilip 2 mL'lik viallere alınmış ve cihaza enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan HPLC koşulları

Kolon: Ters faz (reverse phase) C-18 kolonu (250 x 4,6 mm, 5 µm), (Phenomenex Inc.

Los Angeles, CA, A.B.D.)

Akış hızı: 0,700 mL dk⁻¹

Elüsyon süresi: 86 dk

Enjeksiyon hacmi: 30µL

Dalga boyu: 280, 320 ve 360 nm

Hareketli (mobil) faz:

A: Asetonitril (%100)

B: Formik asit: su (1:99; v/v) karışımı

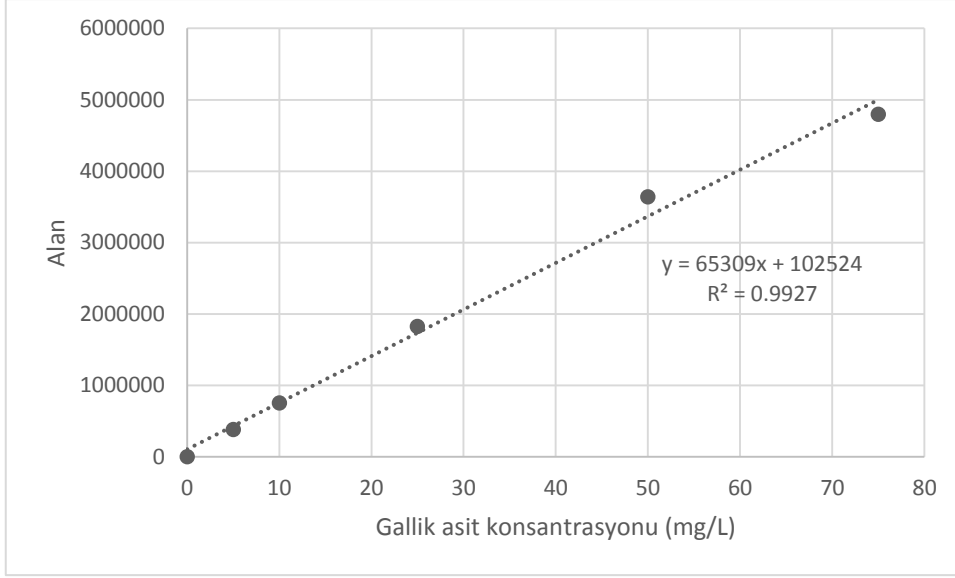
Fenolik bileşiklerin belirlenmesinde Dıblan (2013) tarafından modifiye edilen gradient akış profili kullanılmış olup, akış profili Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3 Fenolik bileşikler için mobil faz gradient akış profili

Süre (dk)	%A	%B
0	2.5	97.5
45	25	75
50	50	50
55	100	0
68	100	0
70	80	20
85	2.5	97.5

Fenolik bileşik kromatogramlarının değerlendirilmesi

Fenolik bileşik kromatogramları 280, 320 nm dalgaboylarında incelenerek, söz konusu bileşiğin en yüksek alan değerine ulaştığı dalgaboyu esas alınarak değerlendirilmiştir. Elde edilen pikler, standart maddelerin geliş süresi ve elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Örneklerdeki fenolik bileşik konsantrasyonları ise standart maddelerin her biri için oluşturulan en az 5 veriye dayalı olarak hazırlanan standart eğrilerin denklemleri ile alana karşılık gelen konsantrasyon değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan fenolik standartları; gallik asit (Fluka, MO, ABD), (+) kateşin (Fluka, MO, ABD), kafeik asit (Sigma, MO, ABD), *p*-kumarik asit (Sigma, MO, ABD) ve epikateşin gallat (HWI Analytik GmbH, Ruelzheim, Almanya)'tır. Şekil 3.5'te gallik asit için hazırlanan kalibrasyon eğrisi verilmiştir. Diğer fenolik madde standartları için çizilen kalibrasyon eğrileri ise Ek 3'te yer almaktadır. Gallik asit, (+) kateşin ve epikateşin gallat 280 nm; kafeik asit ve *p*-kumarik asit ise 320 nm dalgaboylarında değerlendirilerek konsantrasyonları hesaplanmıştır.



Şekil 3.5 HPLC’de hazırlanan gallik asit standart eğrisi

3.4.15 Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi

Şarap örneklerinde bulunan serbest uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC-MS) (GC 6890N, MS 5975C, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılmış olup, uçucu bileşenlerin izolasyonu amacıyla katı faz mikroekstraksiyon tekniği (SPME) uygulanmıştır (Molina ve ark., 2007; Varela ve ark., 2009).

GC-MS Koşulları

- Kolon: Polar olmayan HP5 kolonu (30 m × 0,25 mm i.d. × 0,25 µm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA)
- Taşıyıcı gaz: Helyum, 1,2 mL/ dk,
- Fırın programı: Başlangıç sıcaklığı 40 °C’de 2 dk, Ramp1: 2 °C/dk, 120°C de 3 dk, Ramp2: 8°C/dk, 250°C de 2 dk,
- MS şartları: Kapiler arayüz (capillary interface) sıcaklığı 280°C, iyonizasyon enerjisi (ionization energy): 70 eV; kütle aralığı (mass range) 35 ile 350 amu, tarama hızı (scan rate) 4,45 scans s⁻¹

Uçucu Bileşenlerin İzolasyonu

Amber renkli 40 mL’lik SPME vialindeki (Supelco, Bellefonte, PA, ABD) 5 mL şıra/şarap örneğinin üzerine 10 µL iç standart karışımı ve 1 g NaCl ilave edilmiş ve vorteks (Grant bio, Hillsborough, İngiltere) ile dikkatli bir şekilde karıştırıldıktan sonra 40°C’deki su banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. 20 dakikanın sonunda SPME fiberi (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex, Bellefonte, PA, ABD) vialin tepeboşluğuna batırılarak

40°C’de 20 dakika süre ile uçucu bileşenlerin fiber üzerinde toplanması sağlanmış ve GC-MS’e enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Uçucu Bileşenlerin Tanımlanması

Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) ve Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005) kütüphanelerinden yararlanılmıştır. Madde miktarlarının belirlenmesi için alkol ve ester olmak üzere iki farklı iç standart kullanılmıştır: 4-metil 2-pentanol (4M2P; Aldrich, MO, ABD) ve metil nonanoat (MN; SAFC, St. Louis, MO, ABD). Uçucu bileşenlerden alkollerin konsantrasyonu 4M2P piki; esterler ve diğer bileşikler ise MN pikine dayalı olarak hesaplanmıştır. Hekzanoik asit konsantrasyonu 60 iyonuna dayalı olarak iyon ekstraksiyonu ile tespit edilmiştir. Uçucu maddelerin miktarlarının belirlenmesi için Eşitlik 3.6 kullanılmıştır. İç standart karışımında çözgen olarak etil alkol kullanılmış olup, karışım 1 mL’inde 0,1 µL metil nonanoat ve 1 µL 4-metil 2-pentanol içermektedir.

Uçucu bileşenlerin alıkonma indeks değerleri (RI veya Kovats İndeks) için alkan serisinin (C₆-C₂₅) (Aldrich, MO, ABD) enjeksiyonu aynı kromatografik koşullarda gerçekleştirilmiştir. İndeks değerleri, Van den Dool ve Kratz (1963)’e göre alkan serisinin alıkonma zamanları dikkate alınarak Eşitlik 3.7 ile hesaplanmıştır.

$$\text{Madde Konsantrasyonu} = \text{Cis} \times \text{Ax} / \text{Ais} \quad (3.6)$$

Cis: İç standart maddenin konsantrasyonu

Ax: Aranan maddenin pik alanı

Ais: İç standart maddenin pik alanı

$$\text{RI, Alıkonma İndeksi} = 100n + \frac{(tRa - tRn)}{(tRN - tRn)} \quad (3.7)$$

n: küçük alkanın karbon sayısı

tRa: ilgilenilen aroma maddesinin alıkonma zamanı

tRn: küçük alkanın alıkonma zamanı

tRN: büyük alkanın alıkonma zamanı

3.4.16 Duyusal Analizler

Üretimin ardından şişelerde 6 ay süreyle olgunlaştırılan şarap örneklerinin karakteristik duysal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla 6 kişiden oluşan eğitimli panelist grubu ile lezzet profil analizi (spektrum metodu) gerçekleştirilmiştir. Örneklerin değerlendirilmesine tanımlayıcı terimlerin tespiti ile başlanmıştır. Panelistler eğitim sonunda örnekleri tanımlamada 16 farklı terim geliştirilmişlerdir. Örneklerin belirlenen terimler açısından değerlendirilmesi amacıyla 10 puanlı skala (0= çok düşük lezzet yoğunluğu, 10= çok yüksek lezzet yoğunluğu) kullanılmıştır (Meilgaard ve ark., 1999). Örnekler 13-14°C sıcaklıkta, kodlu olarak ve lale tip tadım kadehlerinde panelistlere sunulmuştur. Duyusal değerlendirmede kullanılan skor kağıdı Şekil 3.6'da verilmiştir. Panelistlerden değerlendirme sırasında, bir örnekten başka örneğe geçişte ağızlarını su ile çalkalamaları, tuzsuz kraker/ekmek gibi nötr tatlarla bir sonraki örneğe hazırlanmaları ve tadılan örneğin yutulmaması istenmiştir (Şekil 3.7).

Panelist adı ve soyadı:		Tarih:				
ŞARAP						
Tanımlayıcılar	S1	S2	S3	M1	M2	M3
Kırmızı meyve						
Mayamsı/ Fermente						
Sülfür						
Alkol						
Ham meyve/Yeşil						
Çiçeğimsi (gül)						
Hayvansı						
Ekşi						
Tatlı						
Acı						
Buruk						
Tatlı baharat						
Gövde						
Renk						
Bitiş						
Genel izlenim						

Şekil 3.6 Şarapların duysal değerlendirilmesinde kullanılan skor kağıdı örneği

Belirlenen duyuşal terimlerden ekşilik için, %0,08'lik sitrik asit çözeltisi kullanılmış olup skalada 5 değerine denk gelmektedir. Tatlılık için %2'lik sakkaroz çözeltisi referans alınmış ve bu çözeltinin skalada 2 değerine karşılık geldiği kabul edilmiştir. Acılık için %0,05'lik kafein çözeltisi kullanılıp skaladaki değeri 2'dir. Burukluk teriminin değerlendirilmesi içinse %0,5'lik alum çözeltisinin skor tablosunda 4,5'e denk olduğu esas alınmıştır (Meilgaard, 1999).



Şekil 3.7 Panelistler tarafından şarap örneklerinde duyuşal değerlendirme aktivitesi

3.4.17 Spontan Fermentasyonda Yer Alan Mayaların İzolasyonu ve Moleküler Düzeyde Tanımlanması

3.4.17.1 Mayaların izolasyonu

Çalışmada spontan fermentasyonda rol oynayan maya suşlarının izolasyonu amacıyla her bir üzüm çeşidinden fermentasyonun başı (alkol oranı %1), ortası (alkol oranı %4) ve sonunda (alkol oranı >%7) aseptik koşullarda 100'er mL'lik örnekler alınmıştır. Alınan örneklerin steril fizyolojik tuzlu su kullanılarak seri dilüsyonları gerçekleştirilmiş ve dilüsyonların 0.1 mL miktarlarından maya izolasyonu amacıyla hazırlanan agarlı

besiyerlerine yüzeye yayma yöntemi ile ekimler yapılmıştır. Çalışmada *Saccharomyces* türü mayaların izolasyonu amacıyla 10 mg/L düzeyinde streptomisin içeren Wallerstein laboratory (WL) nutrient agar, diğer tür mayaların izolasyonu için ise 10 mg/L ampisilin içeren lizin agar ve GYP agar (%2 glukoz, %1 pepton, %0.5 yeast extract, %2 agar) besiyerleri kullanılmıştır. Ekim yapılan petri kutuları 28°C’de 2-6 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda her bir örnekten farklı morfolojiye sahip 10’ar adet koloni seçilerek GYP agar besiyerinde saflaştırılmıştır.

3.4.17.2 Maya izolatlarının moleküler yöntemlerle tür düzeyinde tanımlanması

3.4.17.2.1 Genomik DNA İzolasyonu

Fermentasyonun belli aşamalarından izole edilen maya izolatlarının moleküler yöntemlerle tür düzeyinde tanımlanması için öncelikle genomik DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA izolasyonu için Thermo GeneJET Genomik DNA izolasyon Kiti (K0721) kullanılmıştır. Genomik DNA izolasyon işlemi katı besiyerinde canlandırılan maya kolonilerinin doğrudan kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

3.4.17.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu herhangi bir organizmaya ait genomik DNA’daki özgül bölgelerin çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan basit ama çok başarılı *in vitro* DNA sentezi yöntemidir. PCR tekniği, 1985’te Kary Mullis ve arkadaşlarınca ortaya atılmış, daha sonra Saiki ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Saiki ve ark., 1988). PCR yöntemi kısaca bir gen ya da DNA bölgesinin, bu hedef bölgenin uç bölgelerine bağlanan oligonükleotid primerler aracılığıyla bir dizi eşleme geçirerek çoğaltılması işlemi olarak tanımlanmaktadır.

Bu çalışmada PCR yöntemi izole edilen maya suslarının tanımlanması amacıyla yapılan PCR işlemlerinde, mayalar için korunmuş ve tanımlayıcı olan ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin (ITS1-5.8S rDNA-ITS2) çoğaltılabilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kullanılan özgün oligonükleotid (primer) çiftinin isimleri ve dizileri Tablo 3.4’te verilmektedir. ITS (internal transcribed spacer) bölgesine özgün kullanılan primer çiftinin baz dizileri literatür bilgilerinden yararlanılarak (Esteve-Zarzoso ve ark., 1999) ve ayrıca “Primer3” ve “NCBI Primer Blast” biyoinformatik araçları ile kontrolü yapılarak oluşturulmuş ve ticari olarak primer sentezi yapan firmalardan sentezlettilerle temin edilmiştir.

Tablo 3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonunda kullanılan primer isimleri ve baz dizileri

Primer Adı	Primer Dizisi
ITS1 F	5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'
ITS4 R	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'

Bu proje kapsamında maya izolatlarının ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin çoğaltılması amacıyla uygulanan PCR koşulları literatür bilgilerinin modifiye edilmesi ile gerçekleştirilmiş ve kullanılan PCR bileşenleri ve konsantrasyonları Tablo 3.5'te verilmistir.

Tablo 3.5 ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin çoğaltılması amacı ile uygulanan PCR bileşenleri ve konsantrasyonları

PCR BİLEŞENLERİ	$\mu\text{L}/\text{TÜP}$	SON KONSANTRASYON
Steril bidistile H ₂ O	14.8	-
10 X Buffer	2.5	1X
MgCl ₂ (25 mM)	3.5	3.5 mM
dNTP (25 mM)	1.0	1 mM
ITS1 PrimerF (10 pmol/ μL)	1.0	10 mM/25 μL
ITSr PrimerR (10 pmol/ μL)	1.0	10 mM/25 μL
Taq polimeraz (5U/ μL)	0.2	1 U/25 μL
DNA (150 ng/ μL)	1.0	150 ng/25 μL
Toplam hacim	25.0	

Tablo 3.6'da maya izolatlarındaki tanımlayıcı ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin çoğaltılması amacı ile uygulanan PCR'larda, bu bölgeye özgü, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlenmiş PCR programı gösterilmektedir.

Tablo 3.6 ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin çoğaltılmasında uygulanan PCR programı

PROGRAM TÜRÜ	DERECE (°C)	ZAMAN	DÖNGÜ SAYISI
İlk denatürasyon	95	2'	-
Denatürasyon	94	45''	35
Bağlanma	50	45''	
Uzatma	72	45''	
Son uzatma	72	5'	-
Bekleme	10	10'	-

3.4.17.2.3 Restriksiyon Enzim Analizi (RFLP; Restriction Fragment Length Polymorphism)

Bu yöntem elde edilen maya izolatlarının tür düzeyinde tanımlanmaları amacıyla Polimeaz Zincir Reaksiyonu ile çoğaltımı yapılan ITS1-5.8S rDNA-ITS2 bölgesi Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizm (Restriction Fragment Length Polymorphism=RFLP) çalışmasında kullanılmıştır. (Esteve-Zarzoso ve ark., 1999). Analizde, elde edilen PCR ürünleri Thermo Scientific FastDigest *CfoI*, *HaeIII* ve *Hinf I* restriksiyon enzimleri kullanılarak kesim reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Restriksiyon enzim kesimleri sonucunda belirlenen RFLP profilleri, her bir maya izolatu için önceki çalışmalarda farklı referans maya türleri için belirlenmiş restriksiyon profilleri ile karşılaştırılarak izolatların tür düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır (Esteve-Zarzoso ve ark., 1999; Jeyaram ve ark., 2008; Capece ve Romano, 2009; Cepece ve ark., 2010). ITS (internal transcribed spacer) bölgesine ait PCR ürünlerinin restriksiyon enzim kesim reaksiyonu için uygulanan reaksiyon bileşenleri Tablo 3.7’de verilmektedir.

Tablo 3.7 ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin restriksiyon enzim kesiminde kullanılan reaksiyon bileşenleri

RESTRİKSİYON ENZİM KESİMİ BİLEŞENLERİ	µl/TÜP
Nükleaz-free H ₂ O	17.0
10 X FastDigest Green Buffer	2.0
FastDigest Enzim	1.0
PCR ürünü	10.0
Toplam hacim	30.0

3.4.17.2.4 Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünlerinin varlığı ve Restriksiyon Enzim kesim ürünleri %2’lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek oluşan bant profilleri kontrol edilmiştir. Agaroz jel hazırlanması amacıyla 1.6 g agaroz tartılıp, 80 mL 1xTAE tamponunda eritilmiş, karışım 50-55°C sıcaklığa soğutulduktan sonra, içine 3 µL EtBr (3 mg/mL) eklenip, elektroforez kasetine dökülerek soğuması beklenmiştir. 20-30 dakika sonra polimerleşen jel, içinde 1xTAE tampon bulunan elektroforez tankına alınmış, elektroforez yükleme tamponu

eklenerek, 10 µL PCR ürünleri jele yüklenmiştir. Jel 100 V'da 30-60 dakika yürütülmüş ve oluşan bantlar UV ışık altında değerlendirilmiştir.

3.4.18 İstatistiksel Analizler

Elde edilen sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics (version 22) yazılımından yararlanılmıştır. Spontan ve ticari fermentasyon yoluyla elde edilen şarapların karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA (One-way ANOVA) uygulanmıştır. Verilerin ANOVA ön koşullarını sağlamadığı durumlarda ise Kruskal-Wallis testi (parametrik olmayan) kullanılmıştır. Alkol fermentasyonu bitimindeki ham şarap ile şişelerde 6 ay olgunlaşma sonrası genç şarapların karşılaştırılması eşlenik t testi (Paired-Samples T Test) ve Wilcoxon testi (parametrik olmayan) ile gerçekleştirilmiştir. Maserasyon öncesi ve sonrası şıraların karşılaştırılmasında Wilcoxon testi tercih edilmiştir. Şarapların duyuşsal değerlendirme sonuçları arasındaki farklılıklar ise parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi ile ortaya konmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Şıraların Özellikleri

4.1.1 Şıraların Genel Bileşimi

Çalışmada şarap üretimi amacıyla üzümler mayşeye işlendikten sonra, soğuk maserasyon uygulaması için 7-8°C’de 4 gün süreyle bekletilmiş ve şarap üretimleri maserasyon uygulanmış olan şıralarla gerçekleştirilmiştir. Cabernet Sauvignon ve Karalahna şıralarına ait genel özellikler, soğuk maserasyon işleminden önce ve sonra olmak üzere iki ayrı aşamada belirlenmiş olup, elde edilen sonuçlar sırasıyla Tablo 4.1 ve 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Cabernet Sauvignon şırasının bazı özellikleri

Özellik	Soğuk Maserasyon Öncesi	Soğuk Maserasyon Sonrası
pH	3,95±0,01 ^a	4,10±0,00 ^b
Toplam asit ^a (g/L)	4,35±0,23 ^a	4,91±0,26 ^b
Kurumadde (g/L)	134,69±54,46 ^a	173,50±9,35 ^a
Kül (g/L)	3,18±0,31 ^a	3,21±0,54 ^a
İndirgen şeker (g/L)	219,8±0,6 ^a	208,2±6,5 ^b
Toplam monomerik antosiyanin ^b (mg/L)	169,27±3,70 ^a	358,45±1,23 ^b
Toplam fenolik madde ^c (mg/L)	993,60±15,90 ^a	1634,55±34,05 ^b
Renk yoğunluğu	5,01±0,01 ^a	9,24±0,02 ^b
Renk tonu	1,11±0,01 ^a	0,91±0,02 ^b

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Aynı satırda bulunan farklı harfler ortalamaların istatistiksel açıdan farklı olduğunu göstermektedir (P≤0,05).

^aTartarik asit cinsinden, ^b malvidin-3-glukozit cinsinden, ^c gallik asit cinsinden

Amerine ve ark. (1972), kırmızı şarap üretimleri için şıranın toplam asit miktarının 6,5 g/L’den yüksek ve pH değerinin ise 3,4’ten düşük olması gerektiğini belirtmişlerdir. Buna göre, Karalahna şırasında toplam asit ve pH değerlerinin uygun olduğu, ancak Cabernet Sauvignon şırasında toplam asit miktarının olması gerekenden düşük ve bununla ilişkili olarak pH değerinin de yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Maserasyon işleminin ardından genel olarak şıraların pH, toplam asitlik, kurumadde ve kül miktarı değerlerinde artış olduğu görülmektedir.

Tablo 4.2. Karalahna şırasının bazı özellikleri

Özellik	Soğuk Maserasyon Öncesi	Soğuk Maserasyon Sonrası
pH	3,15±0,01 ^a	3,11±0,01 ^a
Toplam asit ^a (g/L)	6,64±0,34 ^a	7,46±0,49 ^a
Kuru madde (g/L)	244,52±32,96 ^a	275,63±29,25 ^a
Kül (g/L)	2,56±0,49 ^a	2,57±0,13 ^a
İndirgen şeker (g/L)	242,60±3,72 ^a	180,28±1,16 ^b
Toplam monomerik antosiyanin ^b (mg/L)	89,45±1,15 ^a	145,14±0,62 ^b
Toplam fenolik madde ^c (mg/L)	1387,27±4,54 ^a	1791,82±18,18 ^b
Renk yoğunluğu	4,45±0,09 ^a	5,48±0,04 ^b
Renk tonu	0,85±0,01 ^a	0,87±0,01 ^a

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Aynı satırda bulunan farklı harfler ortalamaların istatistiksel açıdan farklı olduğunu göstermektedir (P≤0,05).

^aTartarik asit cinsinden, ^b malvidin-3-glukozit cinsinden, ^c gallik asit cinsinden

Olgun bir üzümde indirgen şeker konsantrasyonunun 150 ile 240 g/L arasında değiştiği bildirilmektedir (Ribéreau-Gayon ve ark., 2006a). Buna göre, şıraların indirgen şeker miktarının şarap üretimi için ideal sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir. Cabernet Sauvignon şırasının indirgen şeker miktarı, 4 günlük maserasyon süresince bir miktar azalma göstermiş ve 219 g/L düzeyinden maserasyon işlemi sonunda 208 g/L düzeyine inmiştir. Benzer şekilde Karalahna şıralarında da başlangıçta 242 g/L olan indirgen şeker miktarının maserasyon işlemi sonunda 180 g/L'ye düştüğü görülmektedir.

Cabernet Sauvignon ve Karalahna şıralarının toplam monomerik antosiyanin içerikleri sırasıyla 169,27 ve 89,45 mg/L düzeyinde saptanmıştır. İki üzüm çeşidi karşılaştırıldığında Cabernet Sauvignon şırasının antosiyanin içeriğinin Karalahna şırasından daha yüksek (yaklaşık 2 kat) olduğu dikkat çekmektedir. Maserasyon öncesi saptanan toplam monomerik antosiyanin içerikleri Sincar (2010)'ın yapmış olduğu çalışmadaki yerli siyah üzüm çeşidi olan Kalecik Karası şırasının toplam monomerik antosiyanin değeri (38,2 mg/L) ile karşılaştırıldığında, Cabernet Sauvignon ve Karalahna şıralarının antosiyanin miktarının oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

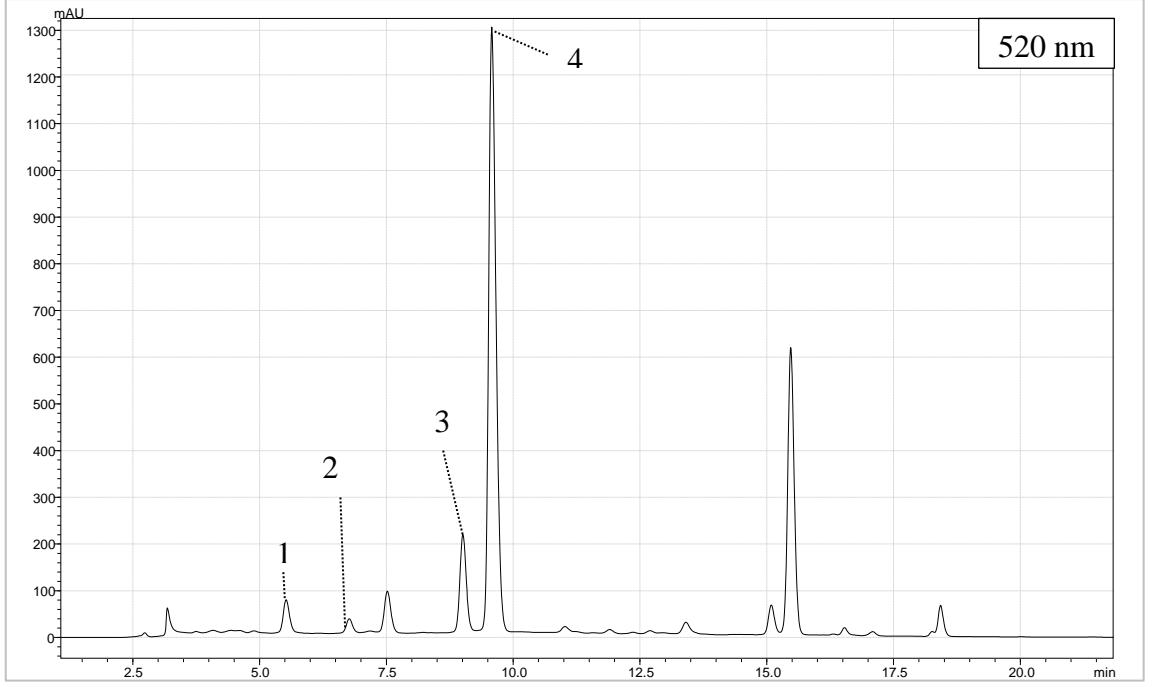
Şıraların toplam fenolik madde içerikleri incelendiğinde ise, antosiyanin içeceklerinin aksine Karalahna şırasının toplam fenolik madde içeriğinin (1387,27 mg/L), Cabernet

Sauvignon şirasının toplam fenolik madde içeriğinden (993,60 mg/L) çok daha yüksek düzeyde olduğu anlaşılmaktadır.

Uygulanmış olan soğuk maserasyon tekniği şiranın toplam monomerik antosiyanin ve toplam fenolik madde miktarlarında önemli derecede artış sağlamıştır. 4 gün süreyle 7-8°C'de gerçekleştirilen maserasyon işlemiyle, şıraların antosiyanin içerikleri önemli düzeyde artış göstermiş ve Cabernet Sauvignon şirasında 358,45 mg/L'ye (2.1 kat artış), Karalahna şirasında ise 145,14 mg/L (1.6 kat artış) düzeyine ulaşmıştır. Benzer şekilde, şıraların toplam fenolik madde içerikleri de önemli düzeyde artış göstererek Cabernet Sauvignon şirasında 1634,55 mg/L (1.6 kat artış), Karalahna şirasında ise 1791,82 mg/L'ye (1.3 kat artış) yükselmiştir. Soğuk maserasyon işleminin üzüm kabuğundan antosiyaninlerin ve fenolik bileşiklerinin şaraba geçirilmesine yardımcı olduğu yapılan bilimsel çalışmalar ve uygulamalarla ortaya konmuştur (Kelebek ve ark., 2010; Casassa ve ark., 2015).

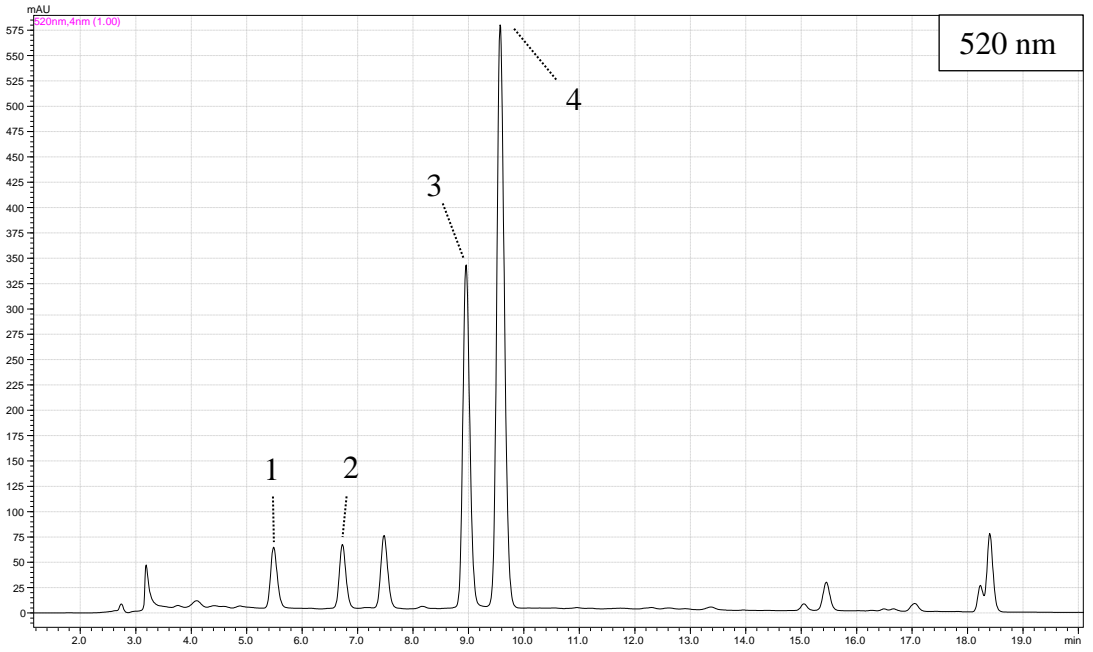
4.1.2 Şıraların Antosiyanin Kompozisyonu

Cabernet Sauvignon ve Karalahna şıralarının antosiyanin dağılımları, soğuk maserasyon işleminden önce ve sonra olmak üzere HPLC ile belirlenmiş ve miktarları hesaplanmıştır. Şıra örneklerinde, definidin-3-glukozit (Dp-3-Glu), siyanidin-3-glukozit (Cy-3-Glu), peonidin-3-glukozit (Peo-3-Glu) ve malvidin-3-glukozit (Mv-3-Glu) olmak üzere 4 adet antosiyanin bileşiğinin tanımlaması yapılmış ve konsantrasyonları belirlenmiştir. Maserasyon sonrasında Cabernet Sauvignon ve Karalahna şıralarında antosiyaninlerin dağılımına ait HPLC kromatogramları (520 nm) Şekil 4.1 ve 4.2'de yer almaktadır. Söz konusu kromatogramlar incelendiğinde, şıralarda en yüksek konsantrasyona sahip olan antosiyaninin (major antosiyanin) malvidin-3-glukozit olduğu görülmektedir.



Şekil 4.1. Cabernet Sauvignon şirasına ait 520 nm’de HPLC kromatogramı

1: Dp-3-Glu, 2: Cy-3-Glu, 3: Peo-3-Glu, 4: Mv-3-Glu



Şekil 4.2. Karalahna şirasına ait 520 nm’de HPLC kromatogramı

1: Dp-3-Glu, 2: Cy-3-Glu, 3: Peo-3-Glu, 4: Mv-3-Glu

Şıraların antosiyanin kompozisyonuna ilişkin sonuçlar Tablo 4.3’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, şıra örneklerinde belirlenen 4 antosiyanin bileşiğinin

konsantrasyonları, soğuk maserasyon sonunda farklı düzeylerde artış göstermiştir. Örneğin Cabernet Sauvignon sırasında delfinidin-3-glukozit konsantrasyonu maserasyon sonunda 5,5 katına, siyanidin-3-glukozit konsantrasyonu 1,8 katına, peonidin-3-glukozit konsantrasyonu 1,6 katına ve malvidin-3-glukozit konsantrasyonu ise 1,7 katına ulaşmıştır. Karalahna sırasında ise maserasyon sonunda antosiyanin konsantrasyonundaki artışlar daha sınırlı düzeyde (yaklaşık 1.2 kat) gerçekleşmiştir. Literatürde soğuk maserasyon uygulamasının şıradaki antosiyanin miktarını artırdığına dair çeşitli çalışmalar mevcuttur. (Gómez-Míguez ve ark., 2007; Gómez-Plaza ve ark. 2000; Heredia ve ark. 2010) Bu artış, yoğun olarak üzümün kabuğunda bulunan antosiyaninlerin bir kısmının soğuk maserasyon süresince şıraya geçişi ile açıklanmaktadır.

Maserasyon sonunda Cabernet Sauvignon sırasında en yüksek konsantrasyona sahip olan malvidin-3-glukozit iken, en az miktarda bulunan antosiyanin ise siyanidin-3-glukozit olmuştur. Benzer şekilde Karalahna sırasında da maserasyon sonrasında malvidin-3-glukozitin en yüksek konsantrasyona, siyanidin-3-glukozitin ise en düşük konsantrasyona sahip olduğu saptanmıştır. İki üzüm çeşidi kıyaslandığında, Cabernet Sauvignon sırasında maserasyon sonunda saptanan malvidin-3-glukozit miktarının Karalahna sırasında saptanan değerden 2 kat, siyanidin-3-glukozit konsantrasyonunun ise 1,3 kat kadar yüksek olduğu görülmektedir. Diğer yandan, peonidin-3-glukozit ve siyanidin-3-glukozit konsantrasyonlarının Karalahna sırasında daha yüksek düzeyde olduğu (1,6 -1,8 kat) dikkat çekmiştir.

Tablo 4.3 Şıraların antosiyanin kompozisyonu

Antosiyaninler	Soğuk maserasyon öncesi	Soğuk maserasyon sonrası
<i>Cabernet Sauvignon</i>		
Dp-3-Glu	1,51±0,11 ^a	8,33±0,10 ^b
Cy-3-Glu	1,75±0,06 ^a	3,17±0,08 ^b
Peo-3-Glu	11,99±0,15 ^a	19,67±0,18 ^b
Mv-3-Glu	79,26±0,79 ^a	132,45±1,11 ^b
<i>Karalahna</i>		
Dp-3-Glu	5,36±0,21 ^a	6,59±0,06 ^b
Cy-3-Glu	4,30±0,08 ^a	5,55±0,04 ^b
Peo-3-Glu	23,53±0,31 ^a	31,03±0,17 ^b
Mv-3-Glu	53,21±0,66 ^a	66,47±0,53 ^b

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Antosiyanin konsantrasyonları mg/L cinsinden hesaplanmıştır. Aynı satırda bulunan farklı harfler ortalamaların istatistiksel açıdan farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$).

4.1.3 Şıraların Fenolik Madde Kompozisyonu

Soğuk maserasyon işleminden önce ve sonra olmak üzere HPLC’de gerçekleştirilen fenolik madde analizi sonucunda Cabernet Sauvignon ve Karalahna şıralarında gallik asit, (+) kateşin, kafeik asit, *p*-kumarik asit ve epikateşin gallat olmak üzere 5 adet fenolik madde tanımlanmış ve miktarları hesaplanmıştır.

Tablo 4.4’de şıralarda belirlenen fenolik bileşikler ve tespit edilen konsantrasyonları verilmiştir. Gallik asit, (+) kateşin, kafeik asit, *p*-kumarik asit ve epikateşin gallat konsantrasyonlarının Karalahna şırasında çok daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu dikkat çekmektedir. Soğuk maserasyon işlemiyle Cabernet Sauvignon şırasının gallik asit, (+) kateşin ve kafeik asit konsantrasyonlarında artış meydana gelirken, *p*-kumarik asit ve epikateşin gallat miktarlarında ise istatistiksel açıdan önemli bir farklılık saptanmamıştır. En fazla artış (6.3 kat) gösteren fenolik madde, (+) kateşin olarak saptanmıştır.

Tablo 4.4. Şıraların fenolik madde kompozisyonu

Fenolik bileşikler	Soğuk Maserasyon Öncesi	Soğuk Maserasyon Sonrası
<i>Cabernet Sauvignon</i>		
Gallik asit	2,8±0,1 ^a	5,2±0,1 ^b
(+) Kateşin	4,6±0,1 ^a	29,2±0,3 ^b
Kafeik asit	4,2±0,1 ^a	7,6±0,1 ^b
<i>p</i> -Kumarik asit	0,8±0,1 ^a	0,9±0,1 ^a
Epikateşin gallat	1,5±0,2 ^a	1,1±0,1 ^a
<i>Karalahna</i>		
Gallik asit	15,63±0,15 ^a	27,63±0,02 ^a
(+) Kateşin	35,96±0,02 ^a	64,19±3,77 ^b
Kafeik asit	8,93±0,04 ^a	9,84±0,21 ^a
<i>p</i> -Kumarik asit	7,27±0,01 ^a	7,61±0,01 ^a
Ferulik asit	11,31±0,01 ^a	11,68±0,01 ^a

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. Fenolik bileşik konsantrasyonları mg/L cinsinden hesaplanmıştır. Aynı satırda bulunan farklı harfler ortalamaların istatistiksel açıdan farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$).

Karalahna şurasında da soğuk maserasyon 6ncesi 35.96 mg/L olan (+) kateşin miktarı maserasyon sonrasında 64,19 mg/L'ye 6ıkarak en fazla artış (1.8 kat) g6steren fenolik madde olmuştur. Diğer fenolik bileşenlerde istatistiksel olarak fark olmadığı sonucuna ulaşılsa da her birinde bir miktar artış olduğu g6r6lmektedir. Bu durum 6z6m6n kabuğunda yoğun olarak bulunan fenolik maddelerin soğuk maserasyon s6resi boyunca bir miktar şıraya ge6çmesi ile a6ıklanmaktadır. (G6mez-M6guez ve ark., 2007; G6mez-Plaza ve ark. 2000; Heredia ve ark. 2010).

4.1.4 Şıraların Uçucu Bileşen Kompozisyonu

Soğuk maserasyon aştamasından 6nce ve sonra olmak 6zere Cabernet Sauvignon ve Karalahna şıralarında GC-MS y6ntemi ile uçucu bileşenlerin tanımlamaları yapılmıştı ve konsantrasyonları i6 standart tekniği ile hesaplanmıştır. Şıralarda belirlenen uçucu bileşenleri y6ksek alkoller, esterler ve diğer bazı uçucu bileşenler oluşturmaktadır. Uçucu bileşenlere ait elde edilen GC-MS kromatogramları Ek 8 ve Ek 9'da yer almaktadır. Cabernet Sauvignon ve Karalahna şıralarında saptanan uçucu bileşenler ve konsantrasyonları sırasıyla Tablo 4.5 ve 4.6'da, uçucu bileşenlerin kolondaki alıkonma zamanları, hesaplanan alıkonma indeksleri ve aroma tanımlayıcıları ile birlikte verilmiştir.

Genel olarak, Cabernet Sauvignon şurasında y6ksek alkollerin maserasyon sonunda artış g6sterdiği g6r6lmektedir (Tablo 4.5). Benzer şekilde esterlerin konsantrasyonu da maserasyon iştlemi sonrasında artış g6stermiştir. Buna karştın; hekzanal, (E) 2-hekzanal, oksime metoksi fenil ve hekzanoik asit konsantrasyonlarının azaldığı g6r6lmektedir. Yılmaztekin ve ark. (2015), yerli 6z6m 6eşidi olan Karaoğlan 6z6m6nden kırmızı şarap 6retiminde maksimum serbest aroma maddesi i6eriğine 5 g6nl6k maserasyon s6resi sonunda ulaşıldığını belirtmişlerdir.

Tablo 4.5 Cabernet Sauvignon şirasının uçucu bileşen kompozisyonu

Uçucu bileşenler	Alıkonma zamanı (dk)	Alıkonma indeksi	Aroma tanımlayıcıları	Soğuk maserasyon öncesi	Soğuk maserasyon sonrası
Alkoller					
1-Pentanol	3,6	761	Balsamik ¹	19,31±3,41	29,74±0,70
(Z) 2-Penten-1-ol	3,7	767	-	17,52±2,31	21,74±0,67
(Z) 3-Hekzen-1-ol	6,2	854	-	136,28±1,72	88,12±1,72
1-Hekzanol	6,6	865	Yeşil, çimen ¹	2721,79±54,08	3381,43±38,14
1-Heptanol	11,4	968	Tatlı ² , limon ¹ , yağsı ³	4,77±0,16	25,28±1,38
1-Okten-3-ol	11,8	975	Mantar ¹	13,58±2,97	21,94±1,78
(s)-3-Etil-4-metilpentanol	14,3	1019	-	63,89±18,84	114,96±6,16
Benzil alkol	14,8	1027	Sitrus ² , tatlı ²	36,46±7,72	56,30±0,22
1-Oktanol	17,5	1069	Sitrus, gül ²	10,95±2,42	40,38±1,02
Feniletil alkol	19,7	1104	Gül, bal ¹	29,76±13,33	36,86±2,38
(6Z)-Nonen-1-ol	24	1168	-	Belirlenemedi	80,14±14,40
1-Nonanol	24,1	1170	-	29,66±2,38	142,82±18,90
Esterler					
Etil asetat	1,8	616	Meyve ¹ , tatlı ²	14,88±10,74	102,71±30,21
Hekzil asetat	13,9	1013	Armut ¹ , elma ³	Belirlenemedi	5,52±0,42

Tablo 4.5'in devamı

2-Metiloktanoik asit metil ester	23,4	1159	-	2,69±0,99	3,19±0,22
Bütil bütanoat	36,7	1363	-	4,65±1,97	8,57±1,35
Diğerleri					
Hekzanal	4,3	800	-	18,86±7,24	13,91±2,30
(E) 2-Hekzenal	5,8	842	-	14,62±1,19	10,92±1,74
Oksime-metoksi-fenil	8,7	917	Bal	58,44±20,72	6,91±0,54
Hekzanoik asit	12,6	991	Peynir, ransit, yağsı ²	3,22±2,25	1,02±0,06

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. Şıranın uçucu bileşen konsantrasyonları µg/L cinsinden verilmiştir.

¹ Soares ve ark., 2015

² Jiang ve ark., 2013

³ Cai ve ark., 2014

Tablo 4.6 Karalahna şırasının uçucu bileşen kompozisyonu

Uçucu Bileşen	Alıkonma Zamanı (dk)	Alıkonma İndeksi	Aroma Tanımlayıcıları	Soğuk Maserasyon Öncesi	Soğuk Maserasyon Sonrası
Alkoller					
3-metil-1 bütanol	3	728	-	41,60±5,28	<u>91,59±24,89</u>
2-metilbütan-1-ol	3,2	739	-	104,06±3,84	238,25±15,00
3-hekzen-1-ol	6,2	853	Yeşil, Acı ¹	109,74±0,21	118,49±2,71
2-hekzen-1-ol	6,5	862	Yeşil, çimen, ot ²	390,94±10,64	170,57±1,61
1-hekzanol	6,6	865	Çimen ¹	1048,46±21,97	1883,12±0,92
2-heptanol	7,8	900	Portakal ¹ , meyvemsi ²	23,71±0,43	32,50±0,35
1-heptanol	11,4	967	Limon ¹	29,09±0,68	161,49±2,64
1-okten-3-ol	11,8	975	Mantar ¹	35,23±1,45	66,32±0,43
6-metil-5-hepten-2-ol	12,5	988	-	7,90±0,65	11,80±0,07
Benzil alkol	14,8	1026	Sitrus, tatlı ² , badem ³	11,36±1,85	14,64±1,69
Fenil etil alkol	19,7	1103	Gül, bal ¹	177,42±26,01	205,28±15,28
Esterler					
Etil asetat	1,8	615	Meyvemsi, tutkal ³	47,18±3,59	69,57±16,83
İzobütil asetat	3,8	772	-	5,79±1,66	5,49±1,22
İzoamil asetat	6,9	873	Muz ⁴	11,25±0,57	<u>22,96±5,07</u>

Tablo 4.6'nın devamı

Etil hekzanoat	13,1	1000	Elma kabuğu, meyvemsi ⁴	2,12±0,65	5,88±1,21
Heksil asetat	13,9	1012	-	9,79±0,69	15,31±0,36
Fenil etil asetat	29,4	1249	-	1,79±0,20	1,23±0,25
Diğer					
3-hidroksi-2-bütanon	2,6	706	-	12,72±1,88	9,00±2,71
2-propenoik asit, 2-metil	4,1	788	-	3,68±0,08	nd
Hekzenal	4,3	799	-	45,13±7,76	80,23±16,74
2-hekzenal (E)	5,8	842	-	43,47±5,10	53,28±10,24
Bütanoik asit, 3-metil	5,9	845	-	2,95±0,30	2,16±0,60
Oksime-metoksi fenil	8,7	916	-	14,39±6,07	10,71±3,76
1,2,3-trimetil benzen	10,9	958	-	5,40±1,08	7,46±1,61
Nonanal	19,5	1100	Yağ, sitrus, yeşil ⁴	3,66±0,48	3,62±0,71
Geraniol	29,5	1251	Sardunya çiçeği, limon ⁵	14,70±0,97	11,60±0,73

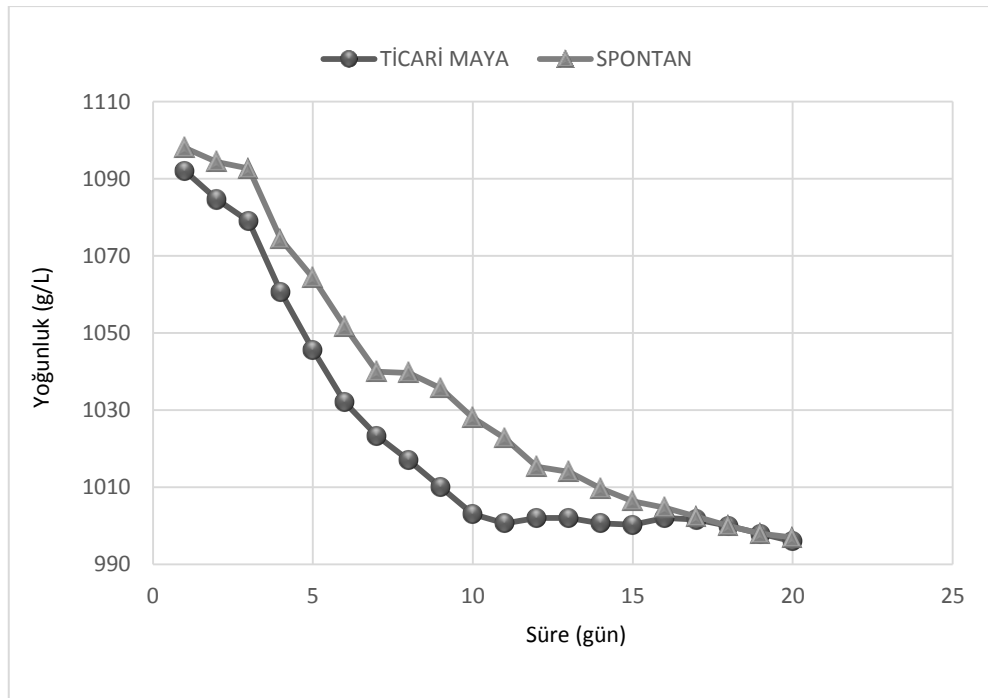
Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. Şıranın uçucu bileşen konsantrasyonları µg/L cinsinden verilmiştir.

¹Soares ve ark. 2015, ²Tao ve Li, 2009, ³Lukic ve ark., 2016, ⁴Wang ve ark., 2016, ⁵Cai ve ark., 2014

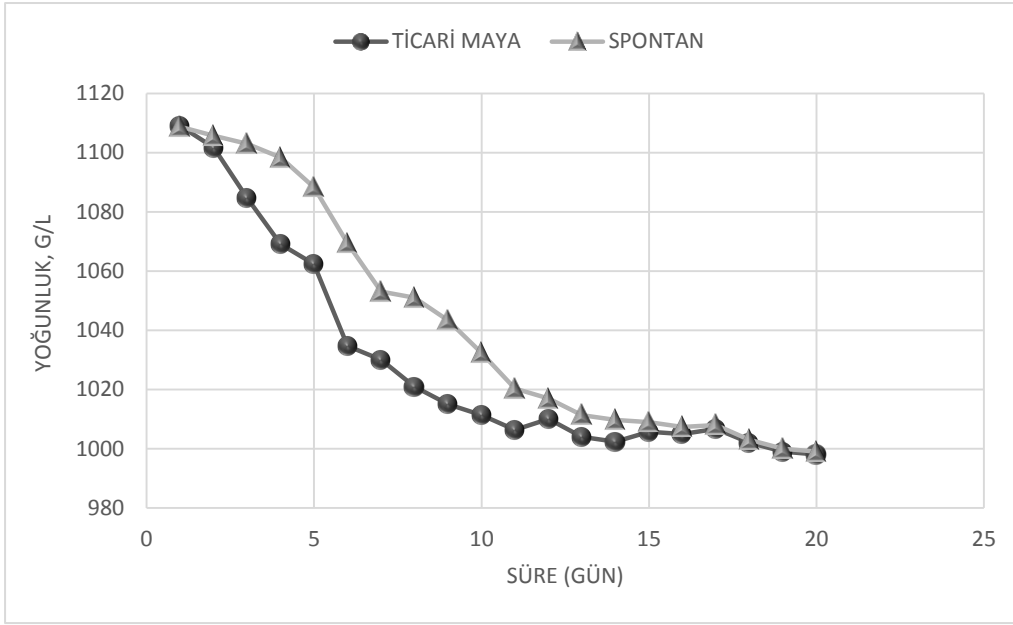
Karalahna sırasında da genel olarak yüksek alkollerin maserasyon sonunda artış gösterdiği görülmektedir (Tablo 4.6). Alkollerden özellikle limon aroması ile karakterize olan 1-heptanol, Karalahna sırasında soğuk maserasyon öncesinde 29,09 µg/L iken soğuk maserasyondan sonra 161,49 µg/L'ye ulaşarak en fazla artış gösteren bileşen olmuştur. Bunun dışında 3-metil-1-bütanol, 2-metilbütan-1-ol, 3-hekzen-1-ol, 1-hekzanol, 2-heptanol, 1-okten-3-ol, 6-metil-5-hepten-2-ol, benzil alkol ve fenil etil alkol soğuk maserasyon sonrasında miktarı artan diğer alkollerdir. Alkollerden yalnızca yeşil çimen kokusuyla karakterize olan 2-heksen-1-ol bileşeninde azalma kaydedilmiş olup, konsantrasyonu 390,94 µg/L'den 170,57 µg/L'ye düşmüştür. Diğer yandan a hekzanal, 2-hekzenal (E) ve 1,2,3-trimetil benzen bileşenlerinin soğuk maserasyon sonrasında miktarları artmıştır. Nonanal miktarında değişim görülmezken, 3-hidroksi-2-bütanon, 2-propenoik asit-2-metil, oksime metoksi fenil ve geraniol bileşenlerinde maserasyon sonrasında azalma meydana geldiği saptanmıştır.

4.2 Mayşe Fermentasyonunun Takibi

Gerçekleştirilen şarap üretimlerinde mayşe fermentasyonunun gidişatı günlük yapılan yoğunluk ve sıcaklık ölçümleriyle izlenmiştir. İki farklı fermentasyon tekniği için Cabernet Sauvignon ve Karalahna şıralarında fermentasyon süresince yoğunluk değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.3 ve 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Alkol fermentasyonu gidişi (Cabernet Sauvignon)



Şekil 4.4. Alkol fermentasyonu gidişi (Karalahna)

Şekil 4.3 ve 4.4’ de görüldüğü gibi spontan ve ticari maya inokülasyonları ile gerçekleştirilen alkol fermentasyonları aynı sürede (20 gün) tamamlanmıştır. Ancak ticari maya inokülasyonu yapılanlarda fermentasyonun ilk 10 gününde yoğunluktaki azalışın daha hızlı olduğu, 10. günden sonra fermentasyonun daha düşük bir hızda seyrettiği görülmektedir. Saf kültürlerin ortamda baskın popülasyonu oluşturması ve hızla ortama hakim olmasından dolayı bu beklenen bir sonuçtur. Literatürde de ticari saf kültür ilavesinin fermentasyon hızını artırdığına yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Ribéreau-Gayon (2006a), spontan fermentasyon kinetiğinin şırada bulunan maya ve suş popülasyonuna bağlı olarak farklılık gösterdiğini ve bazı durumlarda kaliteli endojen maya ve suşları içeren şıra ile spontan yöntemle de çok iyi fermentasyon sonucu alınabildiğini ifade etmektedir.

4.3 Şarapların Özellikleri

4.3.1 Şarapların Genel Özellikleri

Spontan ve ticari maya inokülasyonu ile elde edilen şarapların genel özellikleri, alkol fermentasyonunun hemen ardından (Ham şarap, HŞ) ve 6 ay şişede olgunlaştırma sonrasında (Genç şarap, GŞ) olmak üzere iki farklı aşamada belirlenmiş olup, elde edilen sonuçlar Tablo 4.7 ve 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.7 Cabernet Sauvignon şarapların genel özellikleri

Özellik	Spontan Fermentasyon		Ticari Maya Fermentasyonu	
	HŞ	GŞ	HŞ	GŞ
Yoğunluk (g/mL)	0,996±0,001	0,996±0,001	0,996±0,001	0,996±0,001
Alkol (v/v)	11,3±0,1	11,7±0,1	11,5±0,1	11,6±0,1
pH	3,86±0,01	3,84±0,01	3,81±0,01	3,93±0,01
Toplam asit ^a (g/L)	5,12±0,08	6,26±0,11	6,46±0,14	6,13±0,17
Uçar asit ^b (g/L)	0,76±0,05	0,85±0,06	0,59±0,03	0,63±0,04
Kurumadde (g/L)	20,74±0,91	17,65±0,59	22,04±0,64	16,45±0,51
Kül (g/L)	3,54±0,09	3,54±0,04	3,37±0,05	3,55±0,07
İndirgen şeker (g/L)	2,25±0,06	2,34±0,09	1,74±0,02	1,74±0,04
Toplam SO ₂ (mg/L)	22,6±1,6	32,3±9,9	23,4±1,6	21,5±0,8
Serbest SO ₂ (mg/L)	14,3±0,8	14,7±0,9	13,5±0,9	9,5±0,5

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. HŞ: Ham şarap, GŞ: Genç şarap.

^a Tartarik asit cinsinden, ^b Asetik asit cinsinden

Tablo 4.8 Karalahna şarapların genel özellikleri

Özellik	Spontan Fermentasyon		Ticari Maya Fermentasyonu	
	HŞ	GŞ	HŞ	GŞ
Yoğunluk (g/mL)	0,999±0,01	0,999±0,01	0,998±0,01	0,999±0,01
Alkol (%)	14,9±0,17	14,28±0,07	14,9±0,22	14,08±0,08
pH	3,13±0,01	3,12±0,01	3,12±0,01	3,13±0,01
Toplam Asitlik ^a (g/L)	10,42±0,29	10,16±0,09	8,86±0,64	10,21±0,28
Uçar asit ^b (g/L)	0,58±0,04	0,61±0,01	0,60±0,01	0,62±0,01
Kurumadde (g/L)	30,60±2,00	41,03±0,62	29,00±1,19	43,02±0,88
Kül	2,07±0,10	2,84±0,14	2,18±0,11	2,97±0,05
İndirgen Şeker (g/L)	4,74±0,06	4,10±0,07	4,46±0,13	3,83 ±0,31
Serbest SO ₂ (mg/L)	16,0±0,85	16,1±0,76	15,0±0,47	18,3±0,67
Toplam SO ₂ (mg/L)	38,0±1,15	31,2±1,83	36,0±2,22	29,8±0,48

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. HŞ: Ham şarap, GŞ: Genç şarap.

^a Tartarik asit cinsinden, ^b Asetik asit cinsinden

Tablo 4.7 ve 4.8’de görüldüğü gibi, Cabernet Sauvignon ile Karalahna ham ve genç şarapların yoğunluk değerlerinin 0,996 – 0,999 g/mL arasında değiştiği görülmektedir.

Şarapların alkol derecelerinin ise Cabernet Sauvignon şaraplarında 11,3–11,7 (v/v), Karalahna şaraplarında 14,1-14,9 (v/v) değerleri arasında olduğu saptanmıştır. Literatürde, kırmızı şarapların alkol içeriklerinin hacimsel olarak %11-14 aralığında bulunduğu ve üretilen şarabın dayanıklılığı açısından bu değerlerin %10'un altına düşmemesi gerektiği bildirilmektedir (Ough ve Amerine, 1988). Şarapların pH değerlerinin 3,13-3,93 arasında değiştiği görülmektedir. Şarapların pH değerlerinde alkol fermentasyonunun ardından 6 aylık şişede olgunlaşma sürecinde önemli bir değişim görülmemiştir. Şarapların toplam asitlik değerlerinin ise Cabernet Sauvignon şaraplarında 5,12-6,46 g/L, Karalahna şaraplarında 8,86-10,42 g/L arasında olduğu saptanmıştır. Ough ve Amerine (1988)'e göre asitliğinin 6-9 g/L arasında olması gerekmektedir. Buna göre, spontan ve ticari fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarının asitlik yönünden alt sınıra, Karalahna şaraplarının ise üst sınıra yakın olduğu hatta sınırı geçtiği görülmektedir.

Cabernet Sauvignon genç şarapların indirgen şeker miktarları spontan ve ticari maya fermentasyon için sırasıyla 2,34 ve 1,74g/L, Karalahna genç şaraplarının ise 4,10 ve 3,83 g/L düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Şarap Tebliği'ne (Tebliğ No: 2008/67) göre sek şaraplarda şeker içeriği en fazla 4 g/L olmalıdır. Şarap üretimlerinde oldukça ılımlı bir kükürtleme işlemi tercih edilmiş olup, elde edilen şarapların kükürt dioksit konsantrasyonlarının tebliğe uygunluk gösterdiği belirlenmiştir.

4.3.2 Şarapların Renk Özellikleri ve Antosiyanin Kompozisyonları

4.3.2.1 Şarapların Renk Özellikleri

Renk, kırmızı şaraplarda en önemli kalite kriterlerinin başında gelmektedir. Toplam monomerik antosiyanin miktarı (TMA), kırmızı şarapların renginden sorumlu antosiyanin bileşiklerinin miktarı hakkında genel bir fikir vermektedir. Ayrıca, kırmızı şarapların renk özelliklerinin belirlenmesinde renk yoğunluğu ve renk tonu değerlerinden de yararlanılmaktadır. Çalışmada iki farklı fermentasyon tekniği ile elde edilen ham ve genç şarapların toplam monomerik antosiyanin içerikleri ile renk yoğunluğu ve renk tonu değerleri saptanmış ve sonuçlar Tablo 4.9 ve 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.9 Cabernet Sauvignon şaraplarının renk özellikleri

Özellik	Örnek	Spontan Fermentasyon	Ticari Maya Fermentasyonu
Toplam monomerik	HŞ	202,33±2,63 ^{aA}	180,72±9,03 ^{aA}
antosiyanin miktarı (mg/L)	GŞ	96,03±1,92 ^{aB}	70,93±1,76 ^{bB}

Renk yoğunluğu	HŞ	7,58±0,10 ^{aA}	7,86±0,12 ^{bA}
	GŞ	7,21±0,11 ^{aB}	6,63±0,10 ^{bB}
Renk tonu	HŞ	0,88±0,01 ^{aA}	0,87±0,02 ^{aA}
	GŞ	0,92±0,01 ^{aB}	0,95±0,01 ^{aB}

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. HŞ: Ham şarap, GŞ: Genç şarap. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler belirtilen özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$). Satırlarda küçük harf, sütunlarda büyük harfler kullanılmıştır.

Tablo 4.10 Karalahna şaraplarının renk özellikleri

Özellik	Şaraplar	Spontan Fermentasyon	Ticari Maya Fermentasyonu
Toplam monomerik antosiyanin (mg/L)	HŞ	159,04±2,94aA	181,86±6,44bA
	GŞ	48,28±0,69aB	53,18±0,50bB
Renk yoğunluğu	HŞ	9,84±0,34aA	10,47±0,30aA
	GŞ	12,37±0,40aB	12,47±0,19aB
Renk tonu	HŞ	0,55±0,01aA	0,65±0,04aA
	GŞ	0,73±0,01aB	0,70±0,01bA

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler o özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$). Satırda küçük harfler, sütunda büyük harfler kullanılmıştır.

Şarabın antosiyanin konsantrasyonu üzüm çeşidi, üzümün yetiştiği bölge ve şarap üretimi sırasında kullanılan yöntemler gibi birçok faktörle yakından ilişkilidir. Ginjom ve ark. (2010), Cabernet Sauvignon şaraplarında toplam monomerik antosiyanin miktarının malvidin-3-glukozit cinsinden 89-267 mg/L aralığında değiştiğini belirlemişlerdir. Tablo 4.9'da görüldüğü gibi, çalışmada spontan ve ticari maya fermentasyonları ile elde edilen Cabernet Sauvignon kırmızı genç şarapların toplam monomerik antosiyanin miktarları malvidin-3-glukozit cinsinden sırasıyla 96,03 ve 70,93 mg/L olarak belirlenmiştir. Spontan fermentasyonla elde edilen ham şarapların daha yüksek TMA içeriğine sahip olduğu görülmekle birlikte, farklılığın istatistik açıdan önemli olmadığı sonucuna ulaşılmıştır ($P \leq 0,05$). Spontan genç şarapların ise TMA içeriklerinin, ticari yöntemle üretilenlere göre %35 daha fazla olduğu saptanmıştır. Karalahna şaraplarında ise toplam monomerik antosiyanin (TMA) içeriğinin, Cabernet Sauvignon şaraplarının TMA içeriğinden daha düşük düzeyde olduğu ve ticari fermentasyon ile elde edilen genç şaraplarda (53,18 mg/L)

spontan şaraplara oranla (48,28 mg/L) daha fazla TMA olduğu tespit edilmiştir.

Üretim sürecinden ileri gelen antosiyanin kayıpları açısından bakıldığında, alkol fermentasyonunun bitimi ile şışede gerçekleştirilen 6 aylık olgunlaşma süreci arasında spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şarapta %52, ticari maya fermentasyonu ile elde edilen şarapta ise %60 düzeyinde kayıp söz konusu olmuştur. Karalahna şaraplarda olgunlaşma sürecindeki değişimi incelendiğinde ise TMA'nın her iki fermentasyon tekniğinde de yaklaşık %70 düzeyinde azaldığı görülmektedir. Benzer şekilde, İspanya'ya özgü iki farklı üzüm çeşidinden üretilen kırmızı şaraplarda, malolaktik fermentasyonun ardından 12. aya kadar geçen süre içerisinde şarapların toplam monomerik antosiyanin içeriklerinin %72 ve %85 düzeylerinde azalma gösterdiği bildirilmiştir. Monomerik antosiyaninlerdeki azalma, antosiyaninlerin degradasyonu veya daha stabil polimerik pigment sağlayabilmek amacıyla bazı bileşiklerle kombinasyonu ile açıklanmaktadır. Örneğin, bir antosiyanin bileşiği olan malvidin-3-6-kumaril glukozidin degradasyonunun depolama boyunca kumarik asidin konsantrasyonunu artırdığı bilinmektedir (García-Falcón ve ark., 2007).

Renk yoğunluğu değeri, kırmızı şaraplarda rengin yoğunluğunu (miktarını) gösteren bir terim olup, şarabın tipine ve kullanılan üzüm çeşidine bağlı olarak 0,3-1,8 arasında değişmektedir. Renk tonu ise şaraplarda olgunlaşmayla birlikte turuncu renge doğru dönüşümün bir göstergesidir. Genç şaraplarda 0,5-0,7 aralığında iken, olgun şaraplarda 1,2-1,3 üst limitlerine ulaştığı aktarılmaktadır (Ribéreau-Gayon ve ark., 2006b). Diğer yandan, García-Falcón ve ark. (2007), İspanya yerli üzümlerinden elde edilen kırmızı şaraplarda renk yoğunluğunun 5-12 aralığında değiştiğini saptamışlardır. Çalışmada elde edilen şarapların renk yoğunluğu değerlerine bakıldığında, ticari maya fermentasyonu ile elde edilen Cabernet Sauvignon ham şarapların daha yüksek renk yoğunluğuna sahip olduğu görülmektedir. Alkol fermentasyonunun bitiminden itibaren geçen 6 aylık sürecinin ardından spontan genç şaraplar 7,2 renk yoğunluğu değeriyle üstün konuma geçmiştir. 6. ayın sonunda, spontan ve ticari maya fermentasyonlarıyla üretilen şarapların renk yoğunluklarında istatistiksel açıdan önemli oranda azalma olduğu kaydedilmiştir. Karalahna şaraplarında ise fermentasyon tekniğine göre şarapların renk yoğunluğu değerlerinin değişmediği ancak olgunlaşma sürecinde artış gösterdiği kaydedilmiştir.

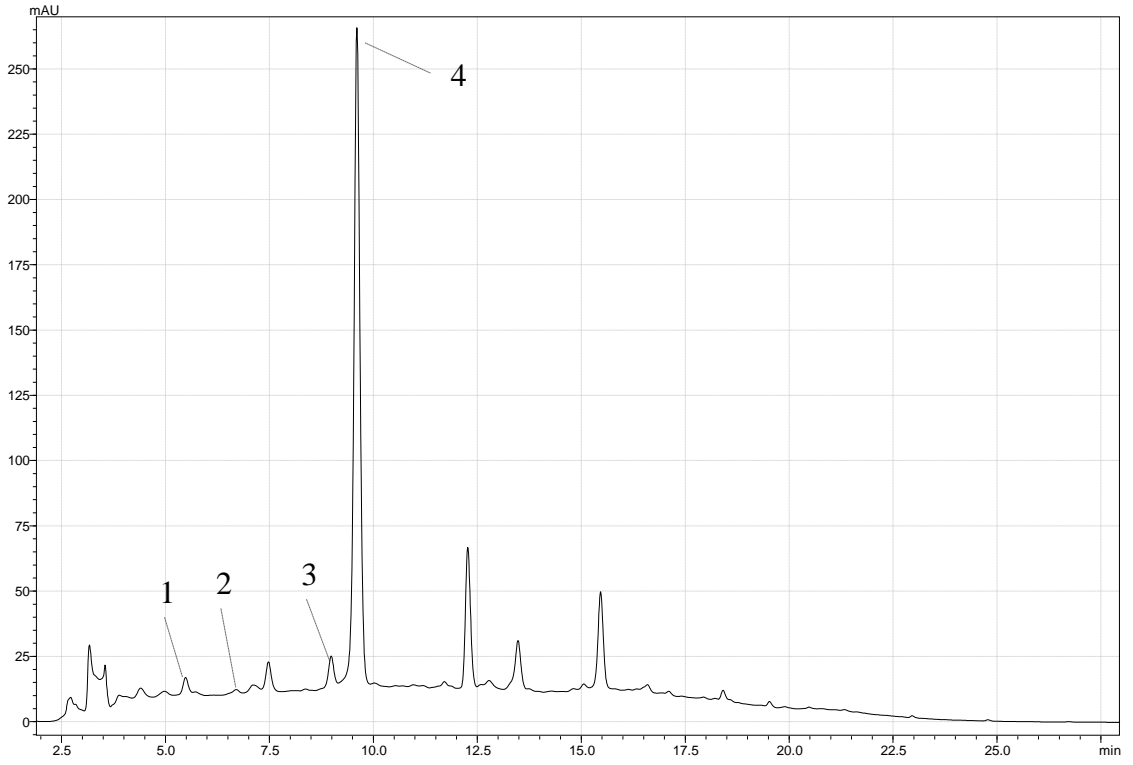
Fermentasyon süresince gerçekleşen renk kayıpları fermentasyon ortamının polaritesi ile yakından ilgilidir. Maserasyon sonunda şıranın renk yoğunluğu değerinin 9,2 olduğu göz önüne alındığında, mayşenin alkol fermentasyonu boyunca artan etanol konsantrasyonu sebebiyle antosiyaninlerin çözünürlüğündeki azalmaya bağlı olarak renk yoğunluğunda da

düşüş görülmektedir. Renkteki azalmanın diğer önemli sebebi ise antosiyaninlerin polimerizasyona uğraması sonucu renk maddelerinin çökmesidir. Ayrıca ortamda bulunan mayaların hücre duvarına tutunan antosiyaninler de bir miktar azalmaya sebep olmaktadır (Morata ve ark., 2016).

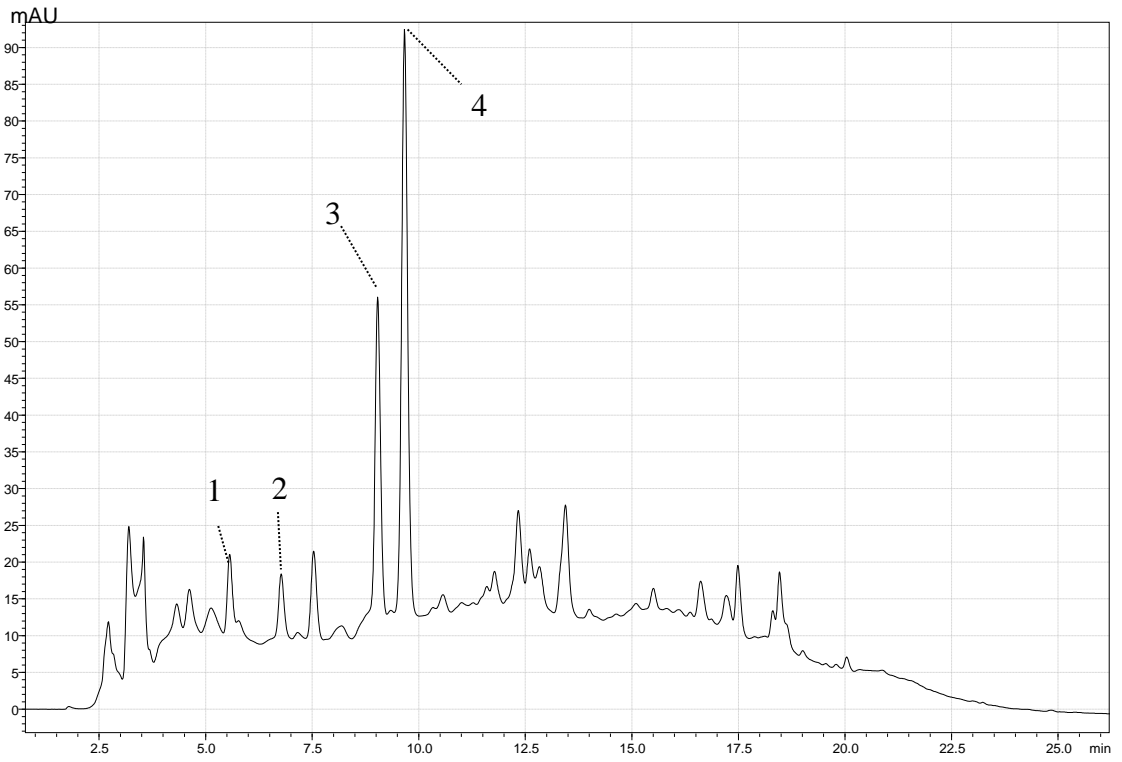
Renk tonu değerleri değerlendirildiğinde, Cabernet Sauvignon spontan ve ticari genç şaraplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Ancak alkol fermentasyonunun bitiminde, spontan ve ticari ham Cabernet Sauvignon şarapların renk tonu değerleri sırasıyla 0,88 ve 0,87 iken, 6 ay sonunda 0,92 ve 0,95'e yükselmiştir. Karalahna şaraplarında ise renk tonu değerleri spontan genç şaraplarda 0,73 mg/L, ticari mayalı genç şaraplarda 0,70 mg/L'dir. Olgunlaşma sürecinde spontan fermentasyon yöntemiyle üretilen şarapların renk tonunun 0,55'ten 0,73'e çıktığı, ticari fermentasyon şaraplarında ise önemli bir farkın oluşmadığı tespit edilmiştir. Bu değerler, Ataol (2012)' un yapmış olduğu çalışmadaki Karalahna şaraplarının renk tonu değeri (2,45 mg/L) ile kıyaslandığında bir miktar düşük olduğu görülmektedir. Renk yoğunluğu ise yine aynı çalışmada Karalahna şaraplarından elde edilen renk yoğunluğu değerlerinin 5 katı kadardır. Renk yoğunluğu değerleri beklenen aralıkta yer almamaktadır, ancak literatürde çalışmamızda elde edilen değerlere benzer sonuçlar yer almaktadır (Carew ve ark., 2013; Gonzales Rayo ve ark., 2016).

4.3.2.2 Şarapların Antosiyanin Kompozisyonları

Cabernet Sauvignon ve Karalahna üzümlerinden spontan ve ticari fermentasyon teknikleri ile üretilen şarapların antosiyanin kompozisyonları ve miktarları ham ve genç şaraplarda ayrı ayrı belirlenmiştir. Ham ve genç şarap örneklerinde de, sıralara benzer şekilde Dp-3-Glu, Cy-3-Glu, Peo-3-Glu ve Mv-3-Glu olmak üzere dört temel antosiyanin tanımlanmış ve miktarları saptanmıştır. Cabernet Sauvignon ve Karalahna genç şaraplarına ait (spontan) 520 nm'de elde edilen HPLC kromatogram örnekleri sırasıyla Şekil 4.5 ve 4.6'te verilmiştir. Kromatogram örnekleri üzerinde, tanımlanan ve miktarları belirlenen temel antosiyanin bileşikler numaralandırılarak gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Cabernet Sauvignon şarabına ait 520 nm’de HPLC kromatogramı örneği
1: Dp-3-Glu, 2: Cy-3-Glu, 3: Peo-3-Glu, 4: Mv-3-Glu



Şekil 4.6. Karalahna şarabına ait 520 nm’de HPLC kromatogramı örneği
1: Dp-3-Glu, 2: Cy-3-Glu, 3: Peo-3-Glu, 4: Mv-3-Glu

Spontan ve ticari fermentasyonlarla Cabernet Sauvignon ve Karalahna üzümlelerinden elde edilen ham ve genç şarapların antosiyanin kompozisyonları sırasıyla Tablo 4.11 ve 4.12 'de verilmiştir. Buna göre, Cabernet Sauvignon şaraplarda iki üretim tekniğinde de Mv-3-Glu en yüksek, Cy-3-Glu ise en düşük miktarda bulunan antosiyanindir. Tablo 4.11 incelendiğinde farklı örnekleme aşamalarında spontan fermentasyon yoluyla elde edilen Cabernet Sauvignon şarapların belirlenen 4 antosiyanin açısından da daha yüksek içeriğe sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 4.11 Cabernet Sauvignon şarapların antosiyanin kompozisyonları

Antosiyaninler	Örnek	Spontan Fermentasyon	Ticari Maya Fermentasyonu
Mv-3-Glu	HŞ	83,26±1,60 ^{aA}	72,93±2,97 ^{bA}
	GŞ	39,95±0,81 ^{aB}	28,24±0,33 ^{bB}
Peo-3-Glu	HŞ	3,40±0,08 ^{aA}	2,66±0,02 ^{bA}
	GŞ	1,61±0,07 ^{aB}	0,98±0,01 ^{bB}
Dp-3-Glu	HŞ	2,25±0,11 ^{aA}	1,94±0,02 ^{aA}
	GŞ	1,15±0,03 ^{aB}	0,84±0,01 ^{bB}
Cy-3-Glu	HŞ	0,51±0,01 ^{aA}	0,45±0,01 ^{bA}
	GŞ	0,46±0,01 ^{aA}	0,39±0,01 ^{bB}

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. Antosiyanin konsantrasyonları mg/L cinsinden hesaplanmıştır. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler belirtilen özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$). Satırlarda küçük harf, sütunlarda büyük harfler kullanılmıştır.

Spontan ve ticari fermentasyonlarla elde edilen Karalahna şaraplarda da baskın antosiyanin literatürle uyumlu olarak Mv-3-Glu'tir (Valentao ve ark., 2007; Lingua ve ark., 2016). Spontan fermentasyon tekniği ile elde edilen genç Karalahna şaraplarda 23,09 mg/L, ticari fermente şaraplarda 24,39 mg/L olarak tespit edilen Mv-3-glu'in fermentasyon yönteminden etkilenmediği belirlenmiştir. Karalahna şaraplarının Dp-3-glu, Cy-3-glu ve Peo-3-glu değerleri, ticari fermentasyon yöntemi ile üretilen şaraplarda daha fazladır. Ancak Valentao ve ark. (2007) spontan fermentasyonla elde edilen şarapların antosiyanin miktarının *S.cerevisiae* inokülasyonu ile üretilen şaraplardan bir miktar fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Tablo 4.12 Karalahna şarapların antosiyanin kompozisyonları

Antosiyaninler	Örnek	Spontan Fermentasyon	Ticari Maya Fermentasyonu
Dp-3-glu	HŞ	6,38±0,45 aA	9,77±0,51 bA
	GŞ	1,14±0,03 aB	1,38±0,05 bB
Cy-3-glu	HŞ	3,05±0,19 aA	4,81±0,26 bA
	GŞ	0,71±0,03 aB	0,87±0,04 bB
Peo-3-glu	HŞ	20,92±1,48 aA	32,00±1,83 bA
	GŞ	3,23±0,12 aB	4,03±0,19 bB
Mv-3-glu	HŞ	54,97±2,96 aA	74,55±2,90 bA
	GŞ	23,09±0,19 aB	24,39±0,34 aB

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler o özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$). Satırda küçük harfler, sütunda büyük harfler kullanılmıştır.

Malvidin-3-glukozit içeriği, alkol fermentasyonunun bitiminde spontan fermentasyon tekniği ile elde edilen Cabernet Sauvignon şarapta 83,26 mg/L; ticari fermentasyon tekniği ile üretilen şarapta 72,93 mg/L'dir. Spontan ham CS şarapların daha yüksek Mv-3-Glu içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Diğer yandan, spontan fermentasyon tekniği ile elde edilen ham Karalahna şarapta Mv-3-glu içerikleri 54,97 mg/L, ticari fermentasyon tekniği ile üretilen şarapta 74,55 mg/L'dir. Literatürde Cabernet Sauvignon şarabının Mv-3-Glu konsantrasyonunun 23-194 mg/L arasında değiştiği bildirilmektedir (Li ve ark., 2011; Andrade ve ark., 2013). 6 ay olgunlaşma sürecinin ardından, spontan fermentasyonla üretilen CS şarabın ticari teknikle elde edilene göre yaklaşık % 41 daha fazla Mv-3-Glu içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte Mv-3-Glu içeriği, olgunlaşma süreci ile spontan fermentasyon CS şarapta %52 azalırken, bu kayıp ticari teknikle üretilen CS şarapta %61,3 olmuştur.

Peonidin-3-glukozit miktarı, alkol fermentasyonunun bitiminde spontan fermentasyon tekniği ile elde edilen Cabernet Sauvignon şarapta 3,40 mg/L; ticari fermentasyon tekniği ile üretilen şarapta ise 2,66 mg/L'dir. Spontan ham CS şarapların daha yüksek Peo-3-Glu içeriğine sahip olduğu görülmekte ve bu farklılık istatistiksel yönden anlamlı bulunmuştur

($P \leq 0,05$). Literatürde Cabernet Sauvignon şarabının Peo-3-Glu konsantrasyonunun 5-48 mg/L arasında değiştiği bildirilmektedir (Li ve ark., 2011; Andrade ve ark., 2013). 6 ay olgunlaşma sürecinin ardından ise spontan fermentasyon CS şarabın ticari maya fermentasyonu ile elde edilene göre yaklaşık olarak %64,3 daha fazla Peo-3-Glu içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Olgunlaşma süreci ile birlikte Peo-3-Glu miktarında spontan fermentasyonla üretilen CS şarap için %52,6 azalma varken, ticari fermentasyonla elde edilen CS şarapta %63,2 kayıp söz konusudur.

Delfinidin-3-glukozit miktarı, alkol fermentasyonunun bitiminde spontan fermentasyon ile üretilen Cabernet Sauvignon şarapta 2,25 mg/L iken, ticari maya inokülasyonu ile üretilen şarapta 1,94 mg/L'dir. Spontan ham şarapların daha yüksek Dp-3-Glu içeriğine sahip olduğu görülmekle birlikte, şaraplar arasında istatistik yönünden farklılık olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Literatürde Cabernet Sauvignon şarabının Dp-3-Glu konsantrasyonunun 6-58 mg/L arasında değiştiği bildirilmektedir (Li ve ark., 2011; de Andrade ve ark., 2013). Olgunlaşma sürecinin sonunda ise spontan fermentasyonla elde edilen CS şarabın ticari teknikle üretilen şaraba göre yaklaşık olarak %37 düzeyinde daha fazla Dp-3-Glu içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Olgunlaşma sürecinde spontan fermentasyonla elde edilen CS şarap için Dp-3-Glu miktarında %48,9 kayıp söz konusu olmuştur. Ticari fermentasyon yoluyla elde edilen CS şarapta ise bu kayıp %56,7'dir.

Siyanidin-3-glukozit içeriği, alkol fermentasyonunun bitiminde spontan fermentasyon Cabernet Sauvignon şarap için 0,51 mg/L iken, ticari fermentasyon şarapta 0,45 mg/L'dir. Spontan ham CS şarapların daha yüksek Cy-3-Glu içeriğine sahip olduğu görülmekte ve sonuçlar istatistiksel yönden farklı bulunmuştur. Literatürde Cabernet Sauvignon şarabının Cy-3-Glu konsantrasyonunun 1,5-16 mg/L arasında değiştiği bildirilmektedir (Li ve ark., 2011; Andrade ve ark., 2013). Olgunlaşma sürecinin ardından ise spontan fermentasyon CS şarabın yaklaşık olarak %17,9 daha fazla Cy-3-Glu içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Olgunlaşma süreci ile birlikte Cy-3-Glu miktarında spontan fermentasyonla üretilen şarapta %9,8 azalma görülürken, ticari teknikle üretilen şarapta %13,3 kayıp söz konusudur.

Genel olarak her iki fermentasyon yönteminde de olgunlaşma süreci sonunda şaraplardaki antosiyanin miktarında önemli ölçüde azalma meydana gelmiştir. Özellikle Peo-3-glu Karalahna şarabında olgunlaşma sonucu spontan fermentasyonda 20,92'den 3,23 mg/L'ye ve ticari fermentasyonda 32,00'den 4,03 mg/L'ye düşerek yaklaşık %80 kayba uğramıştır. Bu azalma, antosiyaninlerin olgunlaşma ve/veya depolama aşamasında kondenzasyon reaksiyonları sonucunda polimerik yapılara dönüşümü ile açıklanmaktadır. Böylece değişen antosiyanin profiline bağlı olarak şarabın renginde de değişimler meydana

gelmektedir (Wang ve ark., 2003). Lingua ve ark. (2016)'nın yaptığı bir çalışmada da ticari fermentasyonla elde edilen Şiraz, Merlot ve Cabernet Sauvignon kırmızı şaraplarında yaklaşık 5 aylık bir olgunlaşma sürecinde antosiyanin miktarlarında azalma olduğu ve en fazla kaybın mv-3-glu'te olduğu saptanmıştır. Yapılan bazı çalışmalar bu durumun hidroliz, maya hücre duvarının adsorpsiyon özelliği veya antosiyaninlerin türevlerine parçalanmasından kaynaklanabileceğini göstermiştir (Barcia ve ark.,2014; Ginjom ve ark., 2011). Morata ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada bazı maya türlerinin %9,4-11,5 oranında antosiyanin adsorpsiyon gücüne sahip olduğu tespit edilmiştir.

4.3.3 Şarapların Fenolik Bileşikleri

4.3.3.1 Şarapların Toplam Fenolik Madde Miktarları

Spontan ve ticari fermentasyon teknikleri ile üretilen Cabernet Sauvignon ve Karalahna şaraplarının toplam fenolik madde miktarları ham ve genç şaraplarda ayrı ayrı belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.13'de verilmiştir.

Tablo 4.13'de görüldüğü gibi, toplam fenolik madde miktarlarının her iki üretim tekniğinde de Karalahna şaraplarında (2358-3052 mg/L), Cabernet Sauvignon şaraplarından (1391-1776 mg/L) daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, Ataol (2012) da Bozcaada'da yetiştirilen 6 farklı siyah üzüm çeşidinden (Karasakız, Karalahna, Cabernet Sauvignon, Merlot, Shiraz, Alicante B.) elde edilen kırmızı şaraplar arasında, Karalahna üzümünden elde edilen şarabın en yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğunu saptamıştır. Söz konusu çalışmada, alkol fermentasyonu bitiminde Karalahna üzümünden elde edilen şarabın toplam fenolik madde içeriği 3077 mg/L, Cabernet Sauvignon üzümünden elde edilen şarabın toplam fenolik madde içeriği ise 2160 mg/L olarak saptanmıştır. Literatürde, toplam fenolik madde miktarının üzümün cinsi, yetiştiği bölge, şarap üretimi sırasında kullanılan işleme teknikleri gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebildiği bildirilmektedir. Farklı işleme teknikleriyle elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarında toplam fenolik madde içeriğinin gallik asit eşdeğeri olarak 911-1410 mg/L arasında olduğu belirlenmiştir (Atanackovic ve ark., 2012). Başka bir çalışmada ise Avustralya'nın farklı bölgelerinde yetişen Cabernet Sauvignon üzümlerinden üretilen şaraplarda toplam fenolik miktarının 1673-3503 mg/L arasında değiştiği saptanmıştır (Ginjom ve ark., 2010). Farklı Balkan ülkelerinde yetişen Cabernet Sauvignon üzümlerinden elde edilen kırmızı şaraplarda ise toplam fenol içeriğinin 997-1759 mg/L aralığında değiştiği belirlenmiştir (Radovanović ve ark., 2010). Ülkemizde gerçekleştirilen bir çalışmada ise üç farklı markaya ait Cabernet Sauvignon şaraplarında toplam fenolik madde miktarı ortalama

1216 mg/L olarak bulunmuştur (Baydar ve ark., 2011).

Tablo 4.13 Şarapların toplam fenolik madde içerikleri

Şarap	Spontan Fermentasyon	Ticari Maya Fermentasyonu
<i>Cabernet Sauvignon</i>		
Ham şarap	1570,15±42,29 ^{aA}	1391,36±20,29 ^{bA}
Genç şarap	1776,97±38,98 ^{aB}	1553,48±45,14 ^{bB}
<i>Karalahna</i>		
Ham şarap	2588,48±134,59aA	2852,42±81,03 aA
Genç şarap	2358,48±47,57aA	3052,42±196,28bA

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. Toplam fenolik madde miktarları gallik asit cinsinden mg/L olarak verilmiştir. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler belirtilen özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$). Satırlarda küçük harf, sütunlarda büyük harfler kullanılmıştır.

Fermentasyon teknikleri karşılaştırıldığında, spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şarabın, alkol fermentasyonunun bitiminde (ham şarap) ve 6 ay şişede olgunlaşma sonunda (genç şarap) daha yüksek fenolik madde içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. Diğer yandan, ticari fermentasyon yöntemi ile elde edilen Karalahna şarapların toplam fenolik madde miktarı spontan fermentasyon ile elde edilen şarapların toplam fenolik madde miktarından daha yüksek olarak belirlenmiştir. Spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarda 6 aylık olgunlaşma süresi sonunda, şarabın toplam fenolik madde içeriğinde %13,2, ticari maya inokülasyonu ile elde edilen şarapta ise %11,6 düzeyinde artış söz konusudur. Karalahna şaraplarında ise, şarapların olgunlaşma sürecinde toplam fenolik madde miktarında istatistiksel olarak bir değişim meydana gelmediği sonucuna ulaşılmıştır.

4.3.3.2 Şarapların Fenolik Madde Kompozisyonları

Cabernet Sauvignon üzümlerinden spontan ve ticari fermentasyon teknikleri ile üretilen şarapların fenolik madde dağılımları ve miktarları ham ve genç şaraplarda ayrı ayrı belirlenmiştir. Şaraplarda gallik asit, (+) kateşin, kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve epikateşin gallat olmak üzere 6 adet fenolik bileşik tanımlanarak miktarları belirlenmiştir. Tanımlanan fenolik maddelerin şarap örneklerindeki miktarları Tablo 4.14 ve 4.15’de görülmektedir.

Tablo 4.14 Cabernet Sauvignon şarapların fenolik madde kompozisyonları

Fenolik bileşikler	Örnek	Spontan	Ticari Maya
		Fermentasyon	Fermentasyonu
Gallik asit	HŞ	40,0±1,6 ^{aA}	33,6±0,9 ^{bA}
	GŞ	60,8±2,1 ^{aB}	49,7±0,6 ^{bB}
(+) Kateşin	HŞ	82,8±1,7 ^{aA}	65,3±3,1 ^{bA}
	GŞ	62,5±4,2 ^{aA}	45,9±1,5 ^{bB}
Kafeik asit	HŞ	2,7±0,1 ^{aA}	4,1±0,4 ^{bA}
	GŞ	1,7±0,3 ^{aA}	2,4±0,2 ^{aB}
<i>p</i> -Kumarik asit	HŞ	1,8±0,1 ^{aA}	1,6±0,2 ^{aA}
	GŞ	0,9±0,1 ^{aB}	0,8±0,1 ^{aB}
Epikateşin gallat	HŞ	5,8±0,2 ^{aA}	4,4±0,3 ^{bA}
	GŞ	4,4±0,6 ^{aB}	8,3±0,5 ^{bB}

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. Fenolik bileşik konsantrasyonları mg/L cinsinden hesaplanmıştır. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler belirtilen özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$). Satırlarda küçük harf, sütunlarda büyük harfler kullanılmıştır.

Tablo 4.15 Karalahna şaraplarının fenolik madde kompozisyonları

Fenolik bileşikler	Örnek	Spontan	Ticari Maya
		Fermentasyon	Fermentasyonu
Gallik asit	HŞ	102,98±7,29aA	122,00±6,21aA
	GŞ	191,88±4,26aB	213,61±5,13bB
(+) Kateşin	HŞ	200,89±14,03aA	242,73±13,23bA
	GŞ	156,04±3,40aB	179,73±3,19bB
Kafeik asit	HŞ	12,28±0,25aA	13,06±0,30aA
	GŞ	15,50±0,15aB	16,18±0,38aB
<i>p</i> -kumarik asit	HŞ	8,10±0,06aA	8,76±0,11bA
	GŞ	10,05±0,12aB	11,01±0,18bB
Ferulik asit	HŞ	12,81±0,23aA	14,04±0,33bA
	GŞ	14,96±0,11aB	15,48±0,17bB

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler o özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$). Satırda küçük harfler, sütunda büyük harfler kullanılmıştır.

Tablo 4.14 incelendiğinde, spontan ve ticari maya fermentasyonu ile elde edilen genç Cabernet Sauvignon şaraplar arasında fenolik madde profilleri yönünden önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Tanımlanan fenolik bileşiklerden gallik asidin miktarı spontan genç şarapta 60,8 mg/L iken ticari genç şarapta 49,7 mg/L olarak saptanmıştır. Ayrıca, 6 aylık depolama ve olgunlaşma süreci sonunda gallik asit miktarının spontan ve ticari fermentasyon şaraplarında yaklaşık % 50 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir. Anlı ve Vural (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, Türkiye'nin üç farklı bölgesinde (Trakya, Orta Anadolu ve Ege) yetiştirilen Cabernet Sauvignon üzümlerinden elde edilen kırmızı şaraplarda gallik asit miktarı 61-68 mg/L aralığında bulunmuştur. Radovanović ve ark. (2010) ise farklı Balkan ülkelerinde yetişen Cabernet Sauvignon üzümlerinden üretilen kırmızı şaraplarda gallik asit miktarının 22-101 mg/L arasında değiştiğini belirlemiştir. Tespit edilen gallik asit konsantrasyonları literatüre uygun bulunmuştur. Genel olarak, spontan fermentasyonla elde edilen şarapların gallik asit miktarlarının ticari maya fermentasyonu ile üretilenlere göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

(+) Kateşin konsantrasyonu Cabernet Sauvignon spontan genç şarapta, ticari maya inokülasyonu ile elde edilene göre önemli derecede yüksek düzeyde bulunmuştur. Spontan genç şarabın 62,5 mg/L, ticari genç şarabın ise 45,9 mg/L (+) düzeyinde kateşin içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda Cabernet Sauvignon şaraplarının (+) kateşin miktarının 11,4-66,9 mg/L arasında değiştiği belirlenmiştir (Baydar ve ark., 2011; Gürbüz ve ark., 2007; Radovanović ve ark., 2010). Alkol fermentasyonunun ardından geçen 6 aylık süreçle birlikte (+) kateşin miktarlarında spontan ve ticari şaraplar için sırasıyla % 24,5 ve 29,7 düzeyinde azalma meydana gelmiştir.

Epikateşin gallat konsantrasyonu Cabernet Sauvignon şaraplarında 4,4-8,3 mg/L arasında değişmektedir. Ticari genç şarapların daha yüksek epikateşin gallat içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir. Şarapların kafeik asit miktarları ham ve genç şaraplar için 1,7-4,1 mg/L arasında değişmektedir. Genç şaraplar arasında istatistiksel yönden önemli bir fark görülmemekle birlikte ticari maya ile elde edilen şaraplarda daha yüksek miktarda bulunduğu saptanmıştır. Literatürde Cabernet Sauvignon şaraplarının kafeik asit konsantrasyonu 2,1-8,9 mg/L arasında değişmektedir. Elde edilen sonuçlar literatüre uygun bulunmuştur.

Cabernet Sauvignon şarapların *p*-kumarik asit miktarı ise 0,8-1,8 mg/L arasında bulunmuş ve 6 aylık süreçte azalma gösterdiği belirlenmiştir. Baydar ve ark. (2011) gerçekleştirdikleri bir çalışmada, üç farklı markadan olmak üzere piyasadan temin ettikleri Cabernet Sauvignon şaraplarında *p*-kumarik asit miktarını 0,45 mg/L olarak saptamışlardır.

Radovanović ve ark. (2010) ise farklı Balkan ülkelerinden temin edilen Cabernet Sauvignon şaraplarında *p*-kumarik asit konsantrasyonunun 0,6-8,3 mg/L arasında değiştiğini saptamışlardır.

Tablo 4.15’de görüldüğü gibi, Karalahna şarapların fenolik madde dağılımı ve miktarı incelendiğinde, şaraplardaki (+) kateşin miktarının (179,73-242,73 mg/L) diğer fenolik maddelere oranla daha fazla olduğu görülmektedir. (+) Kateşinden sonra ise ikinci yüksek konsantrasyondaki fenolik madde gallik asittir (102,98-213,61 mg/L). Diğer yandan, Ataol (2012)’un yerli siyah üzüm çeşitleri ile yapmış olduğu çalışmada Karalahna şarabının gallik asit miktarı 84,53 mg/L ile en yüksek değere sahip fenolik madde olmuştur.

Karalahna şaraplarında da fenolik bileşenlerin uygulanan fermentasyon yöntemine göre istatistiksel olarak farklılık gösterdiği saptanmıştır. Gallik asit, kafeik asit, ferulik asit ve *p*-kumarik asit konsantrasyonları olgunlaşma süreciyle beraber artış göstermiştir. Örneğin, gallik asit konsantrasyonu spontan fermentasyonda 102,98 mg/L’den 191,88 mg/L’ye ve ticari maya fermentasyonunda ise 122 mg/L’den 213,61 mg/L’ye çıkarak olgunlaşma sürecinde en fazla artış gösteren fenolik bileşen olmuştur. (+) Kateşin değeri ise spontan fermentasyonda 200,89 mg/L’den 156,04 mg/L’ye ve ticari maya fermentasyonunda 242,73 mg/L’den 179,73 mg/L’ye düşerek olgunlaşma sürecinde önemli bir kayba uğramıştır.

4.3.4 Şarapların Uçucu Bileşen Kompozisyonları

Cabernet Sauvignon üzümlerinden spontan ve ticari fermentasyon teknikleri ile elde edilen ham ve genç şarapların uçucu bileşenleri GC-MS ile belirlenmiş ve miktarları iç standart yöntemi ile hesaplanmıştır. Cabernet Sauvignon şarap örneklerinde 17 alkol ve 17 ester bileşiği saptanmıştır. Bunların yanında farklı bileşik gruplarına ait olan 4 adet diğer uçucu madde de tanımlanarak miktarları belirlenmiştir. Karalahna şaraplarda ise 9 alkol, 18 ester ve 2 diğer bileşen olmak üzere toplam 29 adet uçucu bileşen tespit edilmiştir. Uçucu bileşenlere ait elde edilen GC-MS kromatogramları Ek 4’te yer almaktadır.

Cabernet Sauvignon ve Karalahna üzümlerinden spontan ve ticari fermentasyon teknikleri ile üretilen şaraplarda tanımlanan ve miktarları belirlenen uçucu bileşenler sırasıyla Tablo 4.16 ve 4.17’de verilmiştir. Söz konusu çizelgede uçucu bileşen miktarları, kolondaki alıkonma zamanı, hesaplanan alıkonma indeks değeri ve aroma tanımlayıcıları ile birlikte yer almaktadır.

Tablo 4.16 Cabernet Sauvignon şarapların uçucu bileşen kompozisyonları

Uçucu bileşenler	Alıkonma zamanı, dk	Alıkonma indeksi*	Aroma tanımlayıcıları	Örnek	Spontan Fermentasyon	Ticari Maya Fermentasyonu
Yüksek Alkoller						
İzoamil alkol	3,1	734	Peynir ²	HŞ	23,51±1,19 ^{aA}	39,38±1,38 ^{bA}
				GŞ	23,92±0,85 ^{aA}	40,51±1,74 ^{bA}
2-Metil-1-bütanol	3,2	739	-	HŞ	5,72±0,40 ^{aA}	7,84±0,48 ^{bA}
				GŞ	6,23±0,27 ^{aA}	6,78±0,36 ^{aA}
1-Pentanol	3,6	761	Balsamik ¹	HŞ	0,06±0,01 ^{aA}	0,06±0,01 ^{aA}
				GŞ	0,04±0,01 ^{aA}	0,07±0,01 ^{bA}
(S)-(+)-3-Metil-1-pentanol	5,7	840	Toprak, mantar ³	HŞ	0,03±0,01 ^{aA}	0,09±0,01 ^{bA}
				GŞ	0,04±0,01 ^{aB}	0,10±0,01 ^{bA}
(Z) 3-Hekzen-1-ol	6,2	854	Yeşil, bitter ¹	HŞ	0,04±0,01 ^{aA}	0,03±0,01 ^{bA}
				GŞ	0,04±0,01 ^{aA}	0,04±0,01 ^{aA}
1-Hekzanol	6,6	865	Yeşil, çimen ¹	HŞ	3,97±0,24 ^{aA}	4,97±0,29 ^{bA}
				GŞ	3,93±0,04 ^{aA}	5,09±0,26 ^{Ba}

Tablo 4.16'nin devamı

1-Heptanol	11,4	968	Tatlı ² , limon ¹ , yağsı ⁵	HŞ	0,22±0,02 ^{aA}	0,31±0,03 ^{bA}
				GŞ	0,20±0,01 ^{aA}	0,35±0,03 ^{bA}
1-Okten-3-ol	11,8	975	Mantar ¹	HŞ	0,19±0,01 ^{aA}	0,19±0,01 ^{aA}
				GŞ	0,18±0,01 ^{aA}	0,25±0,02 ^{aB}
3-Oktanol	12,8	994	-	HŞ	0,04±0,01 ^{aA}	0,04±0,01 ^{aA}
				GŞ	0,05±0,01 ^{aA}	0,07±0,01 ^{aB}
(s)-3-Etil-4-metilpentanol	14,3	1019	-	HŞ	0,67±0,05 ^{aA}	0,60±0,06 ^{aA}
				GŞ	0,60±0,08 ^{aB}	1,30±0,11 ^{bB}
Benzil alkol	14,8	1027	Sitrus ² , tatlı ²	HŞ	0,60±0,09 ^{aA}	0,48±0,05 ^{aA}
				GŞ	0,49±0,06 ^{aA}	0,76±0,09 ^{bB}
1-Oktanol	17,5	1069	Sitrus, gül ²	HŞ	0,40±0,03 ^{aA}	2,03±0,16 ^{bA}
				GŞ	0,36±0,01 ^{aA}	2,26±0,20 ^{bA}
2-Nonanol	19,4	1099	-	HŞ	0,25±0,11 ^{aA}	0,06±0,01 ^{aA}
				GŞ	0,26±0,11 ^{aA}	0,10±0,03 ^{aB}
Feniletıl alkol	19,7	1104	Gül, bal ¹	HŞ	11,45±1,81 ^{aA}	17,15±1,36 ^{bA}
				GŞ	7,55±0,88 ^{aA}	14,58±1,60 ^{bA}

Tablo 4.16'nın devamı

(6Z)-Nonen-1-ol	24,0	1168	-	HŞ	0,09±0,01 ^{aA}	0,09±0,01 ^{aA}
				GŞ	0,09±0,01 ^{aA}	0,10±0,01 ^{aA}
1-Nonanol	24,1	1170	Ahududu ¹	HŞ	0,36±0,02 ^{aA}	0,40±0,05 ^{aA}
				GŞ	0,37±0,04 ^{aA}	0,47±0,06 ^{aA}
1-Dekanol	30,7	1270	Çiçek ²	HŞ	0,11±0,01 ^{aA}	0,23±0,03 ^{bA}
				GŞ	0,29±0,03 ^{aB}	0,29±0,06 ^{aA}
Toplam Yüksek Alkoller				HŞ	47,8	73,9
				GŞ	44,6	73,1
Esterler						
Etil asetat	1,8	616	Meyve ¹ , tatlı ²	HŞ	245,83±6,18 ^{aA}	121,53±12,50 ^{bA}
				GŞ	297,50±34,78 ^{aA}	106,02±7,81 ^{bA}
İzobütil asetat	3,8	772	Muz ¹	HŞ	4,90±0,27 ^{aA}	2,00±0,18 ^{bA}
				GŞ	4,26±0,29 ^{aA}	1,69±0,15 ^{bA}
Etil bütanoat	4,4	803	Elma ¹	HŞ	2,17±0,20 ^{aA}	4,15±0,19 ^{bA}
				GŞ	1,97±0,17 ^{aA}	3,73±0,28 ^{bA}

Tablo 4.16'nın devamı

İzoamil asetat	6,9	874	Muz ¹	HŞ	33,97±0,81 ^{aA}	24,99±0,06 ^{bA}
				GŞ	41,43±2,07 ^{aB}	23,22±1,12 ^{bA}
2-Metilbütil asetat	7	877	Armut ¹	HŞ	10,63±0,47 ^{aA}	8,57±0,48 ^{aA}
				GŞ	10,22±0,57 ^{aA}	8,33±0,60 ^{aA}
Etil hekzanoat	13,1	1000	Meyve, anason ²	HŞ	41,60±2,00 ^{aA}	78,56±3,39 ^{bA}
				GŞ	46,77±3,30 ^{aA}	65,28±4,36 ^{bB}
Hekzil asetat	13,9	1013	Armut ¹ , elma ⁵	HŞ	3,49±0,13 ^{aA}	2,75±0,13 ^{bA}
				GŞ	4,14±0,32 ^{aB}	2,96±0,20 ^{bA}
İzoamil laktat	17,2	1064	Meyve, krema, fındık ⁴	HŞ	1,96±0,22 ^{aA}	1,02±0,15 ^{bA}
				GŞ	1,84±0,16 ^{aA}	3,36±0,17 ^{bB}
Etil heptanoat	19,3	1097	Meyve ¹	HŞ	1,21±0,16 ^{aA}	1,51±0,08 ^{aA}
				GŞ	0,83±0,07 ^{aA}	0,55±0,02 ^{bB}
Oktanoik asit, 2-metil- metil ester	23,4	1159	-	HŞ	3,04±0,06 ^{aA}	2,98±0,15 ^{aA}
				GŞ	2,68±0,08 ^{aB}	2,88±0,04 ^{aA}

Tablo 4.16'nın devamı

Dietil süksinat	24,8	1180	Meyve ¹ Kavun ⁵	HŞ	1,98±0,30 ^{aA}	5,65±0,88 ^{bA}
				GŞ	5,93±0,68 ^{aB}	68,73±11,09 ^{bB}
Metil salisilat	25	1183	-	HŞ	3,97±0,19 ^{aA}	5,23±0,64 ^{aA}
				GŞ	11,84±0,54 ^{aB}	27,73±1,96 ^{bB}
Etil oktanoat	25,9	1197	Ananas, armut, çiçek ²	HŞ	40,63±5,38 ^{aA}	146,26±14,70 ^{bA}
				GŞ	47,47±3,14 ^{aA}	100,77±9,21 ^{bB}
Feniletil asetat	29,4	1250	Çiçek, gül ¹	HŞ	4,92±0,35 ^{aA}	3,72±0,12 ^{bA}
				GŞ	5,07±0,38 ^{aA}	3,26±0,23 ^{bB}
Etil salisilat	30,1	1261	-	HŞ	2,31±0,12 ^{aA}	2,14±0,06 ^{aA}
				GŞ	3,03±0,28 ^{aB}	3,10±0,19 ^{aB}
Bütil bütanoat	36,7	1363	-	HŞ	Belirlenemedi	1,95±0,69
				GŞ	Belirlenemedi	Belirlenemedi
Etil dekanolat	38,6	1393	Meyve ¹	HŞ	6,14±0,66 ^{aA}	17,95±2,13 ^{bA}
				GŞ	9,81±0,52 ^{aB}	18,90±2,44 ^{bA}
Toplam Esterler				HŞ	408,8	430,9
				GŞ	494,8	440,5

Tablo 4.16'nın devamı

Diğerleri						
Bütürolakton	8,6	915	Tatlı, karamel ⁵	HŞ	Belirlenemedi	Belirlenemedi
				GŞ	0,19±0,05 ^a	1,30±0,16 ^b
Oksime-metoksi-fenil	8,7	917	Bal	HŞ	6,34±1,76 ^{aA}	2,49±0,42 ^{aA}
				GŞ	3,44±0,42 ^{aA}	6,74±0,62 ^{bB}
Hekzanoik asit	12,6	991	Peynir, ransit, yağsı ²	HŞ	0,79±0,15 ^{aA}	0,99±0,11 ^{aA}
				GŞ	0,36±0,08 ^{aB}	1,15±0,18 ^{bA}
Limonen	14,5	1022	Çiçek, yeşil, sitrus ²	HŞ	0,78±0,25 ^{aA}	0,98±0,34 ^{aA}
				GŞ	0,32±0,01 ^{aA}	0,13±0,06 ^{bB}

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. Uçucu bileşenlerden alkollerin konsantrasyonu mg/L, esterlerin ve diğer bileşiklerinki ise µg/L cinsinden hesaplanmıştır. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler belirtilen özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($P \leq 0,05$). Satırlarda küçük harf, sütunlarda büyük harfler kullanılmıştır.

* HP5 kolondaki alıkonma indeks değeri

¹ Soares ve ark., 2015

² Jiang ve ark., 2013

³ Tao ve Li, 2009

⁴ Anonim, 2016

⁵ Cai ve ark., 2014

Tablo 4.17 Karalahna şarapların uçucu bileşen kompozisyonları

Uçucu Bileşenler	Alıkonma Zamanı (dk)	Alıkonma İndeksi*	Aroma Tanımlayıcıları	Örnek	Spontan Fermentasyon	Ticari Maya Fermentasyon
Yüksek Alkoller (mg/L)						
İzoamil alkol	3,1	733	Peynir ²	HŞ	27,56±1,35 ^{aA}	29,86±0,75 ^{Aa}
				GŞ	36,67±1,04 ^{aB}	35,38±1,10 ^{aB}
2-metil-1-bütanol	3,2	739	-	HŞ	9,45±0,50 ^{aA}	9,10±0,20 ^{aA}
				GŞ	11,80±0,44 ^{aB}	12,38±0,39 ^{aB}
1-hekzanol	6,6	865	Çimen ¹	HŞ	1,63±0,07 ^{aA}	1,79±0,03 ^{aA}
				GŞ	1,68±0,04 ^{aA}	1,66±0,05 ^{aB}
1-heptanol	11,4	967	Limon ¹	HŞ	1,04±0,03 ^{aA}	1,17±0,04 ^{aA}
				GŞ	0,94±0,04 ^{aB}	0,84±0,04 ^{aB}
1-okten-3-ol	11,8	975	Mantar ¹	HŞ	0,29±0,01 ^{aA}	0,30±0,02 ^{aA}
				GŞ	0,27±0,01 ^{aA}	0,21±0,01 ^{bB}
6-metil-5-hepten-2-ol	12,5	988	-	HŞ	0,05±0,01 ^{aA}	0,04±0,01 ^{bA}
				GŞ	0,05±0,01 ^{aA}	0,03±0,01 ^{bB}
1-oktanol	17,5	1069	Yoğun citrus, gül ²	HŞ	0,34±0,01 ^{aA}	0,42±0,01 ^{bA}
				GŞ	0,29±0,02 ^{aB}	0,24±0,02 ^{aB}
Fenil etil alkol	19,7	1103	Gül, bal ¹	HŞ	14,39±0,76 ^{aA}	12,95±0,73 ^{aA}
				GŞ	16,57±0,51 ^{aB}	8,93±0,54 ^{bB}
1-nonanol	24,1	1169	Ahududu ¹	HŞ	0,59±0,03 ^{aA}	0,74±0,02 ^{bA}
				GŞ	0,48±0,03 ^{aB}	0,49±0,18 ^{aB}

Tablo 4.17'nin devamı

Toplam Yüksek Alkol				HŞ	55,34	56,37
				GŞ	68,75	60,16
Esterler (µg/L)						
Etil asetat	1,8	615	Meyve, tutkal ³	HŞ	12,43±0,49 ^{aA}	11,55±2,11 ^{aA}
				GŞ	26,81±1,20 ^{aB}	30,32±1,15 ^{aB}
Etil hekzanoat	13,1	1000	Meyvemsi, anason ²	HŞ	43,80±1,86 ^{aA}	34,85±0,79 ^{bA}
			Yeşil elma ³	GŞ	48,86±1,72 ^{aA}	45,28±2,96 ^{aB}
Etil oktanoat	25,9	1196	Ananas, armut, çiçek ²	HŞ	81,06±17,05 ^{aA}	31,83±2,32 ^{bA}
			kavun, odunsu ⁴ , muz ³	GŞ	53,65±3,72 ^{aA}	39,60±10,01 ^{bA}
Etil dekanoat	38,6	1393	Meyvemsi ¹	HŞ	8,28±2,91 ^{aA}	1,47±0,31 ^{aA}
			Üzüm ³ Çiçek, sabun ⁴	GŞ	3,19±0,30 ^{aA}	3,08±0,65 ^{aB}
İzobütil asetat	3,8	772	Muz ¹ , çilek ³	HŞ	1,87±0,26 ^{aA}	1,59±0,07 ^{aA}
				GŞ	2,26±0,18 ^{aA}	2,43±0,20 ^{aB}
Etil bütanoat	4,4	802	Elma ¹	HŞ	4,02±0,23 ^{aA}	3,74±0,13 ^{aA}
			Çilek, laktik ⁴	GŞ	5,42±0,43 ^{aB}	4,65±0,26 ^{aB}
İzoamil asetat	6,9	873	Muz ¹	HŞ	15,20±0,71 ^{aA}	15,80±0,33 ^{aA}
				GŞ	16,12±0,56 ^{aA}	18,97±0,84 ^{bB}
1-bütanol 2-metil asetat	7,0	876	Armut ¹	HŞ	3,71±0,17 ^{aA}	4,08±0,07 ^{aA}
(2 metil bütül asetat)				GŞ	4,64±0,14 ^{aB}	5,92±0,28 ^{bB}

Tablo 4.17'nin devamı

Etil-2-hekzanoat	15,7	1040	Baharat, şeker, toprağımsı ⁴	HŞ	0,24±0,01 ^{aA}	0,25±0,01 ^{aA}
				GŞ	0,56±0,02 ^{aB}	0,54±0,10 ^{aB}
Etil heptanoat	19,3	1097	Meyvemsi ¹	HŞ	6,71±0,88 ^{aA}	3,36±0,16 ^{bA}
				GŞ	5,97±0,21 ^{aA}	4,48±0,45 ^{bB}
Oktanoik asit, 2-metil-metil ester	23,4	1159	-	HŞ	1,30±0,07 ^{aA}	1,35±0,07 ^{aA}
				GŞ	1,18±0,07 ^{aA}	1,10±0,04 ^{aB}
Dietil süksinat	24,8	1180	Meyve ¹ Olgunlaşmış kavun, lavanta ³	HŞ	1,15±0,06 ^{aA}	1,19±0,05 ^{aA}
				GŞ	40,70±2,34 ^{aB}	31,68±2,92 ^{bB}
Benzen asetic asit, etil ester	28,6	1237	-	HŞ	1,95±0,08 ^{aA}	2,11±0,21 ^{aA}
				GŞ	9,51±0,33 ^{aB}	7,69±0,65 ^{bB}
Fenil etil asetat	29,4	1249	Gül ¹ Meyvemsi, bal, çiçeğımsi ³	HŞ	0,88±0,03 ^{aA}	0,80±0,01 ^{bA}
				GŞ	1,10±0,06 ^{aB}	1,03±0,09 ^{aA}
Etil nonanoat	32,4	1295	Çiçeğımsi, meyvemsi ¹ Gül, mumsu, rom ⁴	HŞ	1,64±0,38 ^{aA}	0,85±0,04 ^{aA}
				GŞ	0,58±0,07 ^{aB}	0,44±0,07 ^{aB}
Propanoik asit, 2-hidroksi etil ester	4,7	811	-	HŞ	Belirlenemedi	Belirlenemedi
				GŞ	2,13±0,21 ^a	1,75±0,23 ^a
Bütanoik asit, 2-metil etil ester	6,0	848	-	HŞ	Belirlenemedi	Belirlenemedi
				GŞ	0,68±0,03 ^a	0,73±0,05 ^a
Bütanoik asit, 3-metil etil ester	6,1	850	-	HŞ	Belirlenemedi	Belirlenemedi
				GŞ	1,86±0,10 ^a	1,91±0,12 ^a
Toplam ester				HŞ	184,23	114,9
				GŞ	225,22	202,85

Tablo 4.17'nin devamı

Diğer (µg/L)						
Oksime metoksi fenil	8,7	916	-	HŞ	5,72±0,74 ^{aA}	7,76±1,02 ^{Aa}
				GŞ	10,90±1,36 ^{aB}	8,16±1,86 ^{aA}
Vitispiran	30,6	1268	Vanilya, ayva ⁴	HŞ	Belirlenemedi	Belirlenemedi
				GŞ	2,72±0,14 ^a	2,07±0,13 ^b

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler o özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir (p≤0,05). Satırda küçük harfler, sütunda büyük harfler kullanılmıştır. ¹Soares ve ark. (2015), ²Tao ve Li (2009), ³Lukic ve ark. (2016), ⁴Wang ve ark. (2016), ⁵Cai ve ark. (2014)

Cabernet Sauvignon şaraplarda tespit edilen uçucu bileşenlerden alkol grubunda olanlar arasında izoamil alkol, 2-metil-1-bütanol, 1-hekzanol ve feniletıl alkol; esterler arasında etıl asetat, etıl hekzanoat, etıl oktanoat ve izoamil asetatın yüksek konsantrasyonlarıyla uçucuların büyük kısmını oluşturduğu görülmektedir. İki fermentasyon tekniği de incelendiğinde (tablo 4.16); alkol fermentasyonu bitiminde alınan Cabernet Sauvignon ham şarap örnekleri ile genç şarap örnekleri arasında, 1-okten-3-ol, 1-dekanol, (s)-3-etıl-4-metil-pentanol, (s)-(+)-3-metil-1-pentanol, 3-oktanol, benzil alkol ve 2-nonanol konsantrasyonları açısından değişim görülürken, tanımlanan diğer alkol bileşiklerinde önemli bir fark saptanmamıştır. Genel olarak; alkol fermentasyonunun ardından geçen 6 aylık sürecin yüksek alkollerin konsantrasyonu açısından farklılık yaratmadığı ancak esterlerin bu süreçte artış gösterdiği saptanmıştır. Spontan fermentasyonla elde edilen genç şarapların toplam ester miktarı, alkol fermentasyonu bitimine (ham şarap) göre %20 artış göstermiştir.

Tablo 4.16’da, uçucu bileşenlerden yüksek alkollerin ticari maya inokülasyonu ile elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarda ön plana çıktığı, ester bileşiklerinin ise spontan fermentasyonla üretilen şaraplarda daha yüksek olduğu görülmektedir. Spontan fermentasyon ortamında *Saccharomyces* dışında da pek çok çeşit maya ve suşlarının aktivitesi sonucu çeşitli sekonder metabolitler açığa çıkmaktadır. Lleixà ve ark. (2016) gerçekleştirdikleri bir çalışmada, *S. cerevisiae* dışındaki mayalardan *Hanseniaspora vineae* ile inoküle edilerek elde edilen şarapların asetat esterlerinin *S. cerevisiae* ile inoküle edilene göre daha yüksek bulunduğunu belirtirken, alkollerin ise *S. cerevisiae*’nin inokülasyonu ile üretilenlerde yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

1-Hekzanol miktarının, spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarda 3,93 mg/L iken, ticari şaraplarda 5,09 mg/L düzeyine çıktığı görülmektedir. Diğer yandan, Varela ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, Chardonnay beyaz şaraplarında spontan fermentasyon ve ticari maya kullanımının 1-hekzanol konsantrasyonuna etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Liang ve ark. (2013) ise, farklı *S. cerevisiae* suşları ile alkol fermentasyonu sonucu elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarında 1-hekzanol konsantrasyonunun 1,98-3,08 mg/L aralığında değişim gösterdiğini belirlemişlerdir. Çalışmada elde edilen sonuçlar literatürdeki değerlere yakın olarak bulunmuştur.

Feniletıl alkol konsantrasyonu, spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon genç şaraplarda 7,55 mg/L iken, ticari genç şaraplarda 14,58 mg/L’dir. Literatürde feniletıl alkol içeriği üzüm cinsi ve olgunluğunun yanında uygulanan şarap

üretim tekniğine de bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Jiang ve ark. (2013), 4 farklı bölgeden hasat edilen Cabernet Sauvignon ve Merlot üzümlerinden elde edilen şaraplarda feniletal alkol konsantrasyonlarının 12-99 mg/L arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Cai ve ark. (2014), Cabernet Sauvignon üzümlerinden soğuk maserasyon tekniği kullanılarak üretilen şaraplarda feniletal alkol konsantrasyonunu 14,9 ve 19,5 mg/L olarak belirlemişlerdir. Diğer bir çalışmada ise farklı yerli *S. cerevisiae* suşları ile elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarının feniletal alkol konsantrasyonlarının 7,87-19,57 mg/L arasında dağılım gösterdiği saptanmıştır. Spontan ve saf maya (ticari) inokülasyonu ile elde edilen şaraplarda tespit edilen feniletal alkol konsantrasyonları literatüre uygunluk göstermektedir.

Cabernet Sauvignon şaraplarında yüksek alkollerin büyük bölümünü ise izoamil alkolün oluşturduğu görülmektedir. İzoamil alkol konsantrasyonu, spontan genç şarapta 23,92 mg/L'dir. Ticari maya inokülasyonu yoluyla elde edilen şaraplarda ise 40,51 mg/L'dir. İzoamil alkol konsantrasyonlarının literatürdeki sonuçlarla uyumlu olduğu belirlenmiştir (Jiang ve ark., 2013).

Çalışmada 1-Heptanol, 1-octanol, 1-pentanol, (s)-3-etil-4-metil-pentanol, (s)-(+)-3-metil-1-pentanol ve benzil alkolün, ticari fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarında daha yüksek konsantrasyonlara sahip oldukları tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Blanco ve ark. (2013), İspanyaya özgü bir çeşit olan Godello şaraplarında ticari maya kullanımının yüksek alkollerin konsantrasyonunda artış sağladığını kaydetmişlerdir. 2-Metil-1-Bütanol, 1-okten-3-ol, 1-nonanol, 1-decanol, (6z) nonen-1-ol, 3-hekzen-1-ol (z), 3-oktanol, 2-nonanol konsantrasyonu yönünden, olgunlaşma sonunda spontan ve ticari şaraplar arasında önemli bir fark görülmemiştir.

Ester bileşiklerinden; etil asetat, izobütül asetat, izoamil asetat, hekzil asetat, etil heptanoat ve feniletal asetat konsantrasyonlarının spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon genç şaraplarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Garde-Cerdán ve Ancín-Azpilicueta (2006) da spontan fermentasyonda etil asetat konsantrasyonunun saf *S. cerevisiae* ve karışık (yabani maya ve saf kültürün birlikte kullanımı) inokülasyona göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Lleixà ve ark. (2016) da, *Saccharomyces* dışında olan ve üzüm şirasının spontan fermentasyonunda rol oynayan *Hanseniaspora vineae* ile inoküle edilerek elde edilen şaraplarda feniletal asetat konsantrasyonunun *S. cerevisiae* ile inoküle edilene göre daha fazla olduğunu saptamışlardır.

Etil bütanoat, etil hekzanoat, izoamil laktat, dietil süksinat, metil salisilat, etil oktanoat

ve etil dekanat konsantrasyonları incelendiğinde ticari fermentasyon yöntemiyle elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarda daha yüksek olduğu görülmektedir. Garde-Cerdán ve Ancín-Azpilicueta (2006)'ın yürüttükleri bir çalışmada, etil dekanat spontan fermentasyonda oluşmazken, saf *S. cerevisiae* inokülasyonunda en yüksek seviyeye çıktığı bildirilmiştir.

2-Metilbütül asetat, oktanoik asit-2-metil-metil ester, etil salisilat konsantrasyonlarına bakıldığında spontan ve ticari fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplar arasında fark tespit edilmemiştir. Bütül bütanoat ise yalnızca ticari maya inokülasyonu ile üretilen şaraplarda belirlenmiş ancak olgunlaşma ile konsantrasyonu tespit edilebilir limitin altına düşmüştür. Etil asetat konsantrasyonu, spontan fermentasyonla elde edilen genç şarapta 297,5 µg/L, ticari maya ile üretilende ise 106 µg/L düzeyindedir. Etil hekzanoatın, ticari genç şarapta daha yüksek konsantrasyonda olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Varela ve ark. (2009) etil hekzanoat konsantrasyonunun ticari maya inokülasyonu ile elde edilen şarapta daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Etil oktanoat konsantrasyonu ise, spontan genç şarapta 47,5 µg/L, ticari genç şarapta 100,8 µg/L olarak saptanmıştır. Farklı bölgelerden hasat edilerek şaraba işlenen Cabernet Sauvignon üzümünde etil oktanoat konsantrasyonunun 141-8938 µg/L arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Jiang ve ark., 2013). İzoamil asetat, spontan genç şarapta 41,4 µg/L konsantrasyona sahipken, ticari maya kullanımında bu değer 23,2 µg/L'dir. Blanco ve ark. (2013) da spontan fermentasyonla elde edilen Godello şaraplarında benzer sonuçlar elde etmişler ancak Albariño şaraplarında ticari maya kullanılarak üretilen şaraplarda daha yüksek konsantrasyona sahip olduğu bildirilmiştir. Hekzil asetat konsantrasyonu, spontan genç şarapta 4,1 µg/L iken, ticari genç şarapta 2,9 µg/L olarak bulunmuştur. Benzer olarak, hekzil asetat konsantrasyonunun, spontan fermentasyon tekniği ile üretilen Godello şaraplarında, ticari maya kullanılarak üretilene göre daha yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir (Blanco ve ark., 2013).

Bütürolakton ve oksime-metoksi-fenil olgunlaşma sonrasında ticari fermentasyonla elde edilen şaraplarda daha yüksek konsantrasyonlara sahip iken, limonen spontan fermentasyonla elde edilen şaraplarda daha yüksektir. Hekzanoik asit konsantrasyonu ise ticari maya fermentasyonu ile elde edilen genç şaraplarda 1,2 µg/L iken, spontan fermentasyonla üretilen şarapta 0,4 µg/L olarak saptanmıştır. Benzer olarak, Varela ve ark. (2009), hekzanoik asit konsantrasyonunun ticari maya inokülasyonu yapılan şaraplarda daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Karalahna şaraplarda ise yüksek alkollerden özellikle 1-okten-3-ol, fenil etil alkol ve 6 metil-5-hepten-2-ol bileşenlerinin spontan fermentasyonla elde edilen şaraplarda ön plana

çıkıldığı görülmektedir (Tablo 4.17). Ancak izoamil alkol, 2-metil-1-bütanol, 1-hekzanol, 1-heptanol, 1-oktanol, 1-nonanol bileşenlerinde fermentasyon yöntemine göre istatistiksel olarak farklılık görülmemiştir. Aynı şekilde ester miktarı da spontan fermentasyon ile elde edilen şaraplarda ön plana çıkmaktadır. Ticari maya fermentasyonu ile üretilen şaraplarda izoamil asetat ve 1-bütanol-2-metil asetat esterleri; spontan fermentasyonla elde edilen şaraplarda ise etil oktanoat, etil heptanoat, dietil süksinat ve benzenasetik asit etil ester bileşenleri fazladır. Etil asetat, etil hekzanoat, etil dekanoat, izobütil asetat, etil bütanoat, etil-2-hekzanoat, oktanoik asit-2-metil-metil ester, fenil etil asetat, etil nonanoat, propanoik asit-2-hidroksi etil ester, bütanoik asit-2-metil etil ester, bütanoik asit-3-metil etil ester bileşenlerinde ise fermentasyon tipine göre farklılık gözlemlenmemiştir. Alkoller ve esterler dışında tespit edilen diğer bileşenlerden oksime metoksi fenil miktarı fermentasyon yöntemine göre istatistiksel olarak farklılık göstermemektedir. Vitispiran bileşeni ise her iki fermentasyon yönteminde de alkol fermentasyonu sonrası ham şarapta tespit edilememiştir. Olgunlaşma sonrası genç şarapta tespit edilen vitispiran, spontan fermentasyonla elde edilen şaraplarda ticari fermentasyonla üretilen şaraplara oranla daha fazladır.

Bu çalışma sonuçları ile paralel olarak, Liu ve ark (2016) etil hekzanoat, etil oktanoat ve etil dekanoat esterlerinin spontan fermentasyonla üretilen Cabernet Sauvignon şaraplarında daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Diğer yandan aynı çalışmada spontan şarapta daha yüksek düzeyde saptanan izoamil asetat, Karalahna şaraplarında ticari maya ile üretilen şaraplarda daha fazladır.

Genel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, yüksek alkoller ve esterlerin her iki tür şarap çeşidinin önemli uçucu bileşenlerini oluşturduğu görülmektedir. Spontan fermentasyon sonucu üretilen ham ve genç Karalahna şaraplarında toplam yüksek alkol miktarları Cabernet Sauvignon şaraplarından daha yüksek bulunmuştur. Özellikle Karalahna şaraplarında spontan fermentasyonla daha fazla izoamil alkol, 2-metil-1-bütanol ve fenil etil alkol üretiminin olduğu belirlenmiştir. Cabernet Sauvignon şaraplarında Karalahna şaraplarından farklı olarak yeni bazı yüksek alkollerin de olduğu saptanmıştır. Bunlara örnek olarak 1-pentanol, 3-metil 1-pentanol, Z-3-hexen-1-ol, 3-oktanol, benzil alkol ve 2-nonanol verilebilir. Ester grubu uçucu bileşenler karşılaştırıldığında ise Cabernet Sauvignon şaraplarında hem spontan hem de ticari maya fermentasyonu sonucu Karalahna şaraplarından gerek çeşit ve gerek miktar bakımından daha farklı uçucu bileşen olduğu belirlenmiştir. Özellikle Cabernet Sauvignon şaraplarında etil asetat, izoamil alkol, izobütil asetat, 2-metil bütanol asetat ve fenil asetat miktarları daha fazla bulunmuştur. Bunların dışında

bütürolakton, hekzanoik asit ve limonen gibi diğer uçucu bileşenler Cabernet Sauvignon şaraplarında belirlenirken Karalahna şaraplarında saptanamamıştır.

4.3.5. Şarapların Duyusal Özellikleri

Cabernet Sauvignon ve Karalahna üzümlerinden spontan ve ticari maya fermentasyonu teknikleriyle elde edilen genç şarapların duyusal değerlendirilmeleri; renk, gövde, tatlı baharat, burukluk, acılık, tatlılık, ekşilik, hayvansı tat/koku, çiçeğimsi, ham meyve aroması, alkol, sülfür, fermente tat/koku, kırmızı meyve aroması, bitiş ve genel izlenim olmak üzere 16 terim üzerinden yürütülmüştür. Eğitimli 6 panelistin katılımıyla gerçekleştirilen duyusal değerlendirme sonuçları, kullanılan terimlerin tanımlayıcıları ile birlikte Tablo 4.18 ve 4.19’da verilmiştir.

Tablo 4.18 Cabernet Sauvignon şaraplarının duyusal profilleri

Terimler	Tanımlayıcılar	Spontan	Ticari Maya
		Fermentasyon	Fermentasyonu
Kırmızı meyve	Üzüm, erik	6,3±0,2 ^a	5,1±0,2 ^b
Mayamsı/ Fermente	Yaş maya	2,9±0,3 ^a	2,5±0,2 ^a
Sülfür	Haşlanmış mısır	1,2±0,2 ^a	0,8±0,1 ^a
Alkol	Etil alkol	3,0±0,2 ^a	4,2±0,2 ^b
Ham meyve/Yeşil	Koruk, ham elma, çimen	0,5±0,1 ^a	2,9±0,4 ^b
Çiçeğimsi	Gül	4,9±0,1 ^a	3,3±0,1 ^b
Hayvansı	<i>p</i> -kresol, indol	1,8±0,3 ^a	1,0±0,3 ^b
Ekşi	Sitrik asit çözeltisi	6,2±0,2 ^a	4,9±0,3 ^b
Tatlı	Sakkaroz çözeltisi	2,3±0,2 ^a	2,1±0,2 ^a
Acı	Kafein çözeltisi	1,3±0,1 ^a	1,3±0,1 ^a
Buruk	Alum çözeltisi	2,1±0,1 ^a	1,6±0,1 ^b
Tatlı baharat	Tarçın, karanfil	4,2±0,2 ^a	2,2±0,1 ^b
Gövde	-	4,9±0,2 ^a	5,3±0,2 ^a
Renk	-	6,4±0,1 ^a	6,0±0,2 ^a
Bitiş	-	5,6±0,1 ^a	4,8±0,2 ^b
Genel izlenim	-	6,2±0,1 ^a	6,1±0,1 ^a

Sonuçlar ortalama±standart hata biçiminde verilmiştir. Aynı satırda bulunan farklı harfler ortalamaların istatistiksel açıdan farklı olduğunu göstermektedir (P≤0,05).

Tablo 4.19 Karalahna şaraplarının duyuşal profilleri

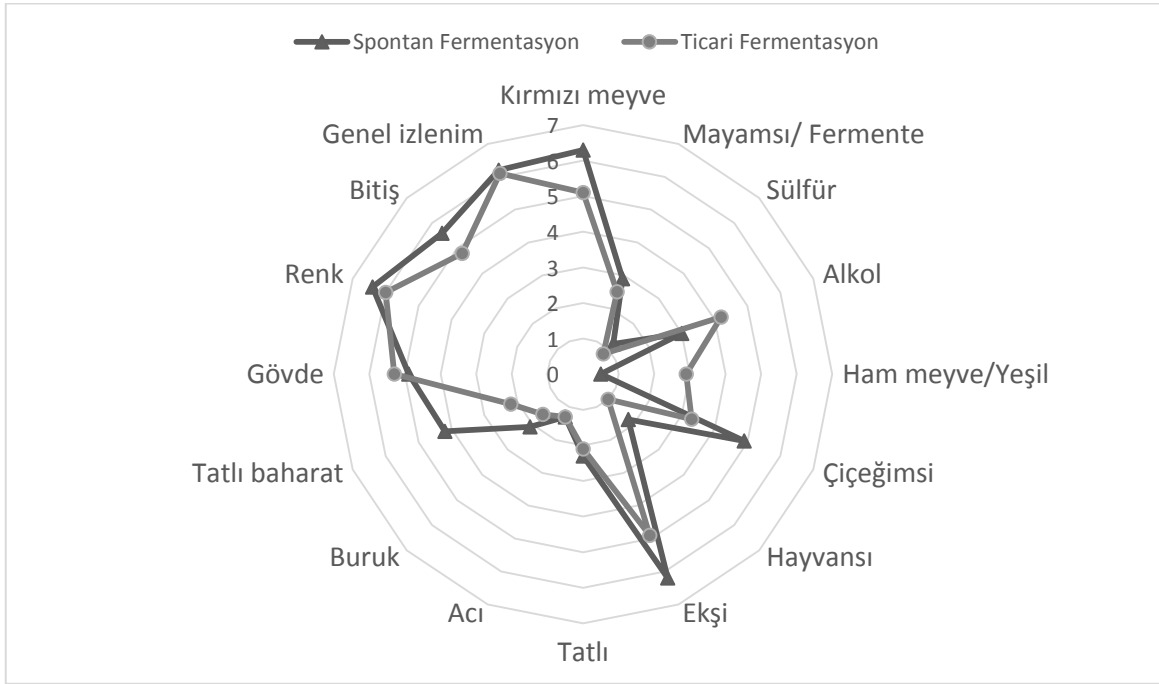
Terimler	Tanımlayıcılar	Spontan Fermentasyon	Ticari Maya Fermentasyonu
Kırmızı meyve	Üzüm, kırmızı erik	5,19±0,3a	4,3±0,3b
Mayamsı/ Fermente	Yaş maya	1,6±0,1a	1,2±0,1b
Sülfür	Haşlanmış mısır	0,8±0,1a	0,6±0,1a
Alkol	Etil alkol	4,2±0,2a	3,6±0,2a
Ham meyve/Yeşil	Çimen, koruk, ham elma	2,4±0,2a	2,0±0,1b
Çiçeğimsi	Gül	2,7±0,2a	2,4±0,1a
Hayvansı	p-kresol , indol	3,8±0,3a	2,4±0,2b
Ekşi	Sitrik asit çözeltisi	5,3±0,3a	3,9±0,2b
Tatlı	Sakkaroz çözeltisi	1,3±0,1a	1,4±0,1a
Acı	Kafein çözeltisi	1,4±0,2a	1,9±0,2b
Buruk	Alum çözeltisi	5,1±0,1a	5,0±0,1a
Metalik	Pekmez	0,7±0,1a	0,7±0,1a
Tatlı baharat	Tarçın, karanfil	1,4±0,2a	1,4±0,2a
Gövde	-	6,6±0,1a	5,6±0,1b
Renk	-	8,0±0,1a	8,1±0,1a
Bitiş	-	4,8±0,2a	4,2±0,3a
Genel izlenim	-	6,8±0,1a	6,2±0,2b

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.Farklı harflerle gösterilen terimlerin ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p≤0,05).

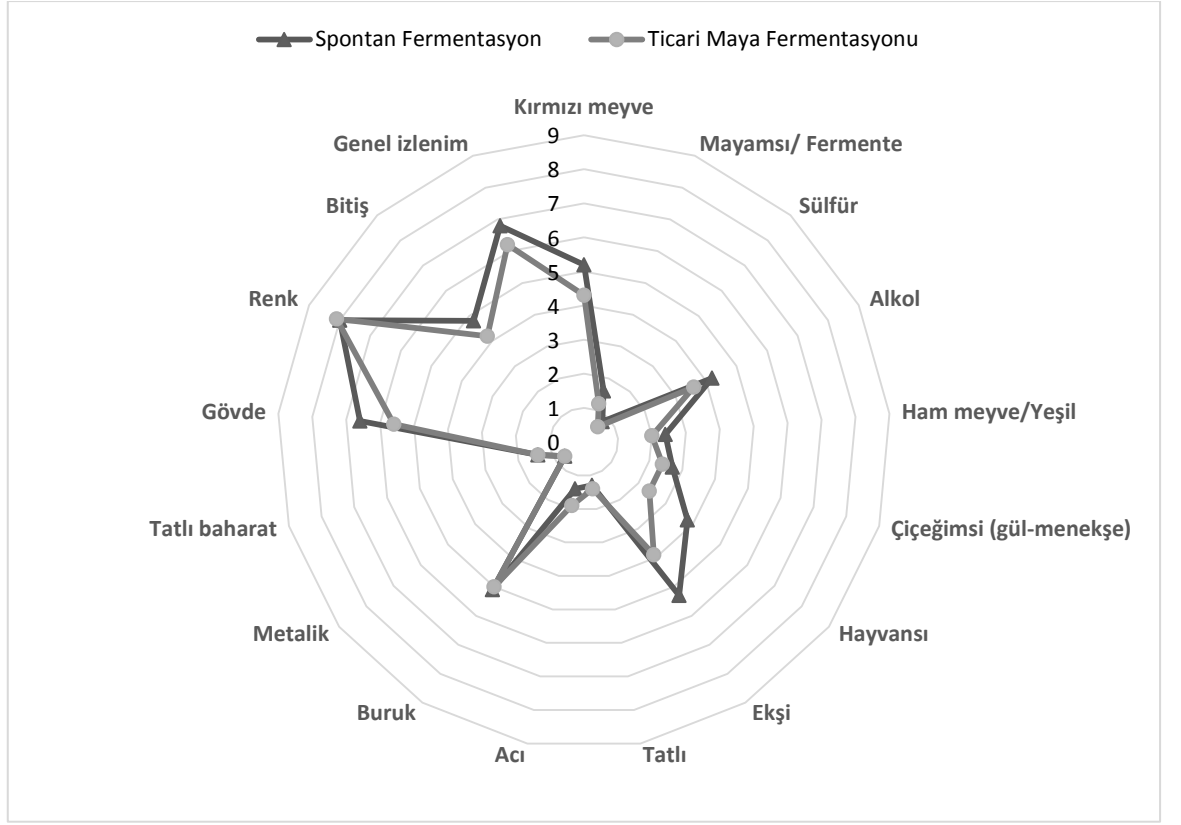
Elde edilen sonuçlara göre, spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon genç şarapların; kırmızı meyve, çiçeğimsi ve tatlı baharat aromaları ve ekşilik açısından öne çıktığı görülmektedir. Karalahna şaraplarının duyuşal değerlendirme sonucunda ise, hem spontan fermentasyon hem de ticari maya fermentasyonu ile üretilen şaraplar, koyu renk ve burukluk özellikleri ile dikkat çekmişlerdir. Spontan fermentasyon ile üretilen Karalahna şarapların gövdesi ticari maya ile elde edilenlere oranla daha çok beğenilmiştir. Bu şaraplar aynı zamanda kırmızı meyve aromaları yönünden de ticari maya ile üretilen şaraplara oranla daha meyvemsi bulunmuştur. Benzer şekilde Blanco ve ark. (2013) spontan fermentasyonla elde edilen beyaz şarapların daha çiçeksi özellik gösterdiğini belirlemişlerdir. Egli ve ark. (1998) ise, spontan fermentasyon ile elde edilen Riesling ve Chardonnay beyaz şaraplarının panelistlerden daha yüksek skorlar aldığını belirlemişlerdir. Spontan üretim Riesling

şaraplarında gövde, baharat ve kavun aromaları ön plana çıkarken, Chardonnay şaraplarında çiçeğimsi, tatlı ve armut aromaları yüksek düzeyde bulunmuştur. Liu ve ark. (2016) da Cabernet Sauvignon şaraplarında spontan fermentasyon tekniğinin şaraba meyvemsi aroma kazandırdığını ifade etmişlerdir. Literatürde yer alan çalışmaların sonuçlarına paralel olarak, spontan fermentasyonda non-*Saccharomyces* türlerinin faaliyeti ile daha yüksek miktarda ester bileşikleri oluşmakta ve böylece meyvemsi aromanın ön planda olduğu şarapların elde edilmesi mümkün olmaktadır.

Çalışmada spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplar panelistler tarafından daha buruk olarak değerlendirilmiştir. Bilindiği üzere şaraplarda burukluktan sorumlu olan bileşikler fenolik maddelerdir. Fenolik bileşik analizlerinin sonuçlarına bakıldığında, spontan fermentasyonla üretilen şarapların daha yüksek fenolik içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Duyusal değerlendirme ve kimyasal analiz sonuçları birbirini doğrular niteliktedir. Şarapta önolojik bir kriter olan bitiş açısından ise yine spontan fermentasyonla elde edilen şarapların daha yüksek skora sahip olduğu görülmektedir. Şarapların genel duyusal profillerine ilişkin örümcek ağı grafikleri Şekil 4.7 ve 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.7 Spontan ve ticari maya fermentasyonu ile üretilen Cabernet Sauvignon şaraplarının duyusal profilleri



Şekil 4.8 Spontan ve ticari maya fermentasyonu ile üretilen Karalahna şaraplarının duyu profilleri

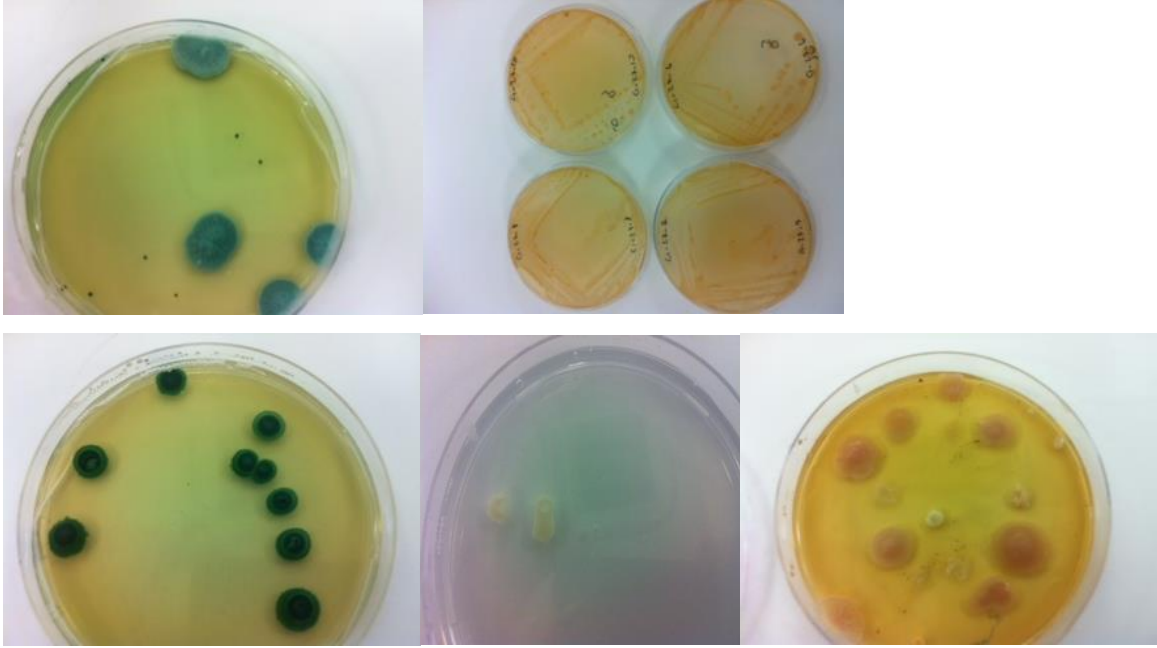
Sonuç olarak, spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon genç şaraplarının genel anlamda tüketiciler tarafından önemli duyu karakteristikleri açısından daha yüksek skorlar aldığı belirlenmiştir. Genel izlenim olarak da en çok beğeniye spontan fermentasyonla üretilen şaraplar almıştır. *S. cerevisiae* dışındaki mayalarla (non-*Saccharomyces*) elde edilen şarapların *S. cerevisiae* inokülasyonu ile elde edilen şaraplarla kıyaslandığı bir çalışmada (Teixeira ve ark., 2014) şarapların genel izleniminin değerlendirilmesinde non-*Saccharomyces* maya türleriyle elde edilen şarapların ön plana çıkması, elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir.

4.3.6. Spontan Fermentasyonda Yer Alan Mayaların İzolasyonu ve Moleküler Düzeyde Tanımlanması

4.3.6.1. Mayaların izolasyonu

Proje kapsamında spontan fermentasyonla üretilen şarap örneklerinden maya florasının izolasyonu amacıyla kullanılan selektif besiyerlerinden toplam 178 adet izolat

elde edilmiştir (Şekil 4.9). Yapılan mikroskobik inceleme sonucunda bu izolatların 138 adedinin maya izolatu olduğu belirlenmiş ve moleküler tanımlamaya tabi tutulmuştur.

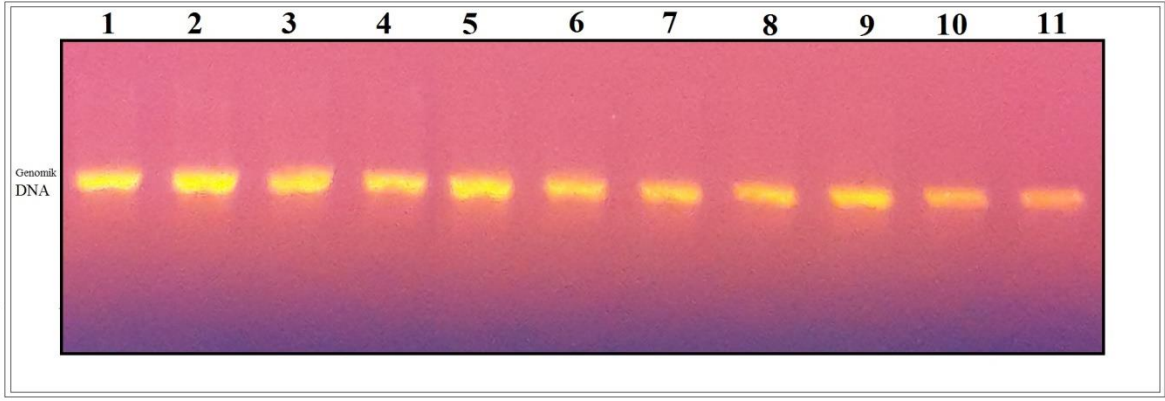


Şekil 4.9 Spontan fermentasyon uygulanan şarap örneklerinden elde edilen bazı maya izolatları

4.3.6.2. Maya İzolatlarının Moleküler Düzeyde Tanımlanması

4.3.6.2.1. İzolatlardan Elde Edilen Genomik DNA'nın Kalitatif ve Kantitatif Analizi

Maya suslarından elde edilen genomik DNA'lar, izolasyonlarının kontrolü (kalitatif analizi) amacıyla %1'lik agaroz jel (w/v) elektroforezinde yürütülmüştür. Farklı maya izolatlarının genomik DNA'larına ait bantlar ultraviyole (UV) ışık altında parlak ve net tek bant halinde gözlenerek ve örnek genomik DNA fotoğrafı çekilmiştir (Şekil 4.10). Bu sayede moleküler tanımlamaya alınan tüm maya izolatlarının DNA'larının izole edildiği doğrulanmıştır.

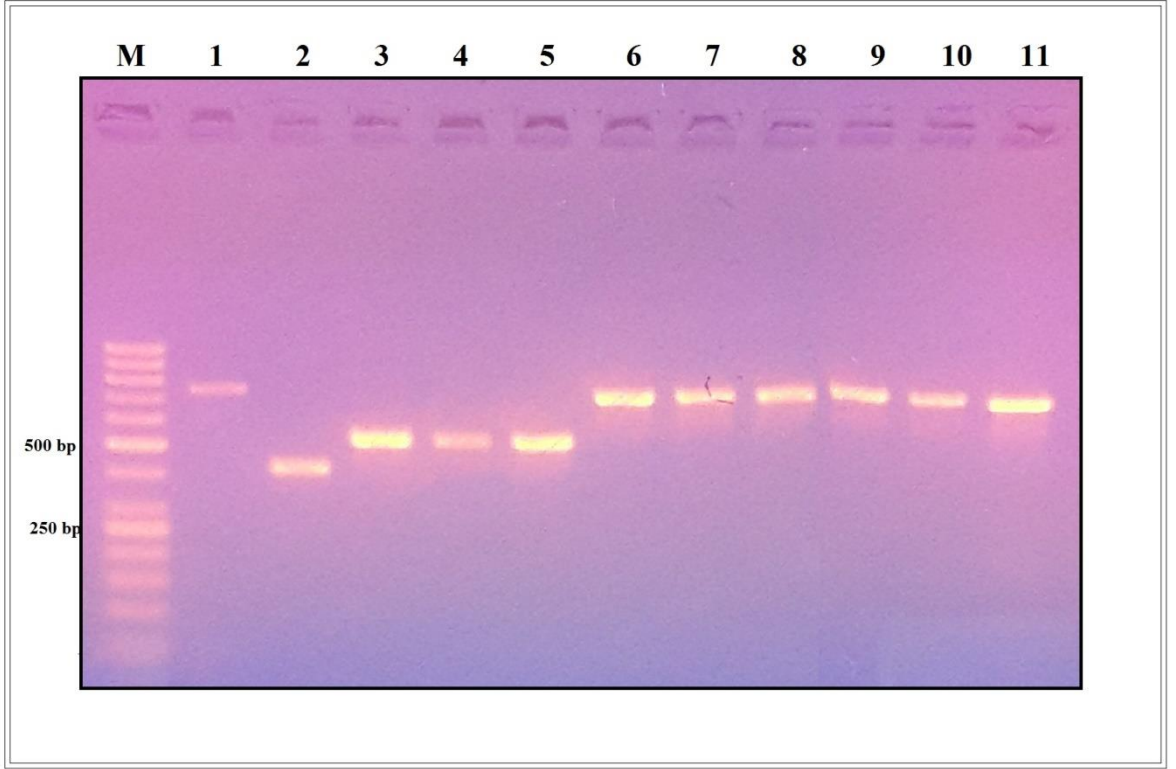


Şekil 4.10 Genomik DNA'ların %1'lik agaroz jeldeki örnek görüntüleri

İzole edilen maya genomik DNA'larının kantitatif analizi, spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Spektrofotometrik analizler sonucunda, O.D.₂₆₀ değerinden yola çıkılarak saptanan DNA konsantrasyonları birbirinden farklılık göstermekle birlikte bütün örnekler 150 ng/μL olacak şekilde TE tamponu ile dilüe edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen DNA'ların tümü, saflığı O.D.₂₆₀ ve O.D.₂₈₀ değerlerinin birbirlerine olan oranı alınarak değerlendirilmiş ve sonuçların 1.62 -1.77 aralığında olduğu, dolayısıyla tüm DNA'ların istenilen saflıkta ve yoğunlukta olduğu belirlenmiştir.

4.3.6.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu Bulguları

Maya izolatlarının tanımlanması amacıyla maya genomik DNA'larındaki ITS1-5.8S rDNA-ITS2 hedef gen bölgesi "Gereç ve Yöntem" bölümünde belirtildiği gibi PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezine yüklenip UV ışık altında incelenmesi ve PCR bantlarının fotoğraflanması sonucunda sözkonusu hedef gen bölgesine ait beklenen molekül ağırlıkta PCR ürünlerinin elde edilip edilmediği kontrol edilmiştir (Şekil 4.11). Çalışma kapsamında elde edilen izolatlara ait tüm PCR ürünlerinin, literatürde (Esteve-Zarzoso ve ark., 1999) yer alan farklı maya türlerinin referans suşlarına ait PCR ürünleri ile benzer molekül ağırlıkta olduğu belirlenmiştir.

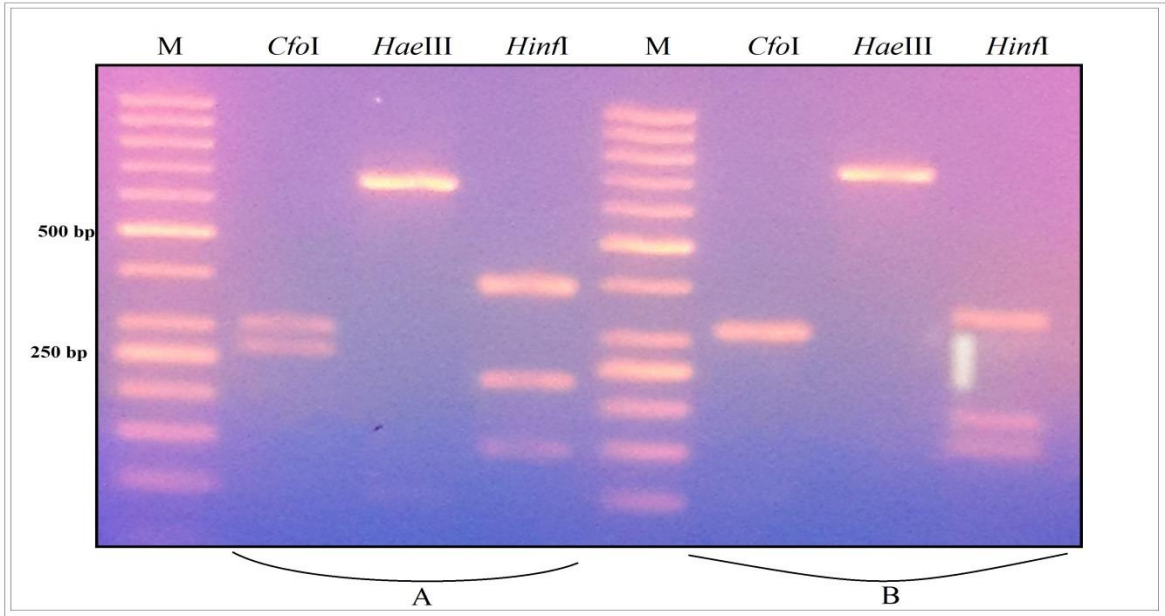


Şekil 4.11 PCR ürünlerinin % 2'lik agaroz jeldeki görünüşleri.

M harfi markır, 1-11 numaraları maya izolatlarına ait PCR ürünlerinin yükleme yapıldığı kuyuları göstermektedir.

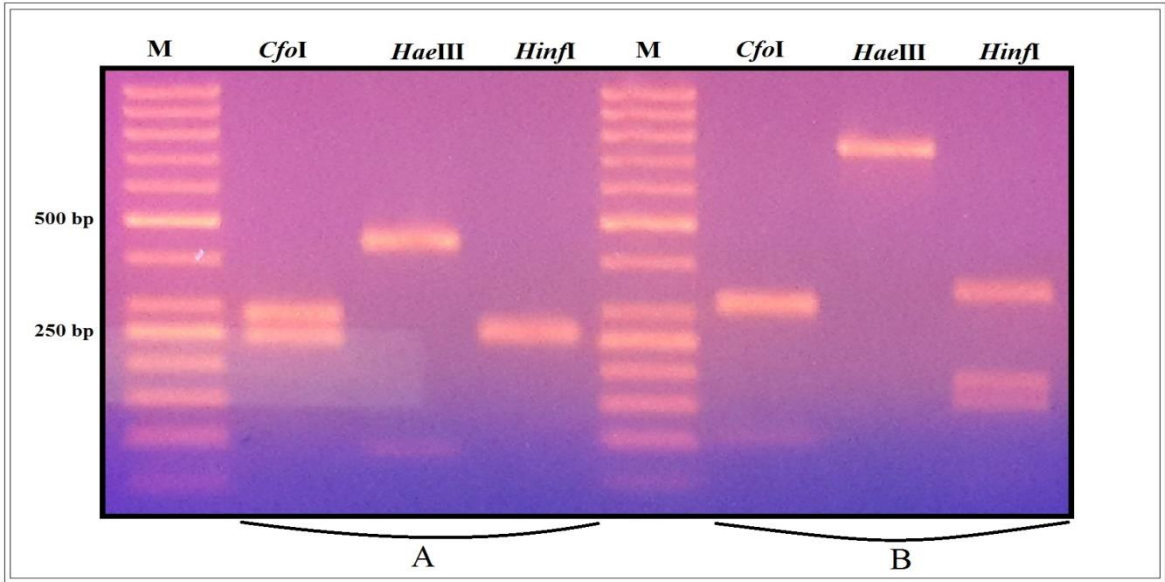
4.3.6.2.3 Restriksiyon Enzim Analizi (RFLP) Bulguları

Spontan fermentasyonla üretilen şaraplardan elde edilen farklı maya izolatlarının tür düzeyinde tanımlanmaları amacıyla ITS1-5.8S rDNA-ITS2 gen bölgesi PCR ürünlerinin *Cfo*I, *Hae*III ve *Hinf* I restriksiyon enzimleri kesimi sonucunda elde edilen bazı bant profilleri Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'de gösterilmektedir. Elde edilen bu bant profilleri literatürde yer alan (Esteve-Zarzoso ve ark., 1999) referans maya izolatlarına ait bant profilleri ile karşılaştırılarak izolatların tür düzeyinde moleküler tanımlanması gerçekleştirilmiştir.



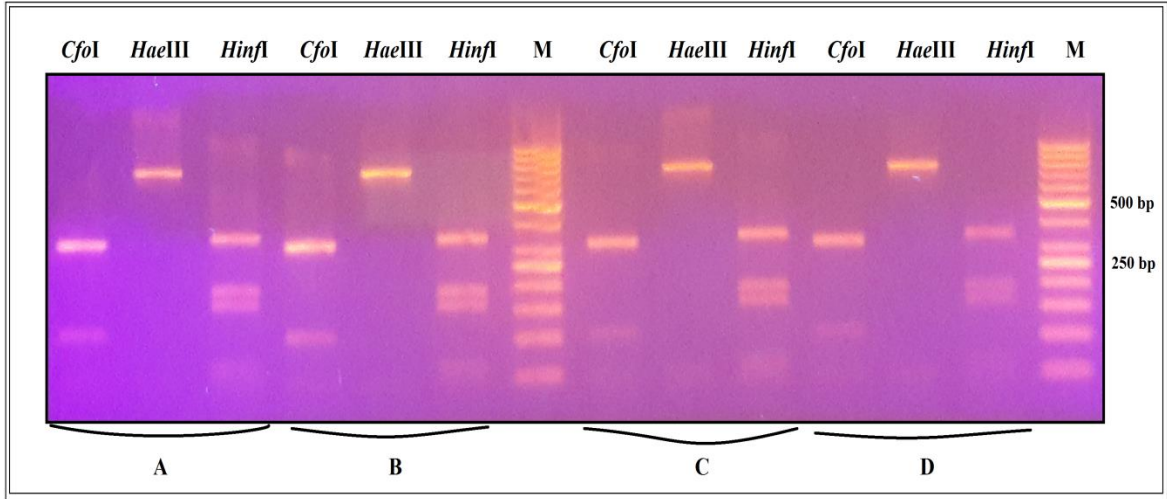
Şekil 4.12 Restriksiyon enzim kesim ürünlerinin % 2'lik agaroz jeldeki görünüşleri

A: *Zygosaccharomyces bisporus* izolatına ait restriksiyon enzim kesim profili.
 B: *Dekkera anomala* izolatına ait restriksiyon enzim kesim profili
 M harfi markır, *CfoI*, *HaeIII* ve *Hinfl* restriksiyon enzimlerini göstermektedir.



Şekil 4.13 Restriksiyon enzim kesim ürünlerinin % 2'lik agaroz jeldeki görünüşleri

A: *Candida albicans* izolatına ait restriksiyon enzim kesim profili.
 B: *Dekkera anomala* izolatına ait restriksiyon enzim kesim profili
 M harfi markır, *CfoI*, *HaeIII* ve *Hinfl* restriksiyon enzimlerini göstermektedir.



Şekil 4.14 Restriksiyon enzim kesim ürünlerinin % 2'lik agaroz jeldeki görünüşleri

A, B, C,D: *Candida apicola* dört farklı izolata ait restriksiyon enzim kesim profili.
M harfi markır, CfoI, HaeIII ve HinfI reskriksiyon enzimlerini göstermektedir.

Karalahna ve Cabarnet Sauvignon üzümlelerinden spontan fermentasyonla üretilen şarap örneklerinden elde edilen maya izolatlarının fermentasyonun başlangıcı, ortası ve son dönemine göre dağılımları aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 4.20).

Karalahna üzümlelerinden spontan fermentasyonla elde edilen şarap örneklerinde fermentasyonun başlangıcında *Candida albicans* ağırlıklı olmakla birlikte *Zygosaccharomyces bisporus*, *Dekkera anomala* ve *Issatchenkia terricola* türleri de izole edilmiştir. Fermentasyonun ortası ve sonunda ise *Candida albicans* baskın flora olarak görülürken bunu *Dekkera anomala*'nin takip ettiği belirlenmiştir.

Cabernet Sauvignon üzümlelerinden spontan fermentasyonla elde edilen şarap örneklerinde ise fermentasyonun başlangıcında *Dekkera anomala*'nin baskın flora olduğu, fermentasyonun ortasında *Dekkera anomala*'yi *Candida albicans* ve *Candida apicola* türlerinin takip ettiği görülmüş, fermentasyonun sonunda ise *Candida apicola*'nin baskın florayı oluşturduğu, bunu *Candida albicans* ve *Dekkera anomala*'nin takip ettiği belirlenmiştir.

Şaraplarda fermentasyon süresince aktif olan maya türlerinin üzümlelerden, bağlardan, mahzenlerde kullanılan ekipmanlardan, mahzen yüzeylerinden ve eğer kullanılıyorsa fermentasyona ilave edilen kültürlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (Jolly ve ark., 2006).

Saccharomyces cerevisiae şarap üretimindeki ana tür olmakla birlikte diğer maya türleri de aktif rol oynamaktadır. Genellikle olgunlaşmamış üzümlelerden çok az maya hücresi ($10 \cdot 10^3$ kob/g) elde edilebilmekte, üzümleler hasat olgunluğuna ulaştığında sayıları 10^4 - 10^6

kob/g düzeyine kadar artmaktadır. Olgunlaşmamış üzümelerde *Rhodotorula*, *Cryptococcus* ve *Candida* türleri baskın olarak görülmektedir (Fleet, 2003).

Temel şarap mayası olan *S. cerevisiae*'nin şaraplık üzümelerde yaygın olan bir tür olmadığı, genellikle 10-100 cfu/g düzeyinden daha az bir sayıda görüldüğü ve direkt agar yüzeyine ekim yerine zenginleştirme besiyerlerinin kullanımı ile daha iyi bir izolasyon gerçekleştirilebildiği belirtilmektedir. Bazı araştırmacılar bu türün sağlıklı ve olgun üzümlerden izole edilemediğini ifade etmişler ve bu gözlemin şarap üretiminde orijine ilişkin spekülasyon ve tartışmalara neden olduğunu belirtmektedirler (Fleet, 2003; Mannazu ve ark., 2002). Saraplık uzumlerde *Hanseniaspora/Kloeckera*, *Metschnikowia* gibi bazı maya türlerinin neden baskın olduğu halde *S. cerevisiae* gibi bazılarının bulunmaması halen cevaplanmamış sorulardan biri olarak değerlendirilmektedir. Bu durumu etkileyebilen birçok faktör bulunduğu belirtilmektedir: mikroorganizmaların uzum yüzeyine tutunması, mevcut besinleri metabolize etmesi gibi üzümün yüzey kimyası ve maya türlerinin fizyolojik ve biyokimyasal uyumu ile ilgili faktörler, sıcaklık, güneş ışığı, radyasyon ve kuruma gibi faktörlere karşı tolerans, kimyasal inhibitörlere tolerans ve diğer maya, bakteri ve küf türleri ile etkileşim, vb (Fleet, 2003). Bu çalışma kapsamında elde edilen maya izolatlarında *S. cerevisiae* türünün tanımlanmamış olmasının nedeni olarak yukarıda sayılan faktörlerin etkili olabileceği düşünülmektedir.

Genellikle fermentasyonun başlangıcında *Hanseniaspora (Kloeckera)*, *Candida* and *Metschnikowia* türleri bulunurken bazı durumlarda da *Pichia*, *Issatchenkia* and *Kluyveromyces* türleri de gelişebilmektedir (Fleet, 2003). Karalahna uzumlerinden fermentasyon başlangıcında elde edilen maya izolatları arasında ağırlıklı olarak *Candida* türünün bulunması ve *Issatchenkia* türüne ait izolatlarla rastlanması bu bilgi ile örtüşmektedir.

Düşük sıcaklıkların ($\leq 15-20^{\circ}\text{C}$) maya türlerinin etanole olan duyarlılığını düşürdüğü ve fermentasyonun sonunda baskın tür olan *S. cerevisiae*'ya eşit düzeyde *Hanseniaspora* ve *Candida* türlerinin gelişebileceği bildirilmektedir. Ayrıca *Candida* türlerine ait bazı susların *S. cerevisiae*'ya benzer etanol direnci olduğu ifade edilmiştir (Fleet, 2003). Proje kapsamında çalışılan Karalahna ve C. Sauvignon uzumlerinden elde edilen saraplardan fermentasyon sonunda izole edilen mayaların yaygın olarak *Candida* cinsine ait olmasının (*Candida apicola* ve *Candida albicans*) nedeni bu bilgiye dayandırılabilir.

Hierro ve ark. (2006) tarafından yapılan bir calismada sarap orneklerinden izole edilen maya suslarinin içinde *Zygosaccharomyces bisporus* ve *Issatchenkia terricola* türlerinin de bulunabileceği ve bu maya türlerinin mahzen kaynakli olabileceği belirtilmiştir. Proje kapsamında da Karalahna uzumlerinden elde edilen saraplarda fermentasyonun baslangicinda soz konusu bu iki maya turu izole edilmiştir (Tablo 4.20).

Dekkera, mahzen kaynakli bir maya cinsi olmakla birlikte uzumlerden de izole edilebilmektedir (Rodriguez ve ark., 2001). Bu calismada da *Dekkera anomala*, fermentasyonun her asamasinda rastlanabilen bir maya turu olarak dikkat çekmektedir.

Tablo 4.20 Şarap örneklerinden izole edilen mayaların RFLP yöntemine göre moleküler tanımlama sonuçları

Üzüm çeşidi	Fermentasyon başlangıcı		Fermentasyon ortası		Fermentasyon sonu	
	Tanımlanan Maya Türü	Izolat sayısı	Tanımlanan Maya Türü	Izolat sayısı	Tanımlanan Maya Türü	Izolat sayısı
Karalahna	<i>Candida albicans</i>	14	<i>Candida albicans</i>	19	<i>Candida albicans</i>	13
	<i>Zygosaccharomyces bisporus</i>	7	<i>Dekkera anomala</i>	6	<i>Dekkera anomala</i>	9
	<i>Dekkera anomala</i>	4				
	<i>Issatchenkia terricola</i>	3	3 izolat			
Toplam izolat	28		25		22	
C. Sauvignon	<i>Dekkera anomala</i>	14	<i>Dekkera anomala</i>	7	<i>Candida apicola</i>	20
			<i>Candida apicola</i>	3	<i>Candida albicans</i>	11
			<i>Candida albicans</i>	5	<i>Dekkera anomala</i>	3

Toplam izolat	14	15	34
Genel Toplam (138 izolat)	42	40	56

5. SONUÇ

Bu çalışmada, Çanakkale Bozcaada'ya özgü olan Karalahna siyah üzüm çeşidi ile yabancı menşeli kaliteli kırmızı şaraplık üzüm çeşidi olan Cabernet Sauvignon üzümlerinden spontan ve ticari maya (saf *Saccharomyces cerevisiae* kültürü) fermentasyonları ile elde edilen şarapların uçucu bileşen, fenolik ve antosiyanin dağılım ve konsantrasyonları belirlenmiş ve duyuşal profilleri arasındaki farklılıklar ortaya konmuştur. Ayrıca, spontan fermentasyondan sorumlu mayalar izole edilip moleküler düzeyde tanımlanarak, üzümlerin yetiştiği bölgeye özgü doğal maya florası belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında her iki üzüm çeşidinde de spontan ve ticari maya inokülasyonları ile gerçekleştirilen alkol fermentasyonları yaklaşık aynı sürede tamamlanmış, ancak ticari maya inokülasyonu yapılan üretimlerde fermentasyonun ilk 10 gününde yoğunluktaki azalış daha hızlı gerçekleşmiştir. Fermentasyon bitiminde şarapların alkol derecelerinin Cabernet Sauvignon şaraplarında 11,3–11,7 (v/v), Karalahna şaraplarında 14,1-14,9 (v/v) değerleri arasında olduğu saptanmıştır. Elde edilen şaraplar, genel özellikleri açısından değerlendirildiğinde şarapların tebliğe genel olarak uygunluk gösterdiği belirlenmiştir.

Spontan ve ticari maya fermentasyonları ile elde edilen Cabernet Sauvignon kırmızı genç şarapların toplam monomerik antosiyanin (TMA) miktarları malvidin-3-glukozit cinsinden sırasıyla 96,03 ve 70,93 mg/L olarak belirlenmiştir. Spontan fermentasyonla elde edilen ham şarapların daha yüksek TMA içeriğine sahip olduğu görülmekle birlikte, farklılığın istatistik açıdan önemli olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Karalahna şaraplarında ise TMA içeriğinin, Cabernet Sauvignon şaraplarının TMA içeriğinden daha düşük düzeyde olduğu ve ticari fermentasyon ile elde edilen genç şarapların (53,18 mg/L) spontan şaraplara kıyasla (48,28 mg/L) daha yüksek düzeyde TMA içerdiği tespit edilmiştir. Şaraplar üretim sürecinden ileri gelen antosiyanin kayıpları açısından değerlendirildiğinde, alkol fermentasyonunun bitimi ile şişede gerçekleştirilen 6 aylık olgunlaşma süreci arasında spontan fermentasyonla elde edilen Cabernet Sauvignon şarapta %52, ticari maya fermentasyonu ile elde edilen şarapta ise %60 düzeyinde kayıp söz konusu olmuştur.

Karalahna şaraplarda olgunlaşma sürecindeki değişimi incelendiğinde ise TMA'nın her iki fermentasyon tekniğinde de yaklaşık %70 düzeyinde azaldığı görülmektedir.

Çalışmada şıra ve şarap örneklerinde, major antosiyanin olarak bulunan malvidin-3-glukozit yanında delfinidin-3-glukozit, siyanidin-3-glukozit ve peonidin-3-glukozit bileşikleri de tanımlanarak miktarları tespit edilmiştir. Cabernet Sauvignon şaraplarında iki üretim tekniğinde de Mv-3-Glu en yüksek, Cy-3-Glu ise en düşük miktarda bulunan antosiyanindir. Spontan ve ticari fermentasyonlarla elde edilen Karalahna şaraplarda da baskın antosiyanin literatürle uyumlu olarak Mv-3-Glu'tir.

Şarapların toplam fenolik madde miktarlarının her iki üretim tekniğinde de Karalahna şaraplarda (2358-3052 mg/L), Cabernet Sauvignon şaraplarından (1391-1776 mg/L) daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Cabernet Sauvignon şaraplarında 6 ay depolama sonunda, spontan fermentasyon tekniğiyle üretilen şarabın toplam fenolik madde içeriğinde %13,2, ticari maya inokülasyonu ile elde edilen şarapta ise %11,6 düzeyinde artış söz konusudur. Karalahnada üzümlerinden elde edilen şarapların olgunlaşma sürecinde ise toplam fenolik madde miktarında istatistiksel olarak bir değişim meydana gelmediği sonucuna ulaşılmıştır.

Şaraplarda gallik asit, (+) kateşin, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve epikateşin gallat olmak üzere 6 adet fenolik bileşik tanımlanarak miktarları belirlenmiştir. Cabernet Sauvignon üzümlerinden spontan ve ticari maya fermentasyonu ile elde edilen genç şaraplar arasında fenolik madde profilleri yönünden önemli farklılıklar olduğu saptanmıştır. Belirlenen fenolik bileşiklerden en yüksek miktarda bulunanlar (+) kateşin ve gallik asit olup, iki bileşiğin de spontan fermentasyonla elde edilen şaraplarda önemli oranda fazla olduğu saptanmıştır. Gallik asidin miktarı spontan genç Cabernet Sauvignon şarapta 60,8 mg/L iken, ticari genç şarapta 49,7 mg/L olarak saptanmıştır. Ayrıca, spontan genç Cabernet Sauvignon şarabın 62,5 mg/L, ticari genç şarabın ise 45,9 mg/L (+) düzeyinde kateşin içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Karalahna şaraplarında ise en yüksek konsantrasyonda bulunan (+) kateşin olup, miktarının ticari maya fermentasyonu ile elde edilen genç şaraplarda (179,73 mg/L), spontan fermentasyon ile elde edilen şaraplardan (156,04 mg/L) daha yüksek olduğu saptanmıştır. Diğer yandan, uygulanan fermentasyon yönteminin şarapların diğer fenolik bileşen miktarlarında önemli bir farklılığa yol açmadığı saptanmıştır.

Cabernet Sauvignon şarap örneklerinde 17 alkol, 17 ester bileşiği ve farklı bileşik gruplarına ait olan 4 adet diğer uçucu madde olmak üzere toplam 38 adet uçucu madde tanımlanarak miktarları belirlenmiştir. Uçucu bileşenlerden yüksek alkollerin ticari maya

inokülasyonu ile elde edilen şaraplarda ön plana çıktığı, ester bileşiklerinin ise spontan fermentasyonla üretilen şaraplarda daha yüksek olduğu saptanmıştır. Karalahna şaraplarında ise 29 adet uçucu bileşen tespit edilmiştir. 9 yüksek alkol ve 18 ester ile uçucu bileşenlerin çoğunu bu iki grup oluşturmaktadır. Genel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, yüksek alkoller ve esterlerin her iki tür şarap çeşidinin önemli uçucu bileşenlerini oluşturduğu görülmektedir. Spontan fermentasyon sonucu üretilen ham ve genç Karalahna şaraplarında toplam yüksek alkol miktarları Cabernet Sauvignon şaraplarından daha yüksek bulunmuştur. Özellikle Karalahna şaraplarında spontan fermentasyonla daha fazla izoamil alkol, 2-metil-1-bütanol ve fenil etil alkol üretiminin olduğu belirlenmiştir. Cabernet Sauvignon şaraplarında Karalahna şaraplarından farklı olarak yeni bazı yüksek alkollerin de olduğu saptanmıştır. Bunlara örnek olarak 1-pentanol, 3-metil 1-pentanol, Z-3-hexen-1-ol, 3-oktanol, benzil alkol ve 2-nonanol verilebilir. Ester grubu uçucu bileşenler karşılaştırıldığında ise Cabernet Sauvignon şaraplarında hem spontan hem de ticari maya fermentasyonu sonucu Karalahna şaraplarından gerek çeşit ve gerek miktar bakımından daha farklı uçucu bileşen olduğu belirlenmiştir. Özellikle Cabernet Sauvignon şaraplarında etil asetat, izoamil alkol, izobütil asetat, 2-metil bütül asetat ve fenil asetat miktarları daha fazla bulunmuştur. Bunların dışında bütirolakton, hekzanoik asit ve limonen gibi diğer uçucu bileşenler Cabernet Sauvignon şaraplarında belirlenirken Karalahna şaraplarında saptanamamıştır.

Çalışmada genç şarapların duyuşal değerlendirmesi 6 kişiden oluşan eğitimli panelist grubu ile geręekleřtirilmiřtir. İki farklı üretim tekniğiyle elde edilen Cabernet Sauvignon genç şaraplarının duyuşal değerlendirmeleri sonucunda, spontan fermentasyonla üretilen şarapların kırmızı meyve ve çiçeğimsi ve tatlı baharat aromaları açısından öne çıktığı saptanmıştır. Spontan genç şaraplar panelistler tarafından daha ekşi ve daha buruk olarak değerlendirilmiş ve bitiş açısından ticari maya inokülasyonu ile elde edilen genç şaraplara göre üstün bulunmuştur. Karalahna şarapları değerlendirildiğinde ise, gövde, burukluk ve genel izlenim olarak spontan fermentasyonla elde edilen şaraplar daha çok beğenilmiştir.

Çalışma kapsamında ayrıca spontan fermentasyondan sorumlu mayalar izole edilip moleküler düzeyde tanımlanmıştır. Spontan maya fermentasyonu ile Karalahna üzümünden elde edilen şarapların maya tür çeşitliliği (*Candida albicans*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Dekkera anomala* ve *Issatchenkia terricola*) yönüyle Cabernet Sauvignon (*Dekkera anomala*, *Candida albicans*, *Candida apicola*) üzümlerinden elde edilen şaraplara göre daha zengin bir floraya sahip olduğu, fermentasyonun sonunda her iki üzüm çeşidinde de baskın

olan maya türlerinin birbirine benzerlik gösterdiği (*Candida albicans*, *Dekkera anomala*), Cabernet Sauvignon üzümlerinden elde edilen şaraplarda ayrıca *Candida apicola*'nın baskın tür olarak tanımlandığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışması ile Çanakkale'de yetişen Karalahna ve Cabernet Sauvignon üzümlerinden iki farklı teknikle elde edilen kırmızı şaraplar, kalite üzerinde etkili olan önemli unsurlar yönünden incelenmiş ve farklılıkları ortaya konmuştur. Spontan fermentasyonla şarap üretiminin, şarap üreticilerinin göze almaktan çekinecekleri riskleri barındırdığı bilinmektedir. Ancak bu çalışmada ortaya konan bölge ve iklim koşullarının üzümde ve şarapta yarattığı karakteristik özellikleri incelendiğinde, yerli (endojen) mayaların şaraba gerek aroma gerekse renk yönünden katkı sağladığı anlaşılmaktadır. Bu çalışmanın, ülkemizde yetişen yerli ve yabancı üzümlerden elde edilen şarapların karakteristikleri açısından karşılaştırılmasında literatüre kaynak oluşturması yanında bölgedeki bağlardan özgün ve kaliteli şarapların eldesine imkan sağlayan maya suşlarının izolasyonu konusunda yapılacak çalışmalara da ışık tutacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Álvarez I., Aleixandre J.L., Garcia M.J., Lizama V., Aleixandretudo J.L., 2009. Effect of the Prefermentative Addition of Copigments on the Polyphenolic Composition of Tempranillo Wines After Malolactic Fermentation. *European Food Research and Technology*, 228: 501-510.
- Amerine M.A., Berg H.W., Cruess W.V., 1972. *Technology of Winemaking*, 802s, The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, ABD.
- Anlı E., 2004. Farklı Şarap İşleme Yöntemlerinin Kalecik Karası Şarabının Fenol Bileşimi ve Antioksidan Kapasitesi Üzerine Etkisi. *Gıda*, 29: 451-455.
- Anlı R. E., 2006. Bağlar Güzeli Üzüm ve Üzüm Kültürü. *Yapı Kredi Kültür Sanat Yayıncılık Ticaret ve Sanayi A.Ş.*, İstanbul. 155-187.
- Anlı R.E., Vural N., 2009. Antioxidant Phenolic Substances of Turkish Red Wines from Different Wine Regions. *Molecules*, 14:289-297.
- Anonim, 2016. <http://www.thegoodscentcompany.com/data/rw1045071.html>. Erişim: 12.05.2016.
- Artero A., Artero A., Tarín J.J., Cano A., 2015. The Impact of Moderate Wine Consumption on Health. *Maturitas*, 80: 3-13.
- Atanackovic M., Petrovic A., Jovic S., Gojkovic-Bukarica L., Bursac M., Cvejic J., 2012. Influence of Winemaking Techniques on the Resveratrol Content, Total Phenolic Content and Antioxidant Potential of Red Wines. *Food Chemistry*, 131: 513-518.
- Ataol G., 2012. Bozcaada'da Üretilen Kırmızı Şaraplarda Üretim Aşamalarının Antioksidan Yapıları Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.
- Bağatar, B., Selli, S. 2013. "Ticari Saccharomyces cerevisiae mayasının Emir üzümünden elde edilen şarabın aroma aktif bileşikleri üzerine etkisi", Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 29, 2.
- Bağder, S., Özçelik, F. 2009. "Saccharomyces dışındaki mayaların şarap aromasına etkileri", *Gıda*, 34 (4), 239-244.

- Barcia M. T., Pertuzatti P. B., Rodrigues D., Gómez-Alonso S., Hermosín-Gutiérrez I., Godoy H. T., 2014. Occurrence of Low Molecular Weight Phenolics in *Vitis Vinifera* Red Grape Cultivars and Their Winemaking by-products from São Paulo (Brazil). *Food Research International*, 62: 500-513.
- Baydar N.G., Babalık Z., Türk F.H., Çetin E.S., 2011. Phenolic Composition and Antioxidant Activities of Wines and Extracts of Some Grape Varieties Grown in Turkey. *Journal of Agricultural Science*, 17: 67-76.
- Bautista-Ortín A.B., Romero-Cascales I., Fernández-Fernández J.I., López-Roca J.M., Encarna Gómez-Plaza E., 2007. Influence of the Yeast Strain on Monastrell Wine Colour. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 322-328.
- Blanco P, Mirás-Avalos JM, Suárez V and Orriols I, 2012. “Inoculation of Treixadura musts with autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains: fermentative performance and influence on the wine characteristics”, *Food Sci Technol Int*, 19, 177–186.
- Blanco P., Mirás-Avalos J.M., Pereira E., Orriols I., 2013. Fermentative Aroma Compounds and Sensory Profiles of Godello and Albariño Wines as Influenced by *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Strains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 2849-2857.
- Blazquez Rojas I., Smith P.A., Bartowsky E.J., 2012. Influence of Choice of Yeasts on Volatile Fermentation-Derived Compounds, Color and Phenolics Composition in Cabernet Sauvignon Wine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28: 3311-3321.
- Borazan A.A., Bozan B., 2006. Kırmızı Şarapta Uygulanan Fermantasyon Tekniklerinin Polifenoller Üzerine Etkisi. Yedinci Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, 5-8 Eylül 2006, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- Burin V.M., Costa L.L.F., Rosier J.P., Bordignon-Luiz M.T., 2011. Cabernet Sauvignon Wines from Two Different Clones, Characterization and Evolution During Bottle Ageing. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1931-1938.
- Cai J., Zhu B-Q., Wang Y-H., Lan Y-B., Reeves M., Duan C-Q., 2014. Influence of Pre-

- Fermentation Cold Maceration Treatment on Aroma Compounds of Cabernet Sauvignon Wines Fermented in Different Industrial Scale Fermenters. *Food Chemistry*, 154: 217-229.
- Callejon RM, Clavijo A, Ortigueira P, Troncoso AM, Paneque P and Morales ML, 2010. "Volatile and sensory profile of organic red wines produced by different selected autochthonous and commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains", *Anal Chim Acta*, 660, 68–75.
- Capece, A., Romano, P. 2009. "'Pecorino di Filiano' cheese as a selective habitat for the yeast species, *Debaryomyces hansenii*", Short communication. *International Journal of Food Microbiology*, 132, 180–184.
- Capece, A., Romaniello, R., Siesto, G., Pietrafesa, R., Massari, C., Poeta, C., Romano, P. 2010. "Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for Nero d'Avola wine and evaluation of selected starter implantation in pilot fermentation", Short Communication. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 187–192.
- Carew A.L., Smith P., Close D.C., Curtin C., Dambergs R.G., 2013. Yeast Effects on Pinot Noir Wine Phenolics, Color, and Tannin Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 9892-9898.
- Casassa L.F., Bolcato E.A., Sari S.E., 2015. Chemical, Chromatic, and Sensory Attributes of 6 Red Wines Produced With Prefermentative Cold Soak. *Food Chemistry*, 174: 110-118.
- Cemeroğlu B.S., 2013. *Gıda Analizleri*. Bizim Grup Basımevi, Kızılay, Ankara, 3-7.
- Cliff M.A., King M.C., Schlosser J., 2007. Anthocyanin, Phenolic Composition, Colour Measurement and Sensory Analysis of BC Commercial Red Wines. *Food Research International*, 40: 92-100.
- de Andrade R.H.S., do Nascimento L.S., Pereira G.E. Hallwass F., Paim A.P.S., 2013. Anthocyanic Composition of Brazilian Red Wines and Use of HPLC-UV-Vis Associated to Chemometrics to Distinguish Wines from Different Regions. *Microchemical Journal*, 110: 256-262.
- Dıblan S., 2013. Kalecik Karası Üzümlerden (*Vitis Vinifera* L.) Üretilen Kırmızı Üzüm Suyunun Çeşitli Durultma Yardımcı Maddeleri ile Durultulması ve Durultmanın

Üzüm Suyu Rengi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Egli C.M., Edinger W.D., Mitrakul C.M., Henick-Kling T., 1998. Dynamics of Indigenous and Inoculated Yeast Populations and Their Effect on the Sensory Character of Riesling and Chardonnay Wines. *Journal of Applied Microbiology*, 85: 779-789.
- Esteve-Zarzoso, B., Belloch, C., Uruburu, F., Querol, A., 1999. "Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.8S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers", *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 329–337.
- Fleet G.H. 2003. Yeast interactions and wine flavor. Review article. *International Journal of Food Microbiology* 86: 11–22.
- Fuleki T., Francis F.J. 1968. Quantitative Methods for Anthocyanins: 2. Determination of Total Anthocyanin and Degradation Index for Cranberry Juice. *Journal of Food Science*, 33: 78-82.
- Gammacurta M., Marchand S., Albertin W., Moine V., de Revel G., 2014. Impact of Yeast Strain on Ester Levels and Fruity Aroma Persistence during Aging of Bordeaux Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62: 5378-5389.
- García-Falcón M.S., Pérez-Lamela C., Martínez-Carballo, Simal-Gándara J., 2007. Determination of Phenolic Compounds in Wines: Influence of Bottle Storage of Young Red Wines on Their Evolution. *Food Chemistry*, 105: 248-259.
- Garde-Cerdán T., Ancín-Azpilicueta C., 2006. Contribution of Wild Yeasts to the Formation of Volatile Compounds in Inoculated Wine Fermentations. *European Food Research and Technology*, 222: 15-25.
- Gil-Munoz R, Moreno-Perez A., Villa-Lopez R., Fernandez J.L., Martinez-Cutillas A., Gomez-Plaza E., 2009. Influence of Low Temperature Prefermentative Techniques on Chromatic and Phenolics Characteristics of Syrah and Cabernet Sauvignon Wines. *European Food Research and Technology*, 228: 777-788.
- Ginjom I, D'arcy B.R., Caffin N.A., Gidley M.J., 2010. Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Major Australian Red Wines throughout the Winemaking Process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 10133-10142.

- Ginjom I., D'Arcy B., Caffin N., Gidley M., 2011. Phenolic Compound Profiles in Selected Queensland Red Wines at All Stages of the Wine-making Process. *Food Chemistry*, 125 (3): 823-834.
- Giusti M.M., Wrolstad R.E., 2001. Unit F1.2. Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-visible Spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. RE Wrolstad, SJ Schwartz (Eds), John Wiley & Sons, New York, 1-13.
- Gómez-Míguez M., González-Miret, M.L. and Heredia, F.J., 2007. Evolution of Colour and Anthocyanin Composition of Syrah Wines Elaborated With Pre-Fermentative Cold Maceration. *Journal of Food Engineering*, 79 (1): 271-278.
- Gómez-Plaza E., Gil-Muñoz R, López-Andreu F.J., Martínez A., 2000. Color and Phenolic Compounds of A Young Red Wine. Influence of Wine-Making Techniques, Storage Temperature, and Length of Storage Time *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 736–741
- González-Royo E., Esteruelas M., Kontoudakis N., Fort F., Canals J. M., Zamora F. 2016. The Effect of Supplementation with Three Commercial Inactive Dry Yeasts on the Colour, Phenolic Compounds, Polysaccharides and Astringency of a Model Wine Solution and Red Wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. DOI: 10.1002/jsfa.7706
- Guerrero R.F., Liazid A., Palma M., Puertas B., Gonzalez-Barrio R., Gil-Izquierdo A., 2009. Phenolic Characterisation of Red Grapes Autochthonous to Andalusia. *Food Chemistry*, 112: 949-955.
- Gürbüz O., Göçmen D., Dağdelen F., Gürsoy M., Aydın S., Şahin İ., Büyükuysal L., Usta M., 2007. Determination of Flavan-3-ols and Trans-resveratrol in Grapes and Wine using HPLC with Fluorescence Detection. *Food Chemistry*, 100: 518-525.
- Güven S., 2008. Şarap Üretimi ve Kalite Kontrolü. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Yayın No: 74, Çanakkale, 316 s.
- Hayasaka Y., Birse M., Eglinton J., Herderich M., 2007. The Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* Yeast on Colour Properties and Pigment Profiles of Cabernet Sauvignon Red Wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13: 176-185.

- Hereidia F.J, Escudero-Gilete M.L., Hernanz D., Gordilo B., Melendez-Martinez A.J., Vicario I.M., Gonzalez-Miret M.L., 2010. Influence of the Refrigeration Technique on the Colour and Phenolic Composition of Syrah Red Wines Obtained by Pre-fermentative Cold Maceration. *Food Chemistry*, 118: 377-383.
- Hierro N., Gonzalez A., Mas A., Guillamon J.M., 2006. Diversity and evolution of non-*Saccharomyces* yeast populations during wine fermentation: effect of grape ripeness and cold maceration *FEMS Yeast Res*, 6: 102–111.
- Hyma K.E., Saerens S.M., Verstrepen K.J., Fay J.C., 2011. Divergence in Wine Characteristics Produced by Wild and Domesticated Strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research*, 11: 540-551.
- Jackson R.S., 2008. *Wine Science Principles and Applications (Third Edition)*, 2. Grape Species and Varieties, Elsevier, Kanada, 40; 282.
- Jeyaram, K., Mohendro Singh, W., Capece, A., Romano, P., 2008. “Molecular identification of yeast species associated with ‘Hamei’ — a traditional starter used for rice wine production in Manipur, India”, *International Journal of Food Microbiology*, 124, 115–125.
- Jiang B., Xi Z, Luo M., Zhang Z., 2013. Comparison on Aroma Compounds in Cabernet Sauvignon and Merlot Wines from Four Wine Grape-Growing Regions in China. *Food Research International*, 51: 482-489.
- Kelebek H. 2009. Değişik Bölgelerde Yetiştirilen Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik Karası Üzümlerinin ve Bu Üzümlerden Elde Edilen Şarapların Fenol Bileşikleri Profili Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Türkiye.
- Kelebek H., Selli S., Canbaş A., 2010. Öküzgözü Üzümlerinden Kırmızı Sarap Üretiminde Soğuk Maserasyon Uygulamasının Antosiyaninler Üzerine Etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 16: 287-294.
- Lee J., 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88 (5): 1269-1278.
- Lesko A., Nyitrai-Sardy D., Kallay M., Balga I., 2014. The Effect of Yeast on the Anthocyanins Characteristics of Fermented Model Solutions. *ACTA Alimentaria*,

43(2): 232-238.

- Li Z., Pan Q., Jin Z., Mu L., Duan C., 2011. Comparison on Phenolic Compounds in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon Wines from Five Wine-Growing Regions in China. *Food Chemistry*, 125: 77-83.
- Li J. Y., Zhao H. W., Huang W. D. 2015. Yeast-Induced Changes in the Concentration and Structure of Oligomeric Proanthocyanidins During Simulated Wine Fermentation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21 (3): 404-410.
- Liang H-Y., Chen J-Y., Reeves M., Han B-Z., 2013. Aromatic and Sensorial Profiles of Young Cabernet Sauvignon Wines Fermented by Different Chinese Autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* Strains. *Food Research International*, 51: 855-865.
- Lingua, M. S., Fabani, M. P., Wunderlin, D. A., & Baroni, M. V. (2016). From Grape to Wine: Changes in Phenolic Composition and Its Influence on Antioxidant Activity. *Food chemistry*, 208: 228-238.
- Liu P-T., Lu L., Duan C-Q., Yan G-L., 2016. The Contribution of Indigenous Non-*Saccharomyces* Wine Yeast to Improved Aromatic Quality of Cabernet Sauvignon Wines by Spontaneous Fermentation. *LWT – Food Science and Technology*, 71: 356-363.
- Lleixà J., Martín V., M.C. Portillo, Carrau F., Beltran G., Mas A., 2016. Comparison of Fermentation and Wines Produced by Inoculation of *Hanseniaspora vineae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in Microbiology*, 7: 338.
- Lopandic K. Tiefenbrunner W., Gangl H., Mandl K., Berger S., Leitner G., Abd-Ellah G.A., Querol A., Gardner R. C., Sterflinger K., Prillinger H., 2008. Molecular Profiling of Yeasts Isolated during Spontaneous Fermentations of Austrian Wines. *FEMS Yeast Research*, 8: 1063-1075.
- Lukić I., Radeka S., Grozaj N., Staver M., Peršurić Đ., 2016. Changes in Physico-Chemical and Volatile Aroma Compound Composition of Gewürztraminer Wine as a Result of Late and Ice Harvest. *Food Chemistry*, 196: 1048-1057.
- Maro,E.D., Ercolini, D., Coppola, S. 2007. “Yeast dynamics during spontaneous wine fermentation of the Catalanesca grape”, *International Journal of Food Microbiology*, 117, 201–210.

- Mannazzu I., Clementi F., Ciani M., 2002. Strategies and criteria for the isolation and selection of autochthonous starters. In: Ciani, M. (Ed.), Biodiversity and Biotechnology of Wine Yeasts. Research Signpost, Kerala, India, pp. 19–33.
- Meilgaard M., Civille G.V., Carr B.T., 1999. Descriptive Analysis Techniques. In Sensory Evaluation Techniques, CRC Press, Washington, ABD, 3: 161-170.
- Molina A.M., Swiegers J.H., Varela C., Pretorius I.S., Agosin E., 2007. Influence of Wine Fermentation Temperature on the Synthesis of Yeast-Derived Volatile Aroma Compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77: 675-687.
- Monagas M., Gomez-Cordoves C., Bartolome B., 2007., Evaluation of Different *Saccharomyces cerevisiae* Strains for Red Winemaking. Influence on the Anthocyanin, Pyranoanthocyanin and Non-Anthocyanin Phenolic Content and Color Characteristics of Wines. *Food Chemistry*, 104: 814-823.
- Morata A., Goamez-Cordoveas M.C., Suberviola J., Bartolomea B., Colomo B., Suaarez J.A., 2003. Adsorption of Anthocyanins by Yeast Cell Walls during the Fermentation of Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4084-4088.
- Morata A., Loira I., Heras J.M., Callejo M.J., Tesfaye W., González C., Suárez-Lepe J.A., 2016. Yeast Influence on the Formation of Stable Pigments in Red Winemaking. *Food Chemistry*, 197: 686-961.
- Muccillo L., Gambuti A., Frusciante L., Iorizzo M., Moio L., Raieta Rinaldi A., Colantuoni V., Aversano, R., 2014. Biochemical Features of Native Red Wines and Genetic Diversity of the Corresponding Grape Varieties from Campania Region. *Food Chemistry*, 143: 506-513.
- Nikfardjam M.S.P., Pickering G.J., 2008. Influence of Variety and Commercial Yeast Preparation on Red Wine Made from Autochthonous Hungarian and Canadian Grapes. Part I: Phenolic Composition. *European Food Research and Technology*, 227: 1077-1083.
- Nurgel C., Erten H., Canbas A., Cabaroglu T., Selli S., 2002a. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* Strains on Fermentation and Flavor Compounds of White Wines Made from cv. Emir Grown in Central Anatolia, Turkey. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 29: 28-33.

- Nurgel C., Erten H., Canbas A., Cabaroglu T., Selli S., 2002b. Contribution by *Saccharomyces cerevisiae* Yeasts to Fermentation and Flavour Compound in Wines from cv. Kalecik karası Grape. *Journal of the Institute of Brewing*, 108 (1) : 68–72.
- Nurgel, C., Erten, H., Canbaş, A., Cabaroğlu, T., Selli, S. 2005. “Yeast flora during the fermentation of wines made from *Vitis vinifera* L. cv. Emir and Kalecik Karasi grown in Anatolia”, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(6-7), 1187-1194.
- Ough C.S., Amerine M.A., 1988. *Methods for Analysis of Musts and Wines*. Wiley, New York, 377.
- Radovanović B.C., Radovanović A.N., Souquet J-M., 2010. Phenolic Profile and Free Radical-Scavenging Activity of Cabernet Sauvignon Wines of Different Geographical Origins from the Balkan Region. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 2455-2461.
- Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud A., 2006a. *Handbook of Enology, The Microbiology of Wine and Vinifications* (2nd Edition, Vol. 1). John Wiley & Sons Ltd., Wiltshire, İngiltere.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D., 2006b. *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments* (2nd Edition, Vol. 2). John Wiley & Sons Ltd., Wiltshire, İngiltere.
- Rodrigues N., Goncalves G., Pereira-da-Silva S., Malfeito-Ferreira M., Loureiro V. 2001. Development and use of a new medium to detect yeasts of the genera *Dekkera/Brettanomyces*. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 588-599.
- Romano P., Fiore C., Paraggio M., Caruso M., Capece A., 2003. Function of Yeast Species and Strains in Wine Flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 86: 169-180.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K., Erlich H.A. 1988. Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science*, 239:487-491.

- Sincar Ö., 2010. Kalecik Karası Üzümlerinden Kırmızı Şarap Üretiminde Soğuk Maserasyon Uygulamasının Aroma ve Antosiyanin Bileşikleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Türkiye.
- Singleton V.L., Rossi J.A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-153.
- Soares R.D., Welke J.E., Nicolli K.P., Zanus M., Caramão E.B., Manfroi V., Zini C.A., 2015. Monitoring the Evolution of Volatile Compounds Using Gas Chromatography during the Stages of Production of Moscatel Sparkling Wine. *Food Chemistry*, 183: 291-304.
- Sorrentino A., Boscaino F., Cozzolino R., Volpe M.G., Ionata E., La Cara F., 2012. Autochthonous Fermentation Starters for the Production of Aglianico Wines. *Chemical Engineering Transactions*, 27: 211-216.
- Takush D.G., Osborn J.P. 2012. Impact of Yeast on the Aroma and Flavour of Oregon Pinot Noir Wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18: 131-137.
- Tao Y.S., Li H., 2009. Active Volatiles of Cabernet Sauvignon Wine from Changli County. *Health*, 3: 176-182.
- Teixeira A., Caldeira, I., & Duarte, F. L., 2014. Molecular and Oenological Characterization of Touriga Nacional Non-Saccharomyces yeasts. *Journal of Applied Microbiology*, 118 (3): 658-671.
- Tristezza M, Vetrano C, Bleve G, Grieco F, Tufariello M, Quarta G, et al, 2012. “Autochthonous fermentation starters for the industrial production of Negroamaro wines”, *J Ind Microbiol Biotechnol.*, 39, 81–92 .
- Tufariello M., Chiriatti M.A., Grieco F., Perrotta C., Capone S., Rampino P., Tristezza M., Mita G., Grieco F., 2014. Influence of Autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* Strains on Volatile Profile of Negroamaro Wines. *LWT - Food Science and Technology*, 58: 35-48.
- Valentão P., Seabra R. M., Lopes G., Silva L. R., Martins V., Trujillo M. E., Andrade P. B., 2007. Influence of *Dekkera bruxellensis* on the Contents of Anthocyanins, Organic Acids and Volatile Phenols of Dão Red Wine. *Food Chemistry*, 100 (1): 64-70.

- Van Den Dool H., Kratz, P.D., 1963. A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. *Journal of Chromatography*, 11: 463-471.
- Varela C., Siebert T., Cozzolino D., Rose I., Mclean H. ve Henschke P.A., 2009. Discovering a Chemical Basis for Differentiating Wines Made by Fermentation with ‘Wild’ Indigenous and Inoculated Yeasts: Role of Yeast Volatile Compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15: 238-248.
- Wang H., Race E.J., Shrikhande A.J., 2003. Anthocyanin Transformation in Cabernet Sauvignon Wine during Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7989-7994.
- Wang J., Capone D. L., Wilkinson K. L., Jeffery D.W., 2016. Chemical and Sensory Profiles of Rosé Wines from Australia. *Food Chemistry*, 196: 682-693.
- Yılmaztekin M., Kocabey N., Hayaloğlu A.A., 2015. Effect of Maceration Time on Free and Bound Volatiles of Red Wines from cv. Karaoğlan (*Vitis vinifera* L.) Grapes Grown in Arapgir, Turkey. *Journal of Food Science*, 80 (3): C556-C563.
- Zoecklein B.W., Fugelsang K.C., Gump B.H., Nury F.S., 1995. *Wine Analysis and Production*. Springer, New York, 53; 336-34

7. EKLERİ

EK 1. Şarap Üretimlerine İlişkin Görseller







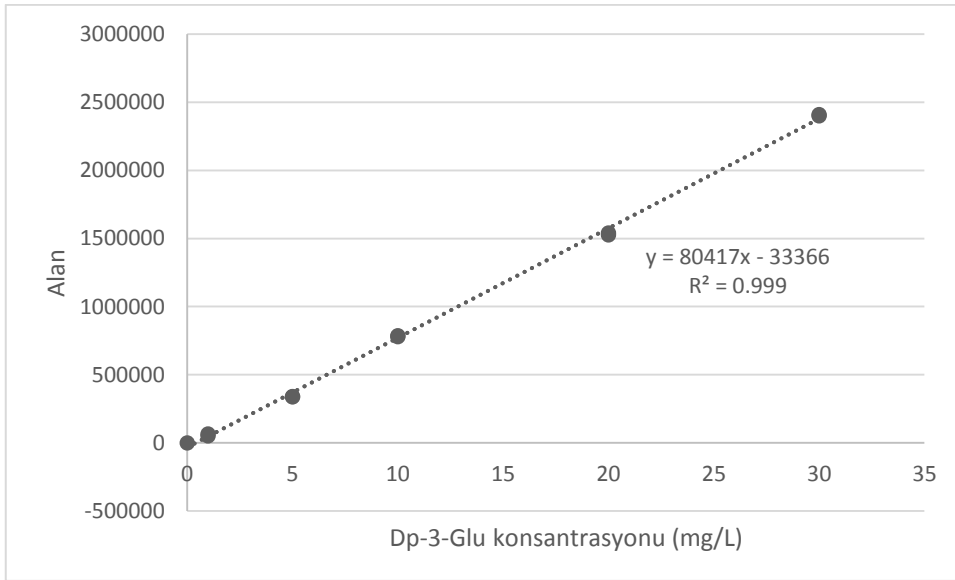




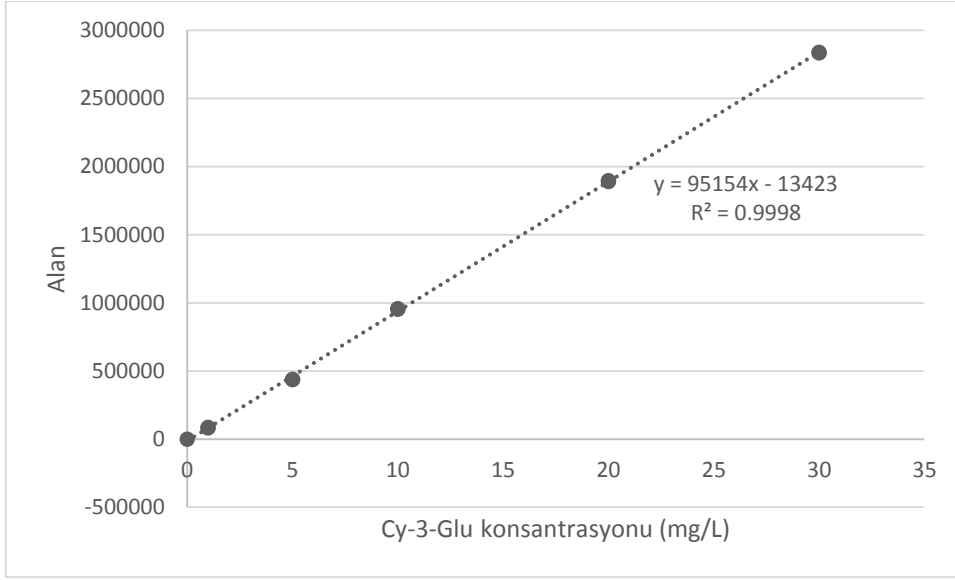




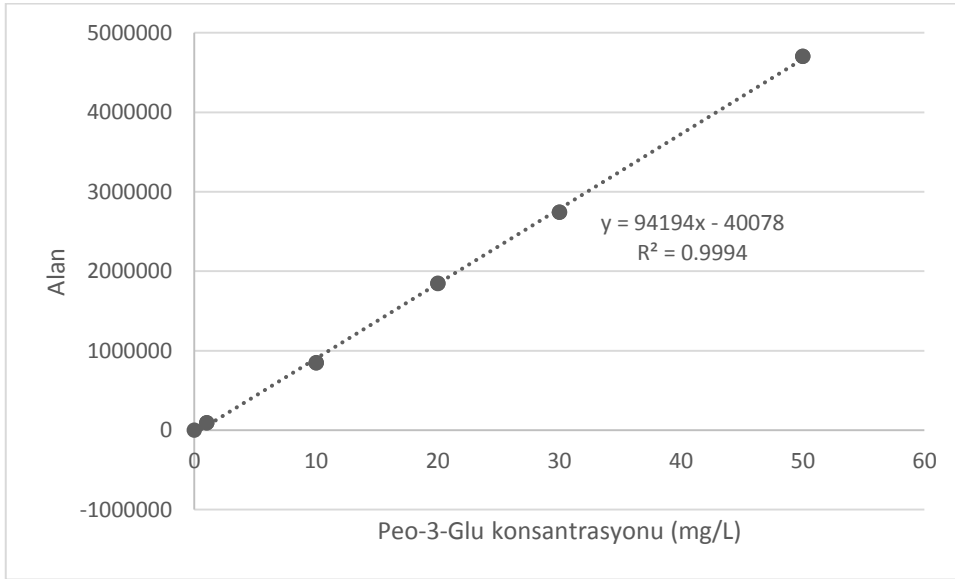
EK 2. Antosiyanin Bileşiklerinin Standart Eğrileri



EK 2.1. Delfinidin-3-glikozit için oluşturulan standart eğri

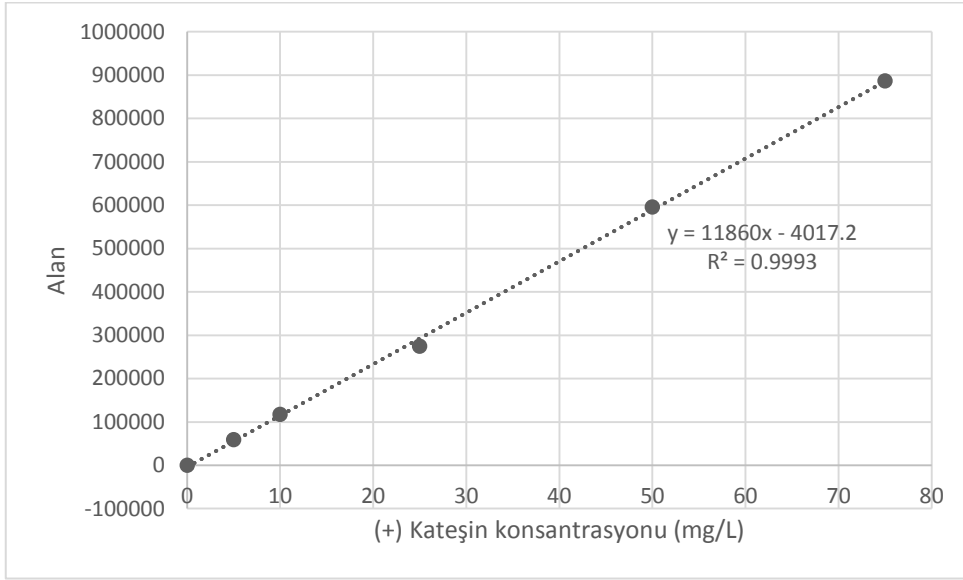


EK 2.2. Siyanidin-3-glikozit için oluşturulan standart eğri

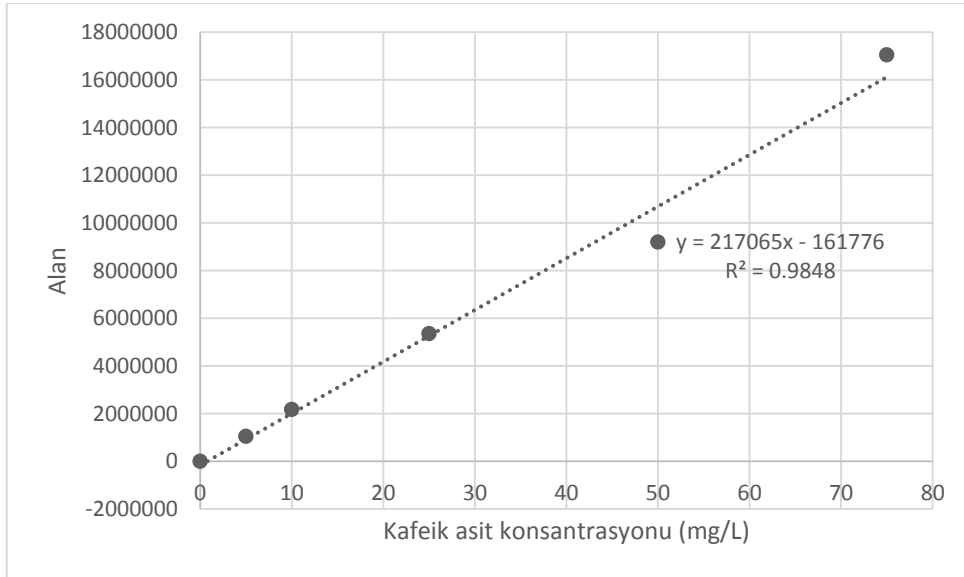


EK 2.3. Peonidin-3-glikozit için oluşturulan standart eğri

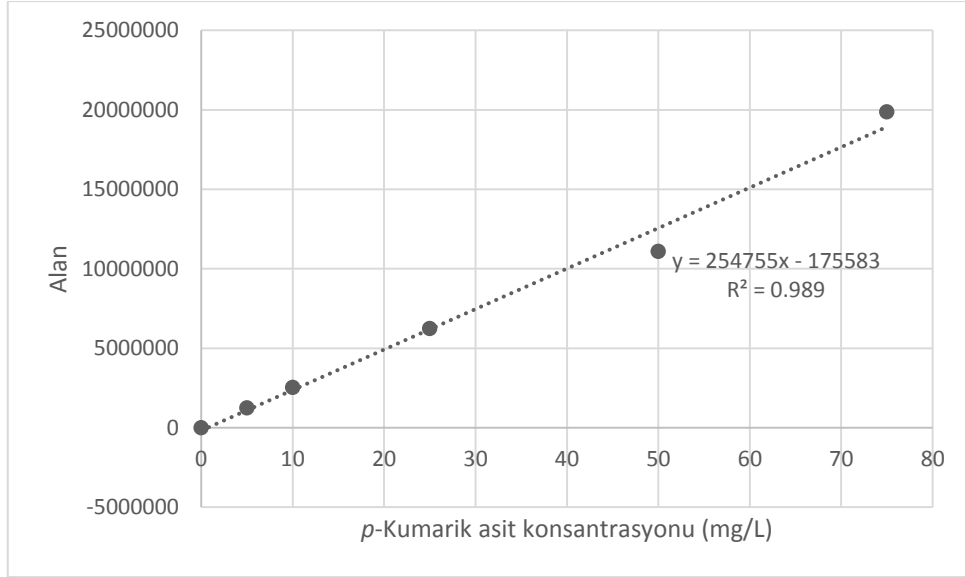
EK 3. Fenolik Bileşiklerin Standart Eğrileri



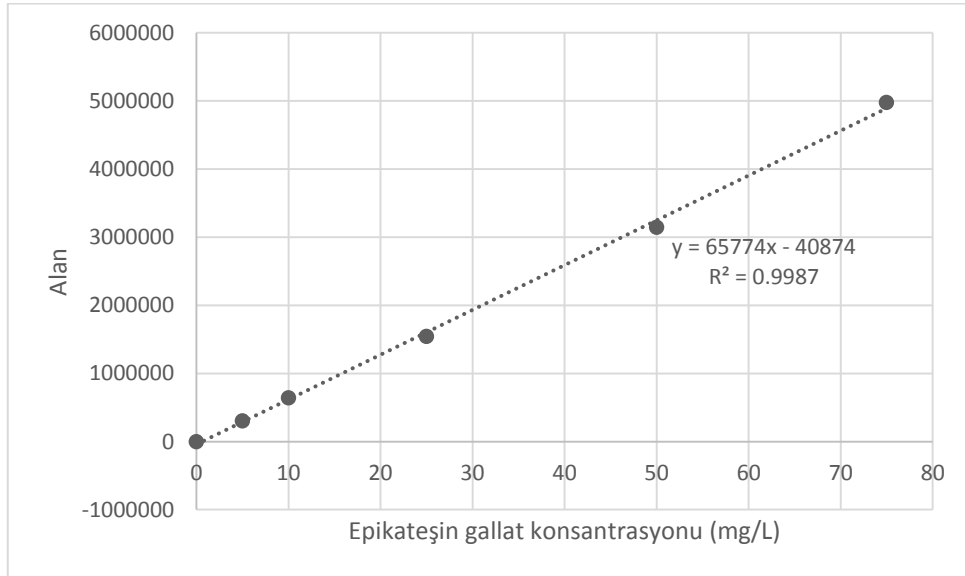
EK 3.1. (+) Kateşin standart eğrisi



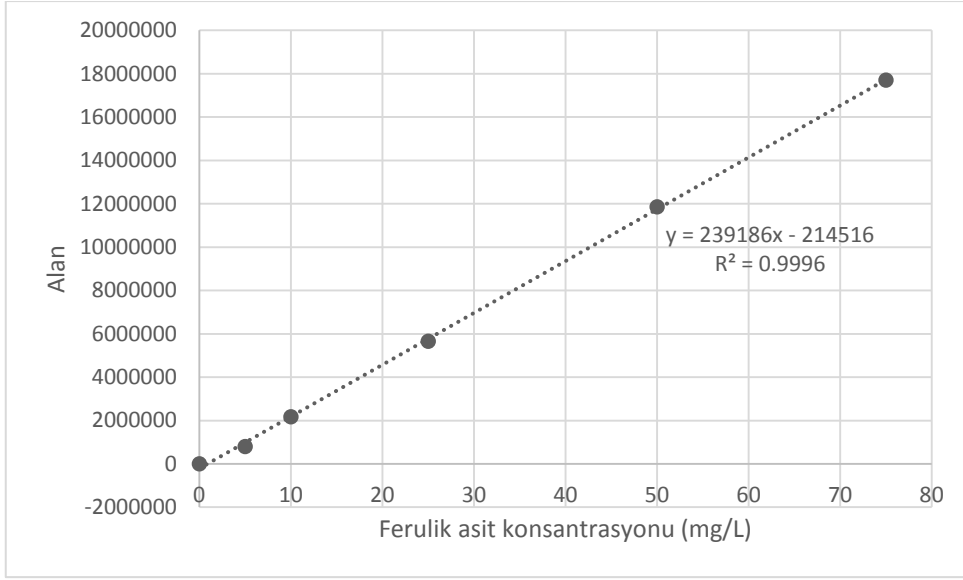
EK 3.2. Kafeik asit standart eğrisi



EK 3.3. *p*-Kumarik asit standart eğrisi

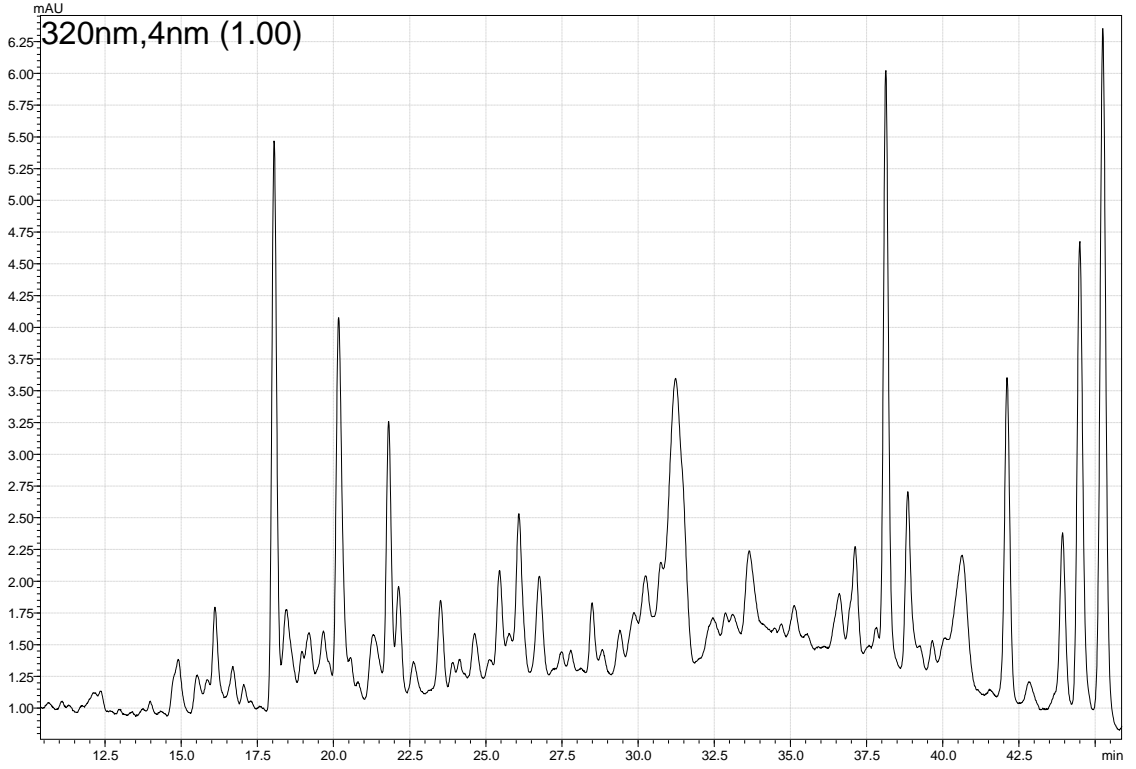
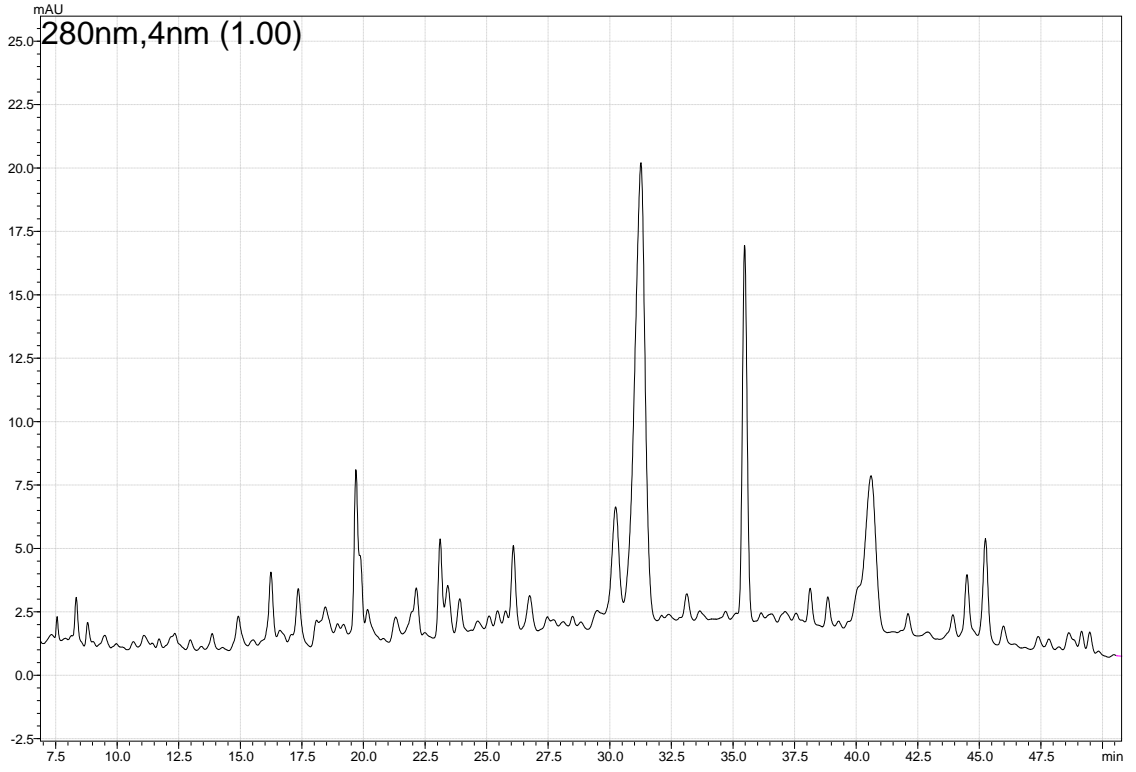


EK 3.4. Epikateşin gallat standart eğrisi

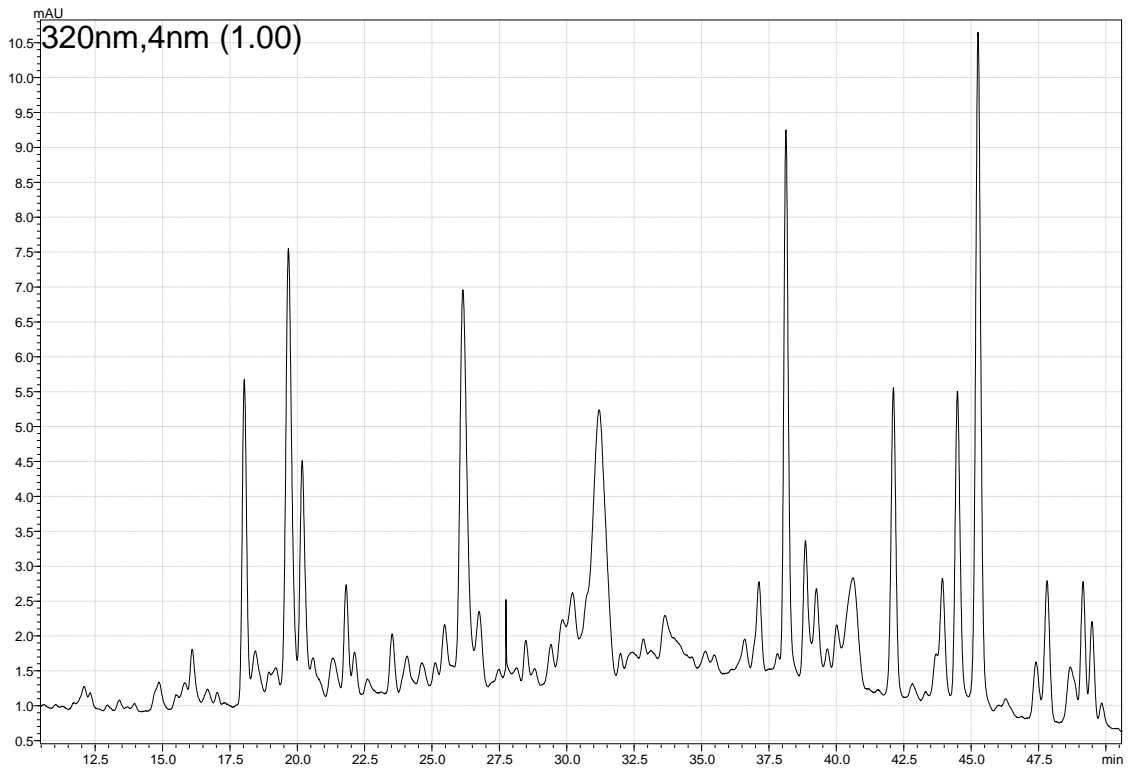
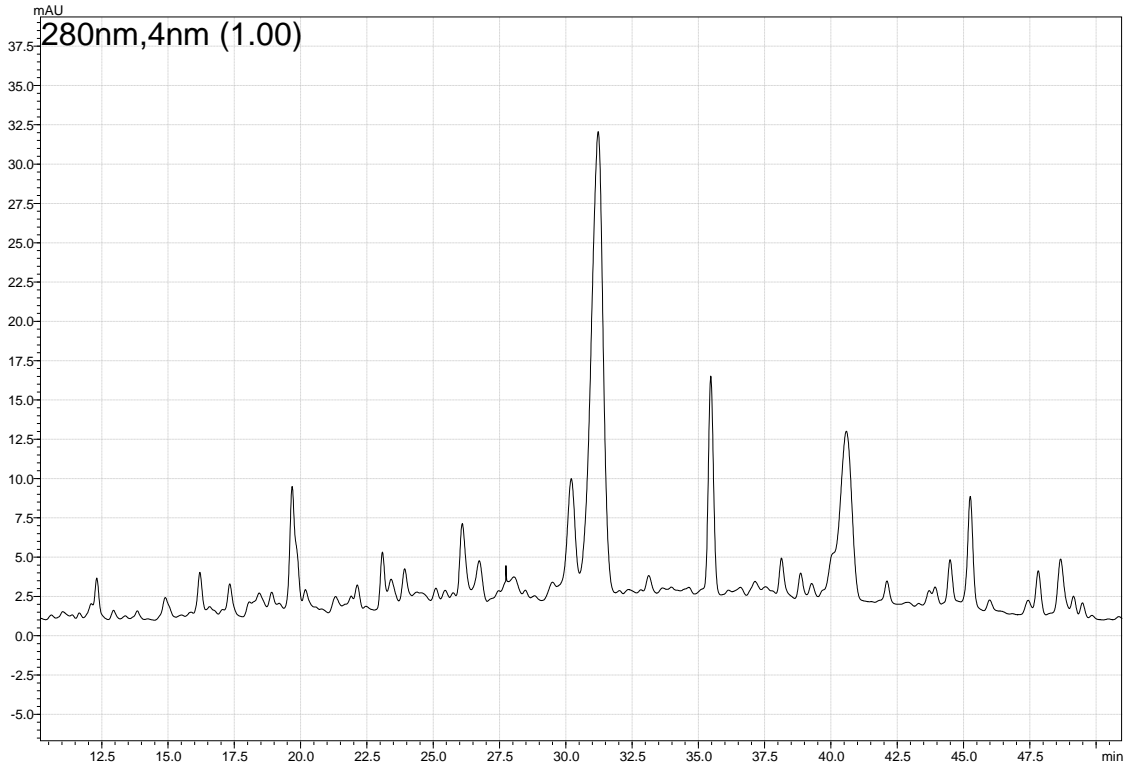


EK 3.5. Ferulik asit standart eğrisi

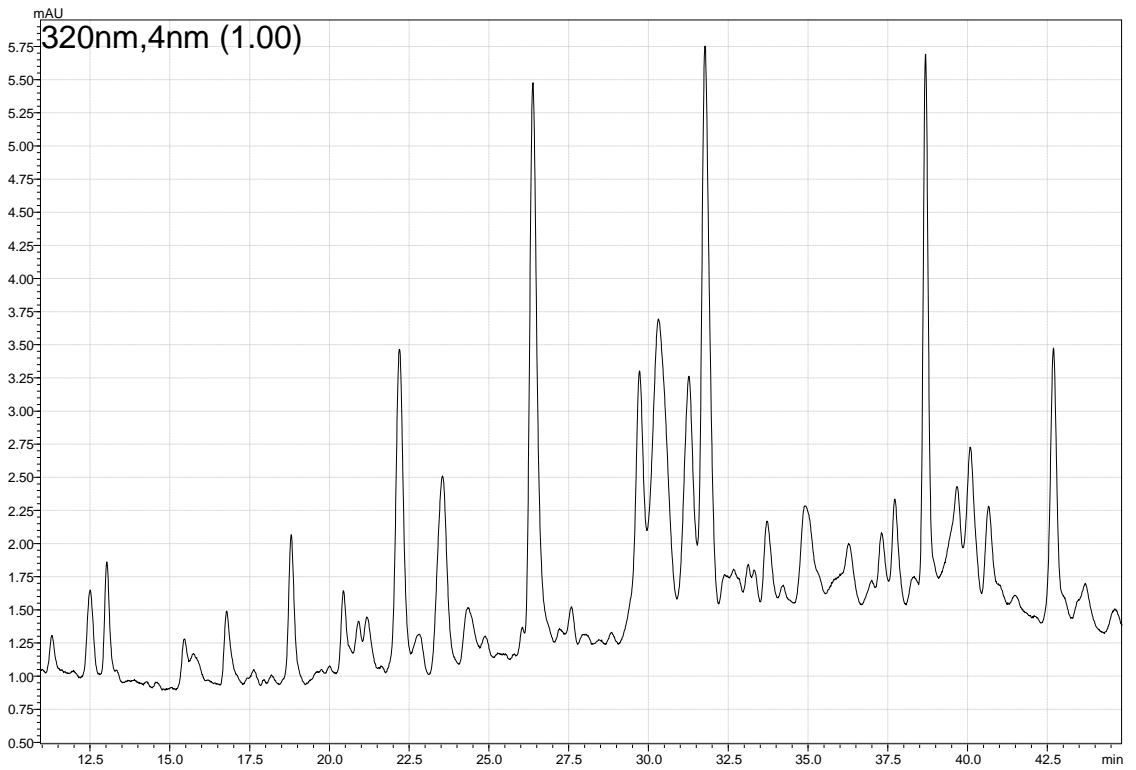
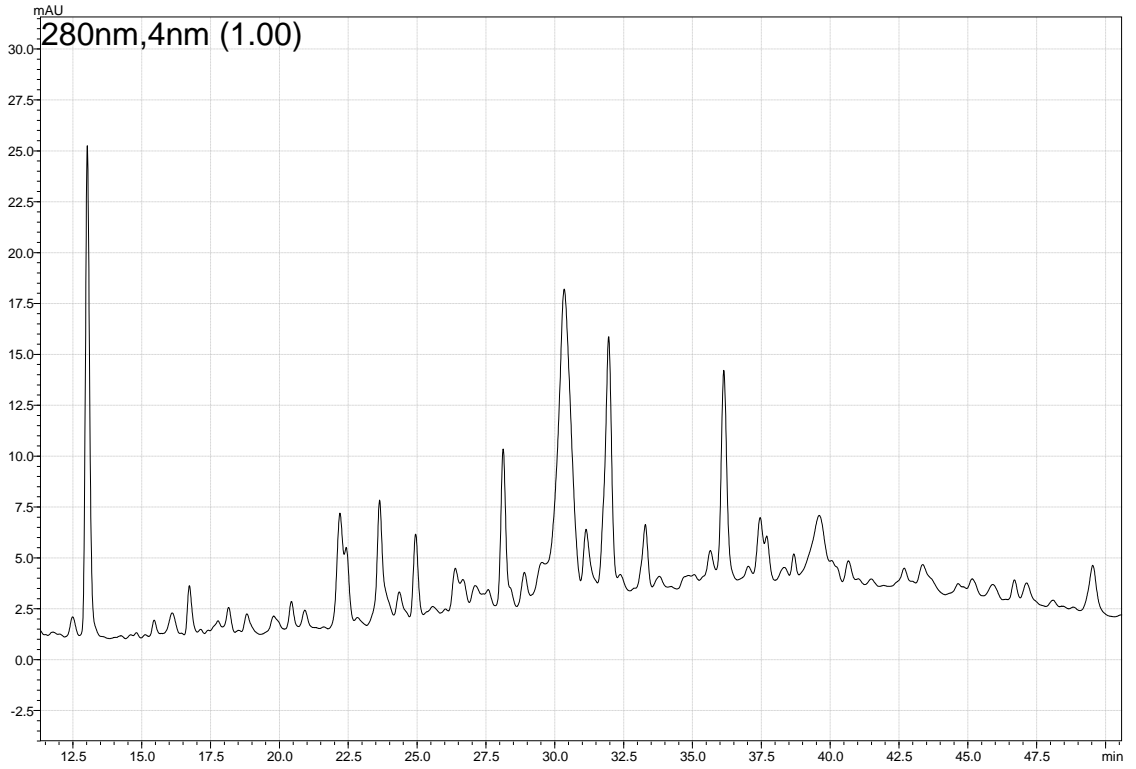
EK 4. Cabernet Sauvignon Şıra ve Şarap Örneklerinin Fenolik Madde Kromatogramları



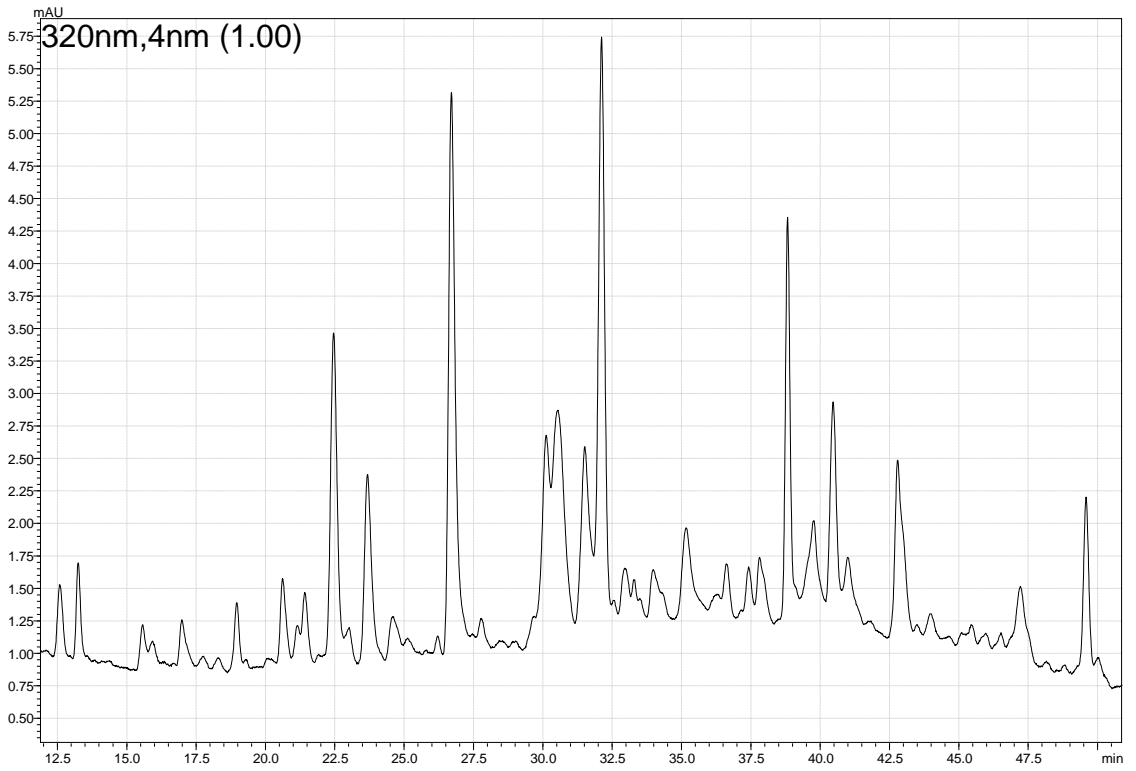
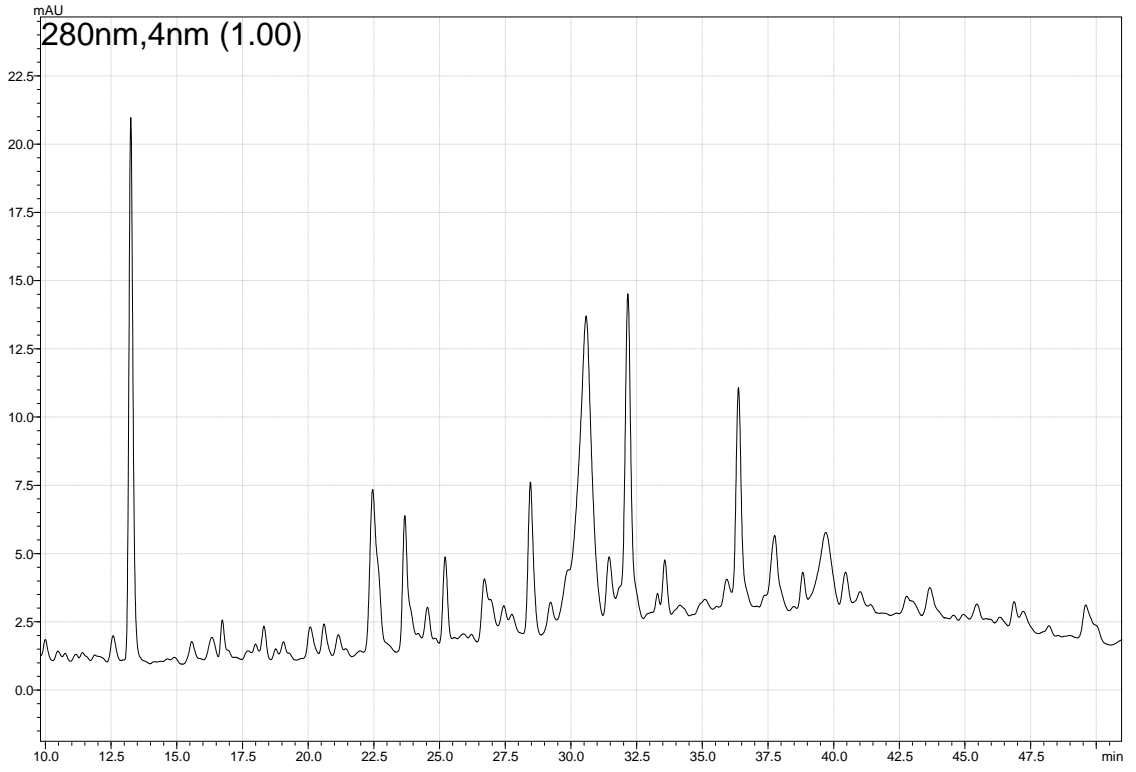
EK 4.1. Maserasyondan önce şıranın fenolik bileşiklerine ait HPLC kromatogramları (CS)



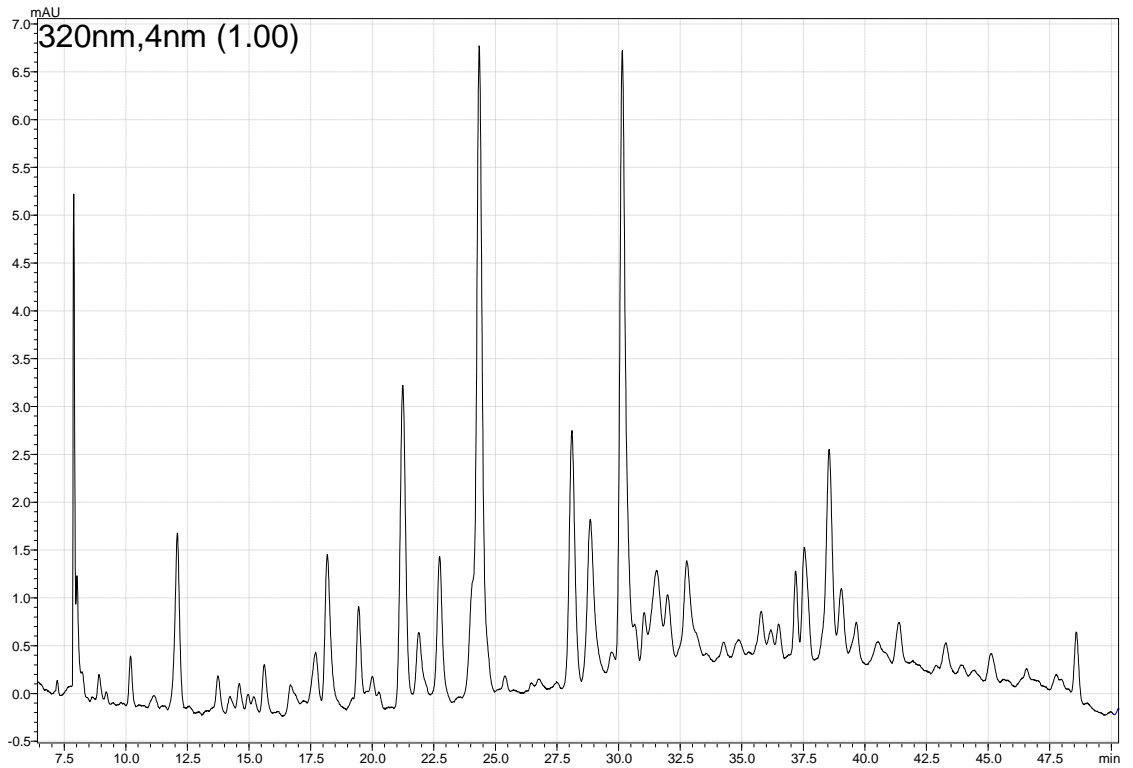
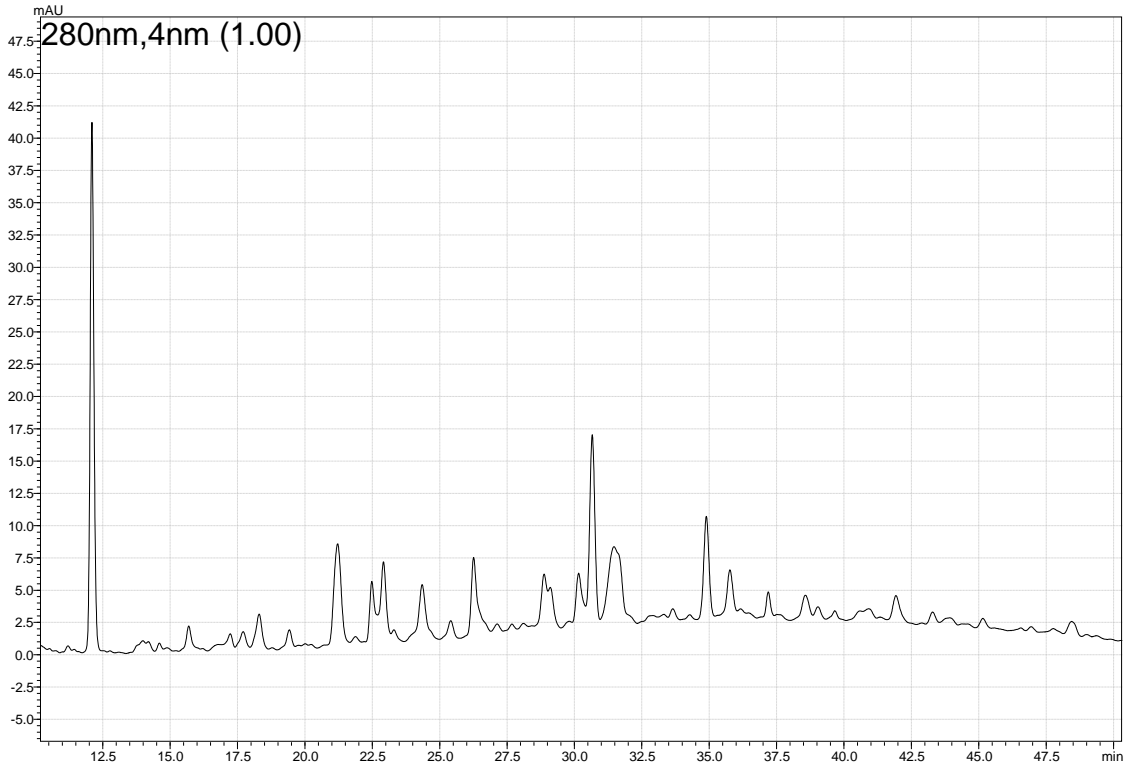
EK 4.2. Maserasyondan sonra sıranın fenolik bileşiklerine ait HPLC kromatogramları (CS)



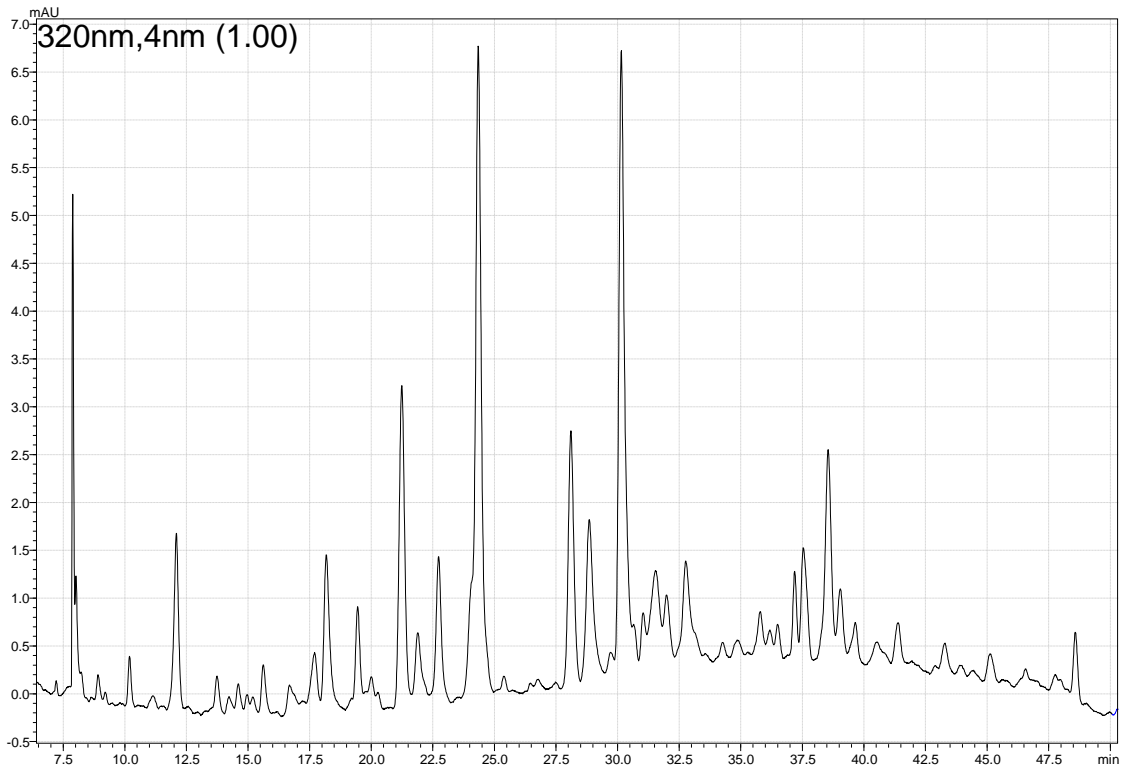
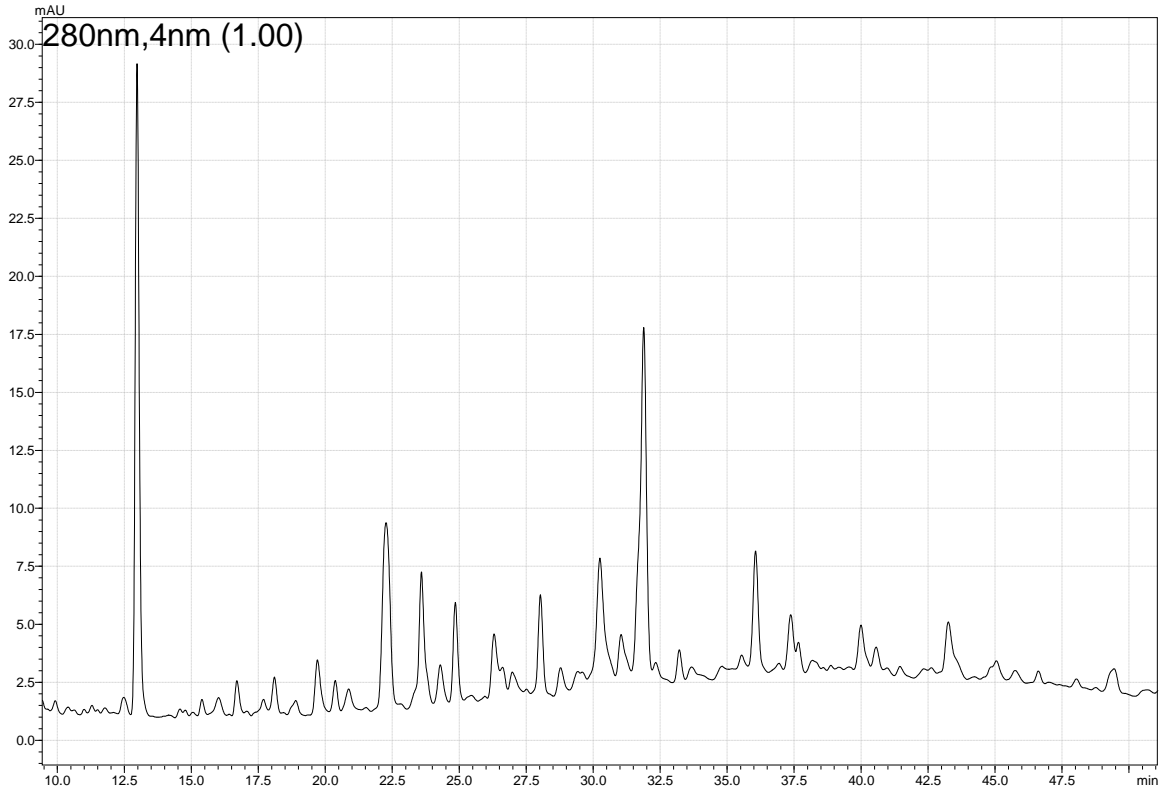
EK 4.3. Spontan fermentasyon ile üretilen ham şarabın fenolik bileşiklerine ait HPLC kromatogramları (CS)



EK 4.4. Ticari maya inokülasyonu ile üretilen ham şarabın fenolik bileşiklerine ait HPLC kromatogramları (CS)

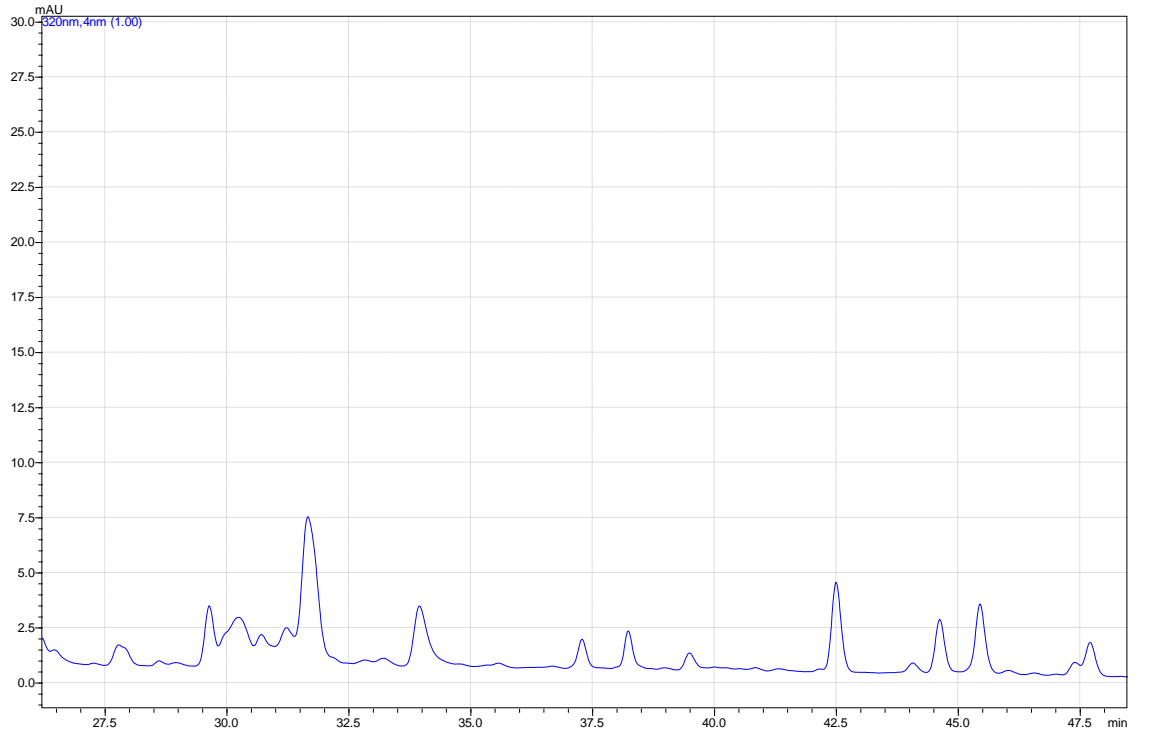
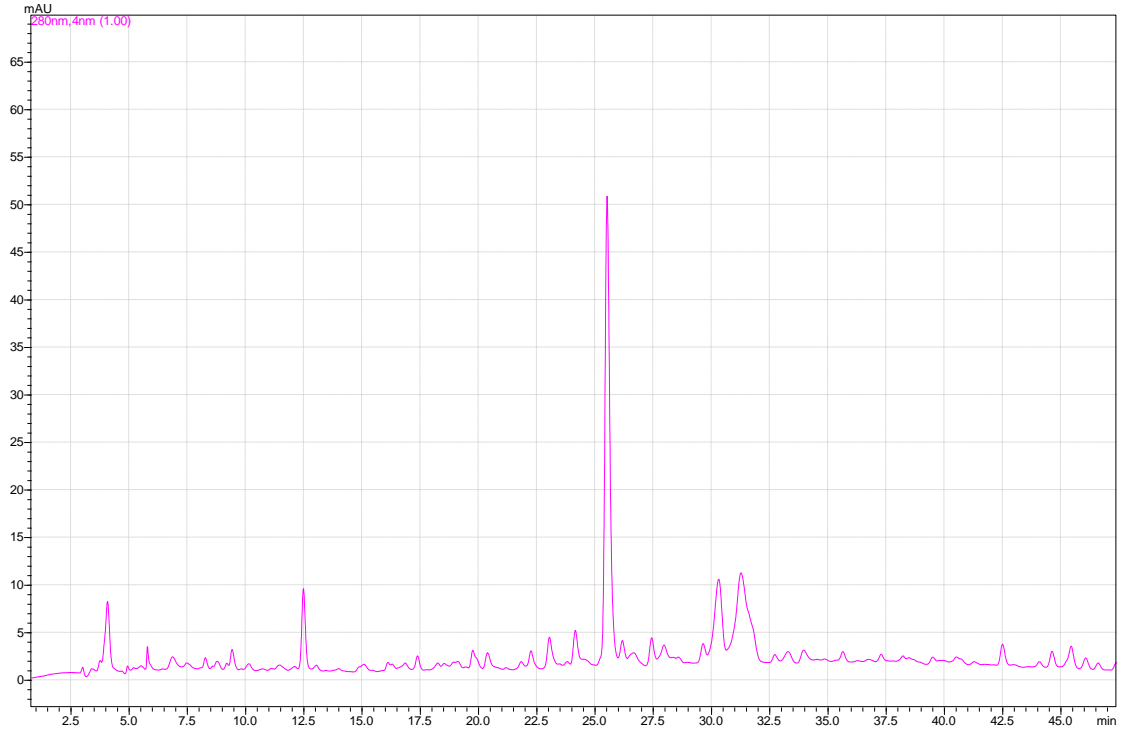


EK 4.5. Spontan fermentasyon ile üretilen genç şarabın fenolik bileşiklerine ait HPLC kromatogramları (CS)



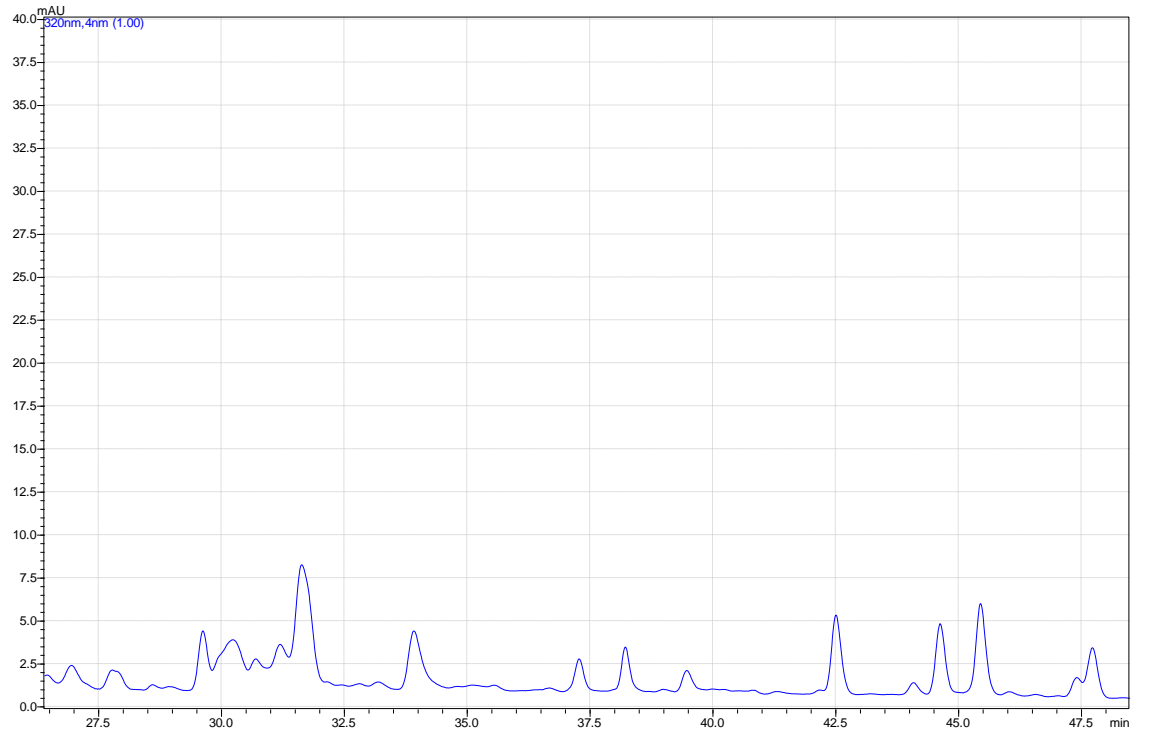
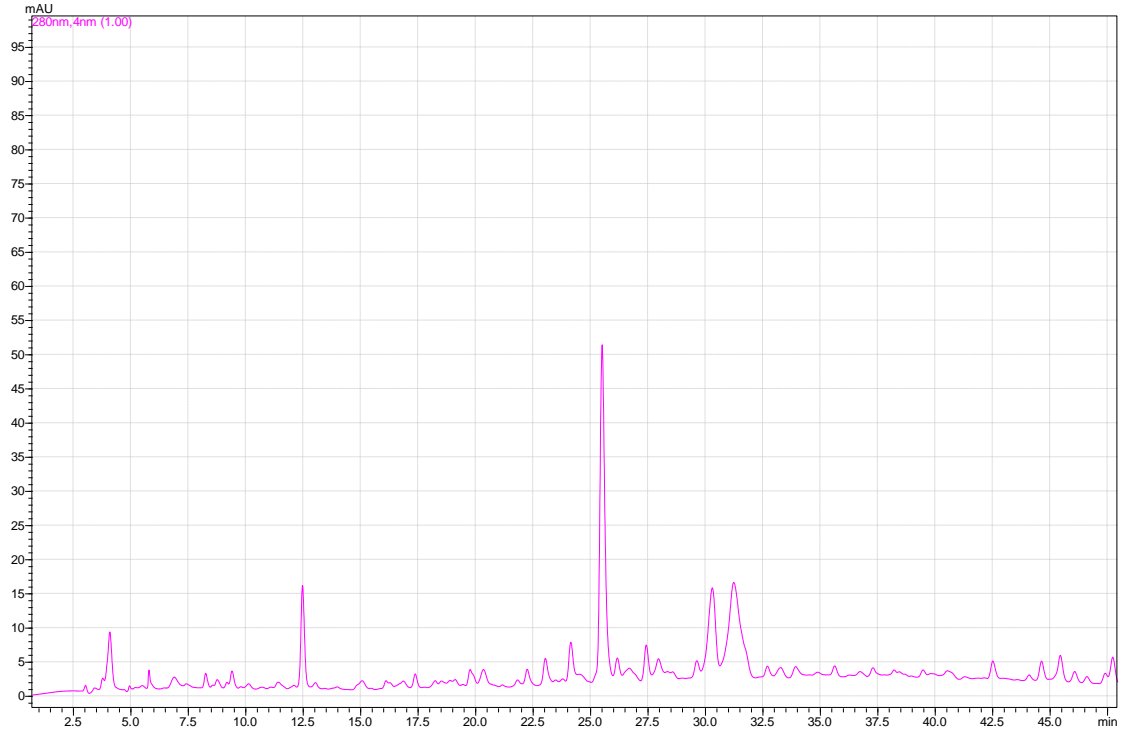
EK 4.6. Ticari maya inokülasyonu ile üretilen genç şarabın fenolik bileşiklerine ait HPLC kromatogramları (CS)

EK 5. Karalahna Şıra ve Şarap Örneklerinin Fenolik Madde Kromatogramları

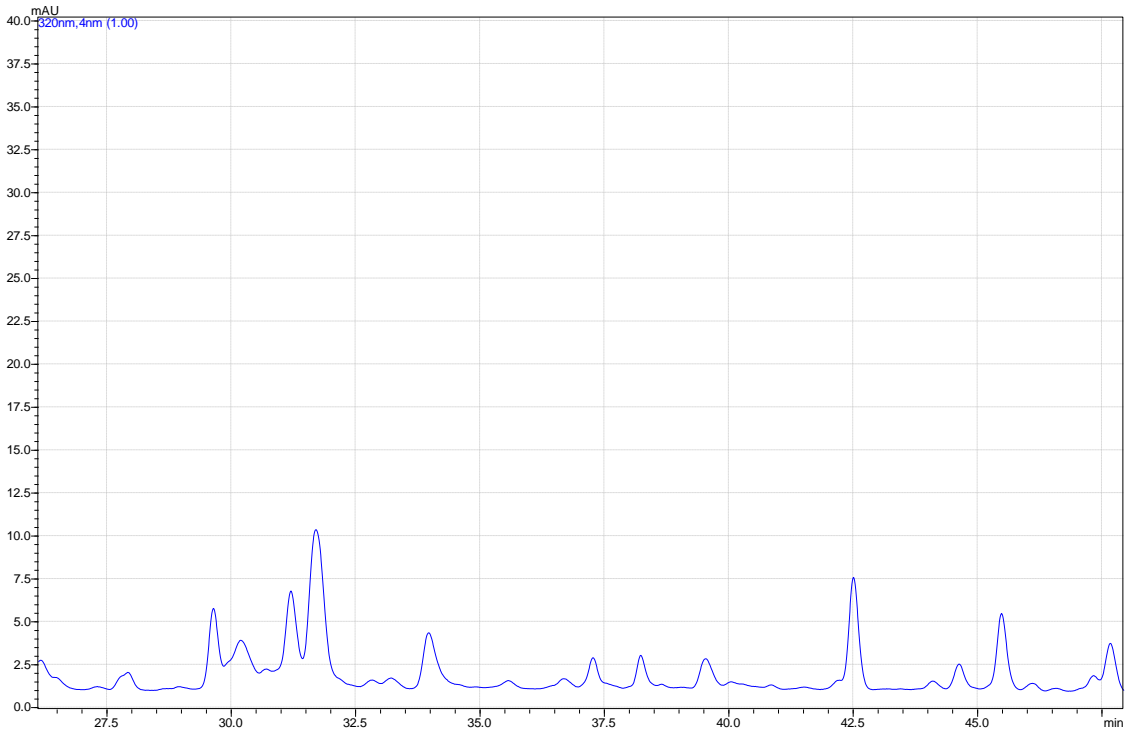
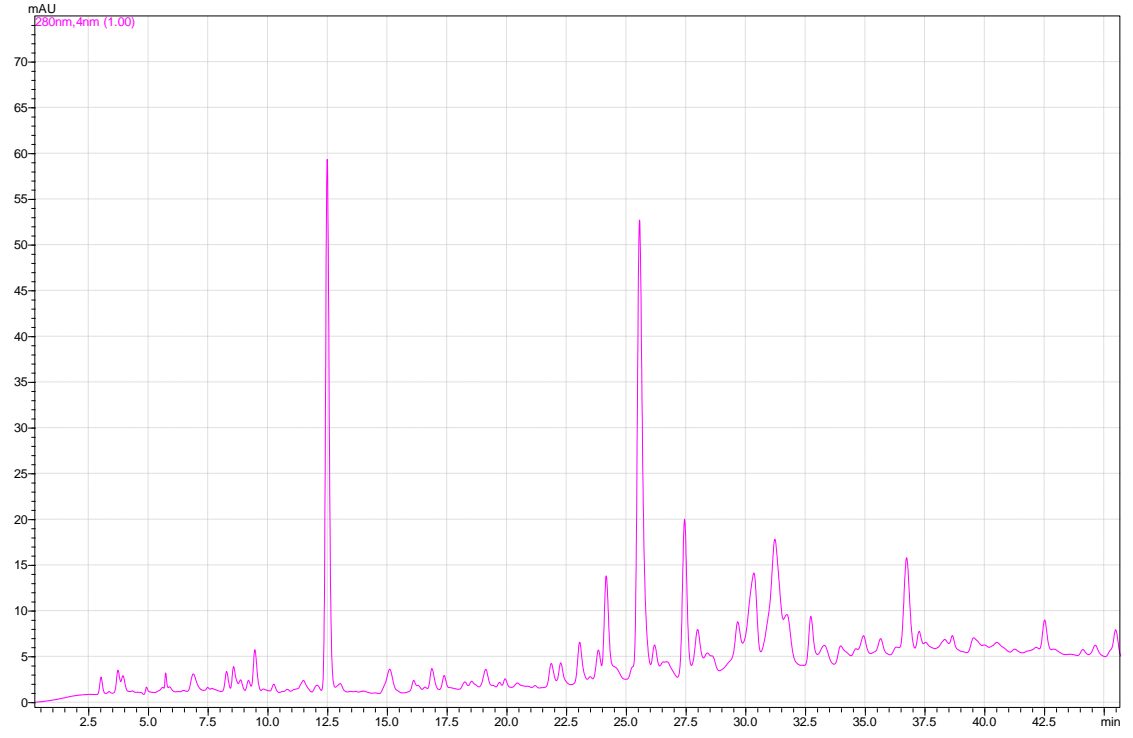


Ek 5.1. Maserasyon öncesi şıranın fenolik madde kromatogramları (280 ve 320 nm)

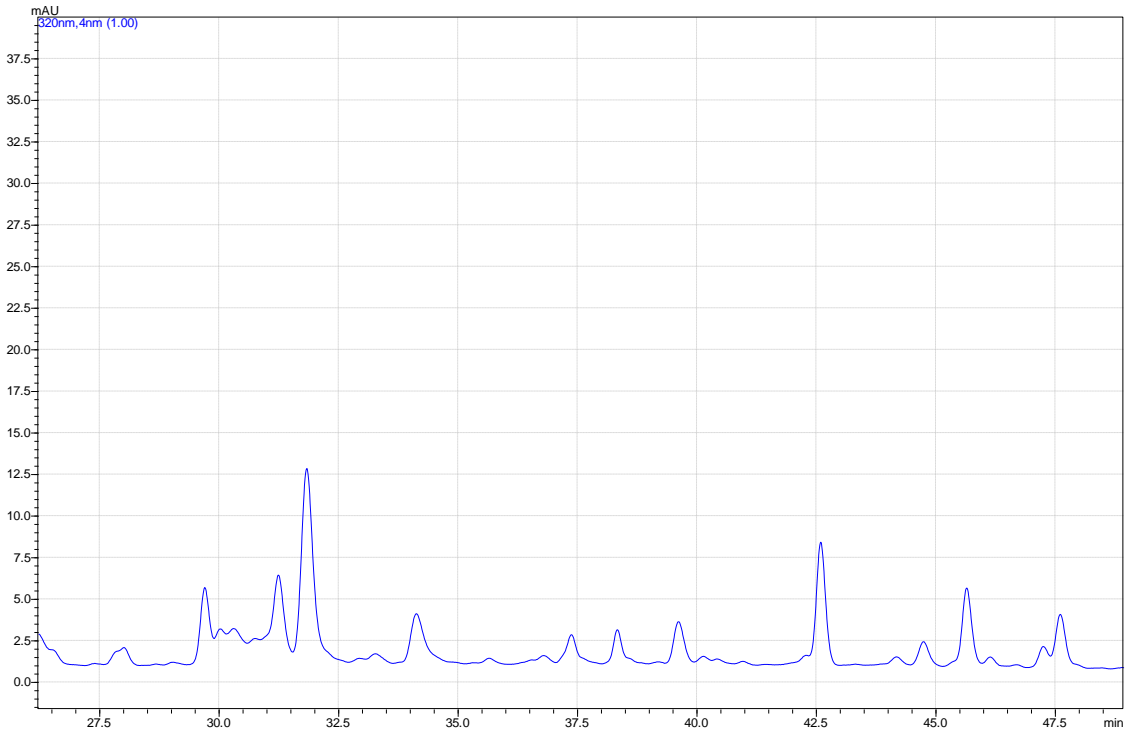
(KL)



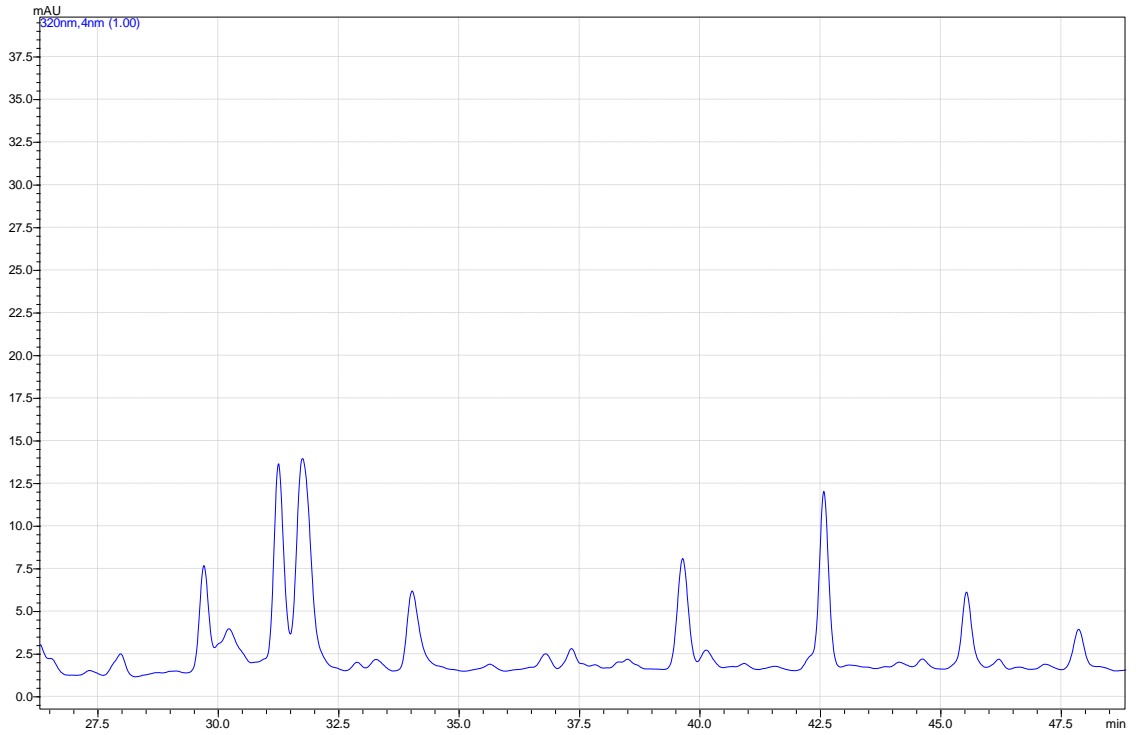
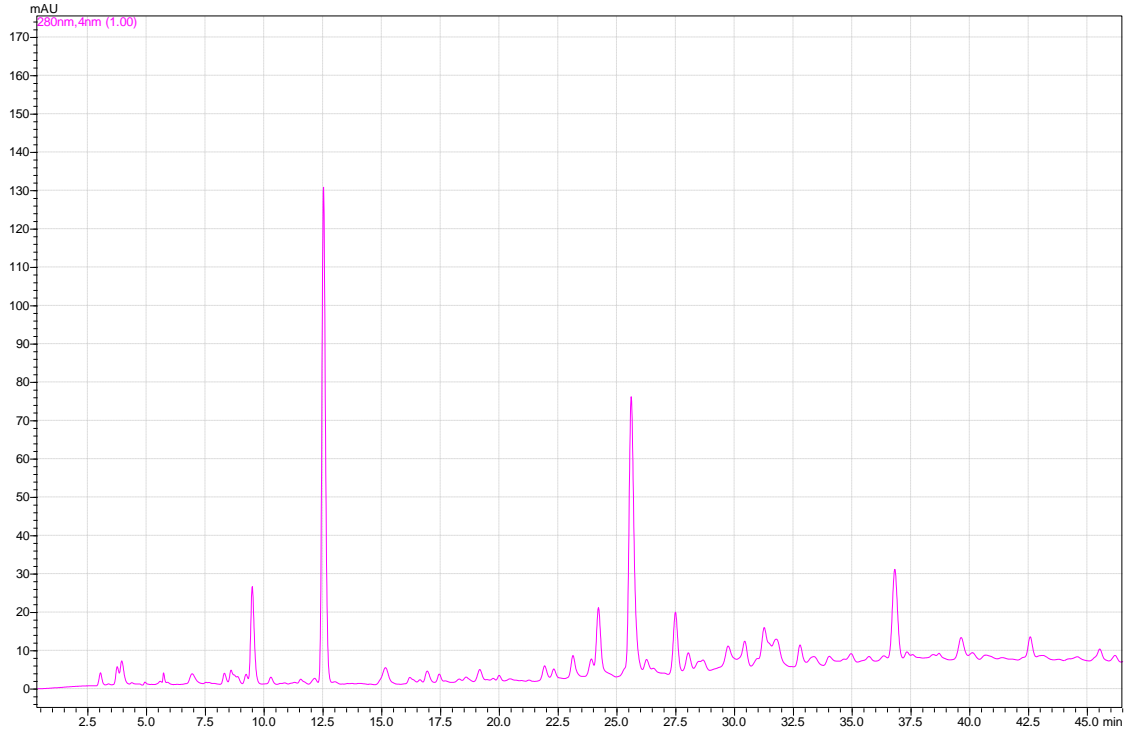
Ek 5.2. Maserasyon sonrası şıranın fenolik madde kromatogramları (280 ve 320 nm) (KL)



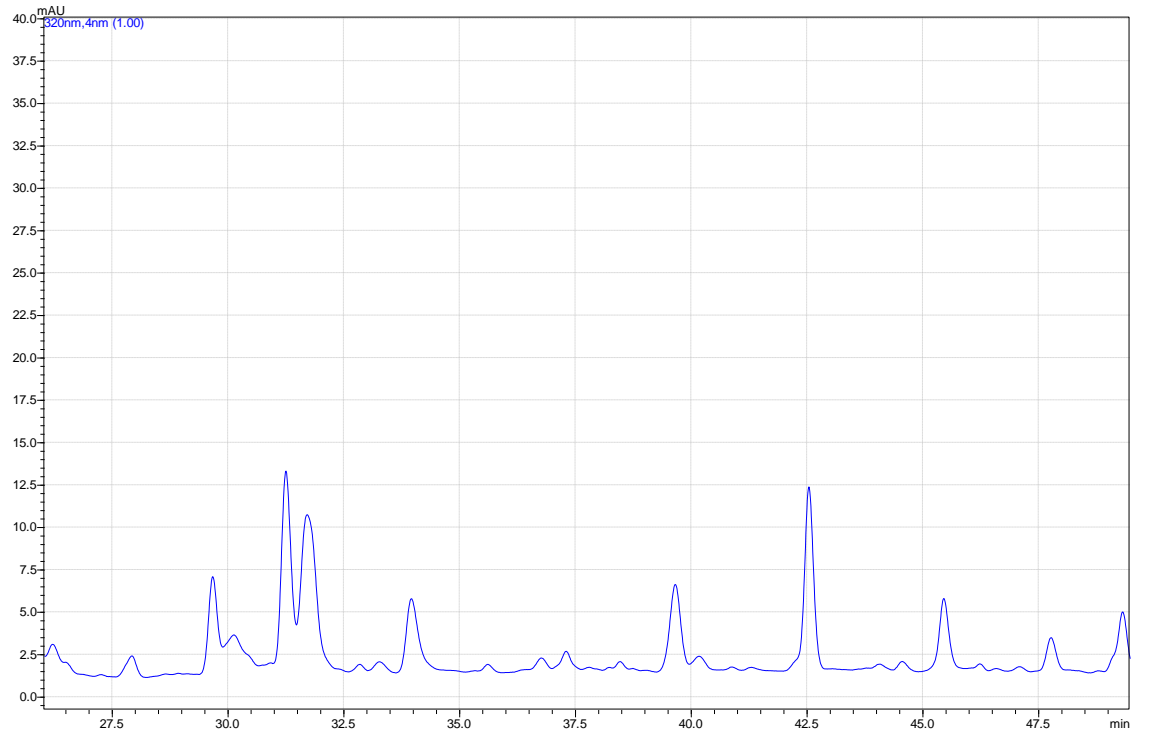
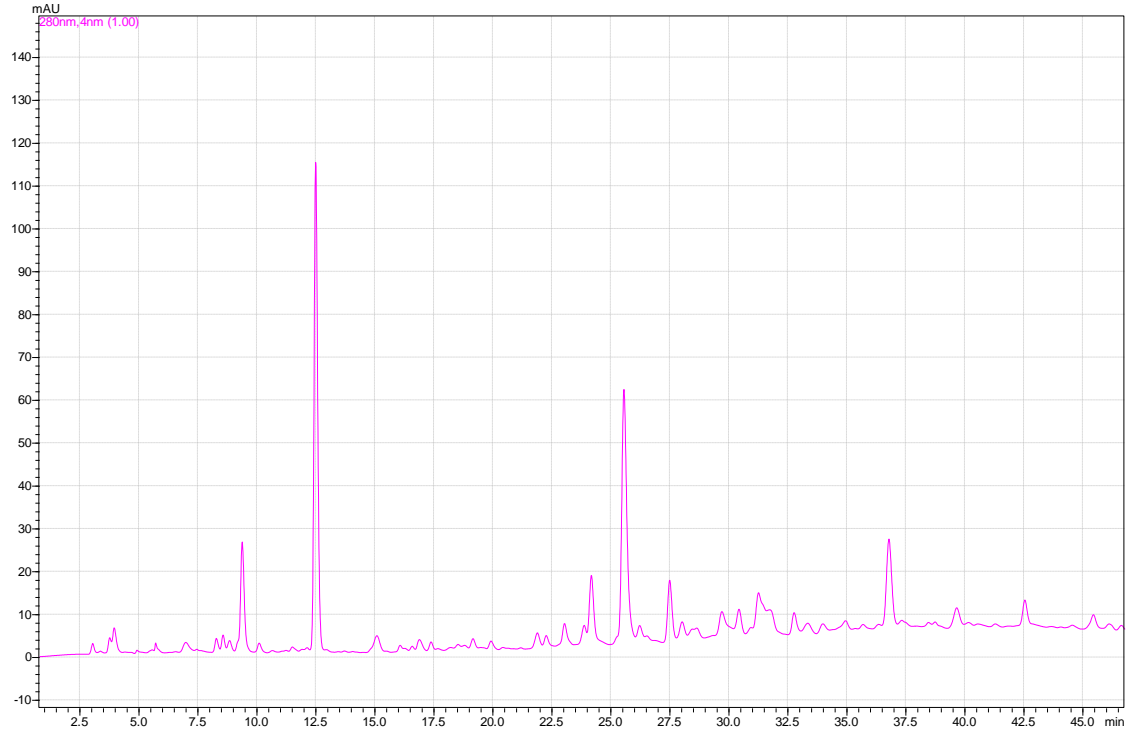
Ek 5.3. Spontan ham şarapların fenolik madde kromatogramları (280 ve 320 nm) (KL)



Ek 5.4. Ticari mayalı ham şarapların fenolik madde kromatogramları (280 ve 320 nm)
(KL)

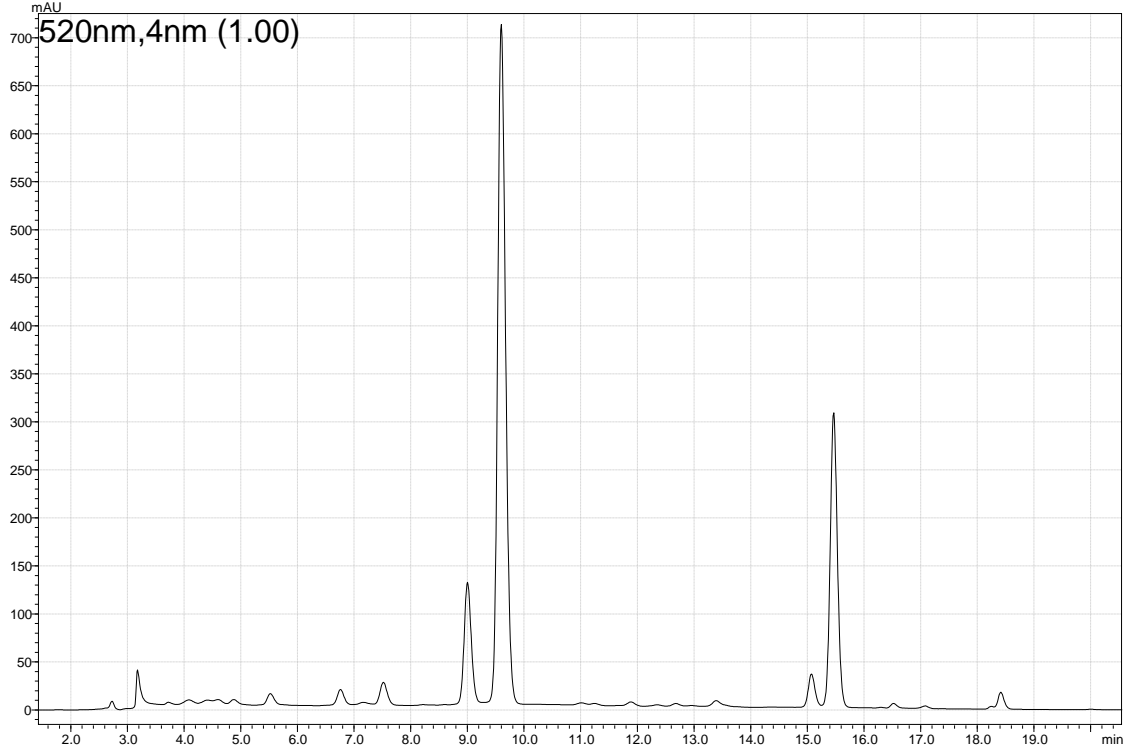


Ek 5.5. Ticari mayalı şarapların fenolik madde kromatogramları (280 ve 320 nm)
(KL)

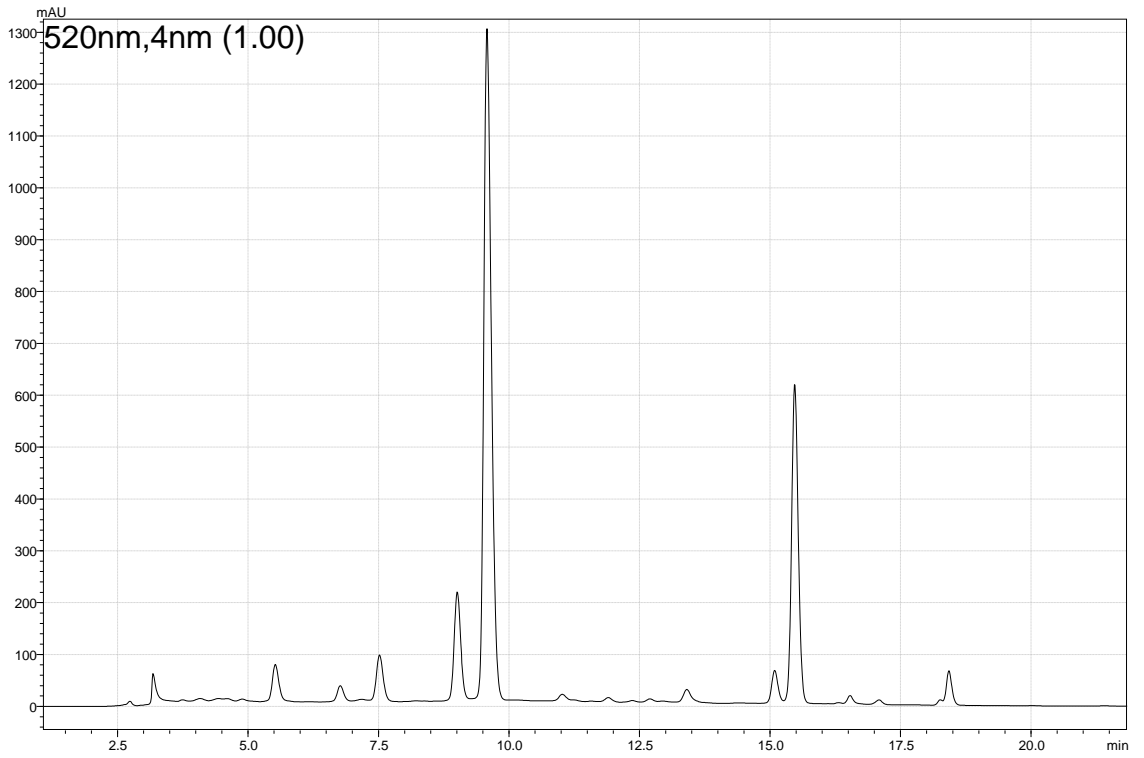


Ek 5.6. Spontan şarapların fenolik madde kromatogramları (280 ve 320 nm) (KL)

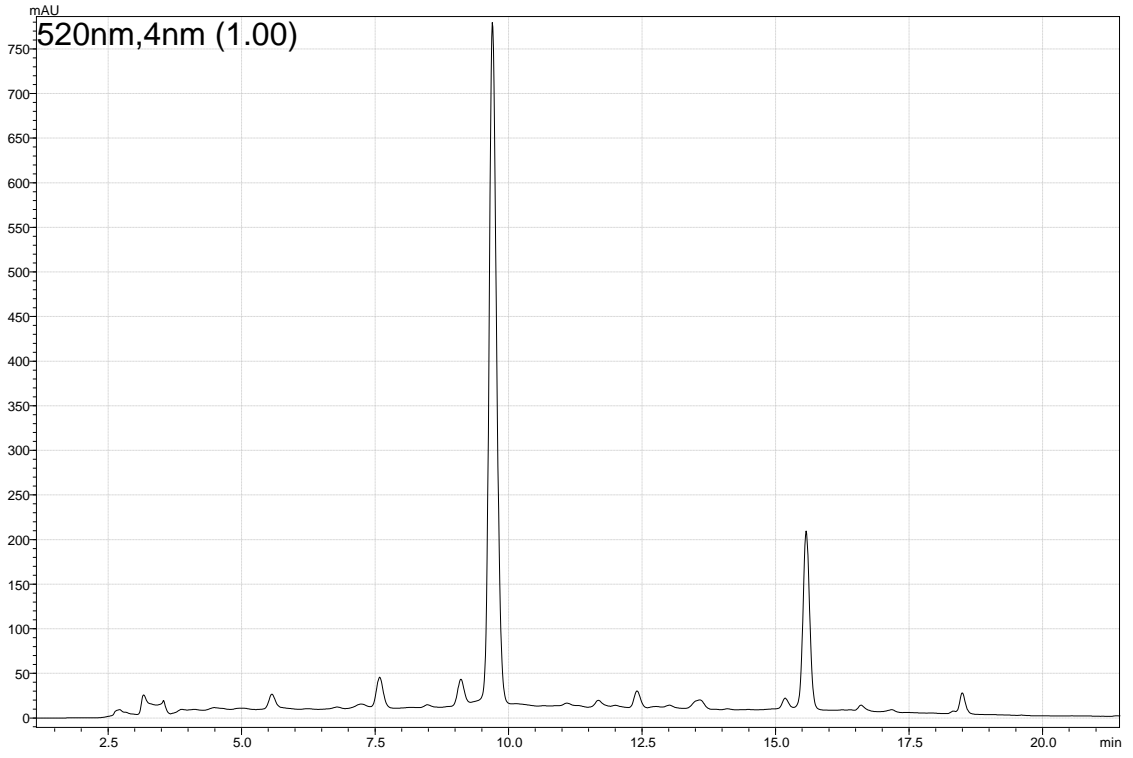
EK 6. Cabernet Sauvignon Şıra ve Şarap Örneklerinin Antosiyanin Kromatogramları



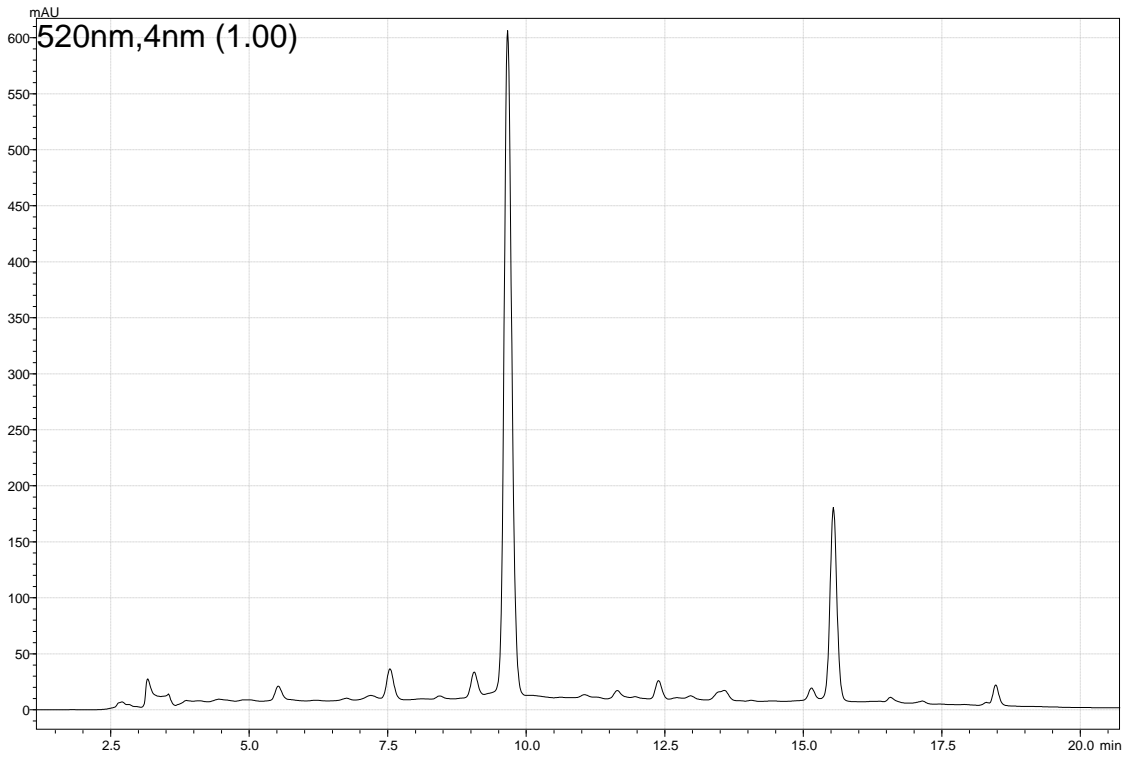
EK 6.1. Maserasyondan önce şıranın antosiyaninlerine ait HPLC kromatogramı (CS)



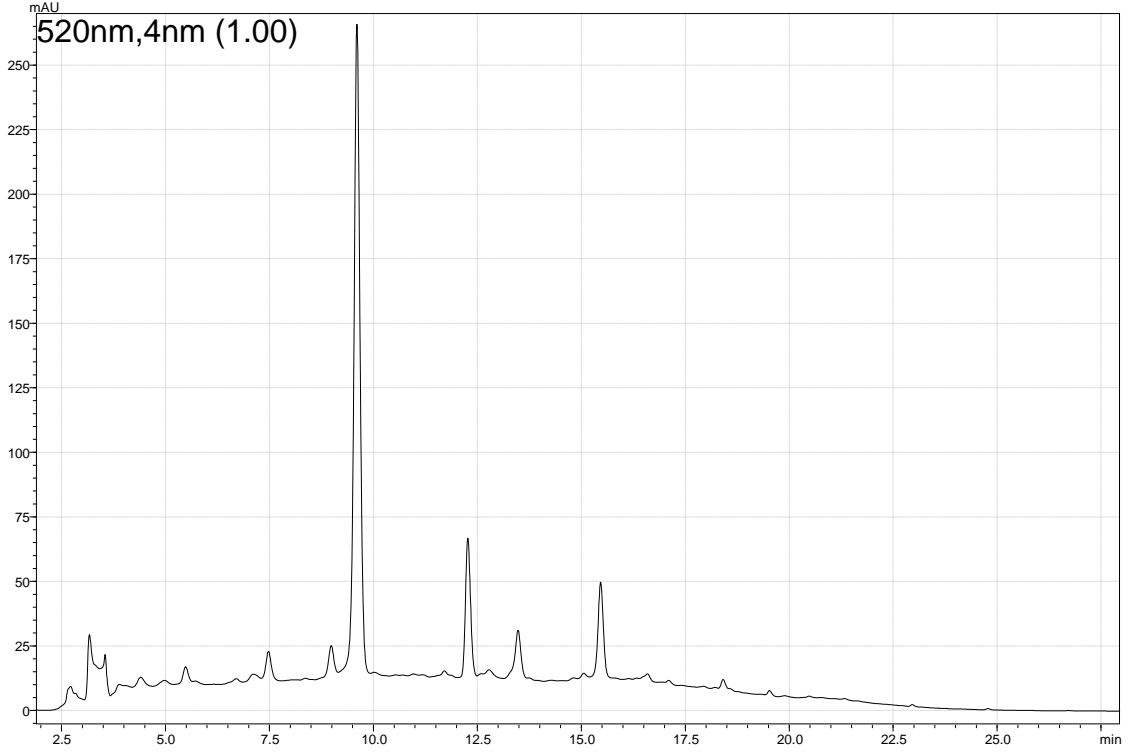
EK 6.2. Maserasyondan sonra şıranın antosiyaninlerine ait HPLC kromatogramı (CS)



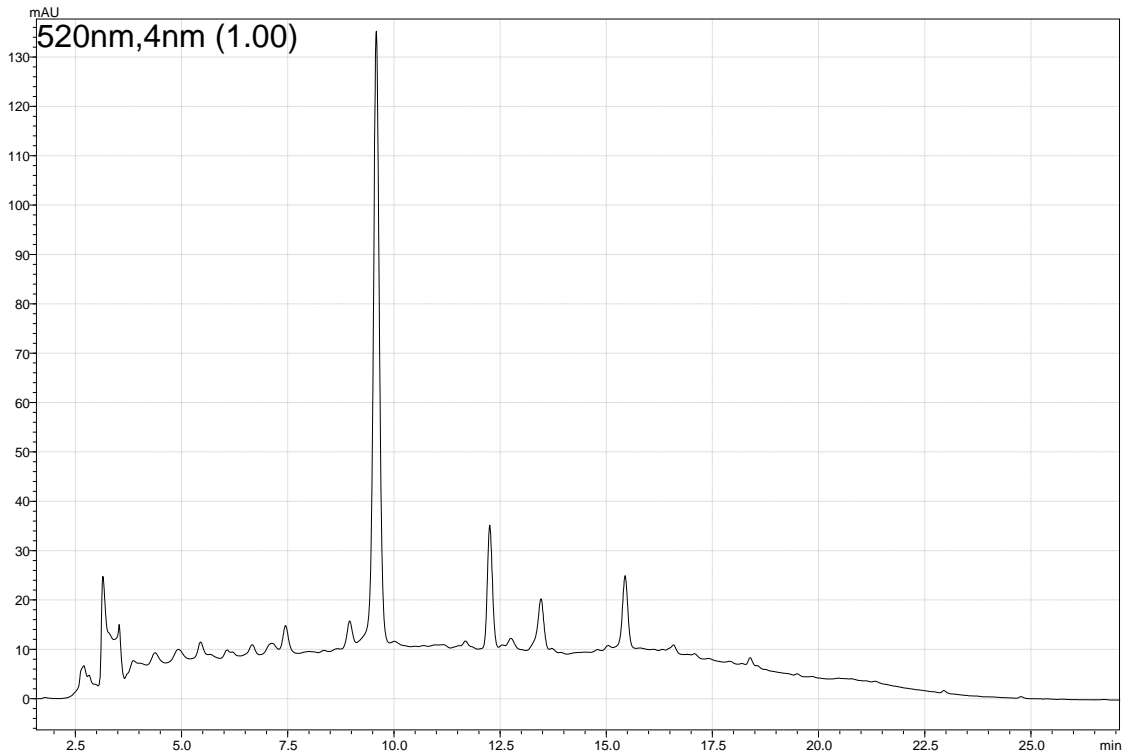
EK 6.3. Spontan fermentasyon ile üretilen ham şarabın antosiyaninlerine ait HPLC kromatogramı (CS)



EK 6.4. Ticari maya inokülasyonu ile üretilen ham şarabın antosiyaninlerine ait HPLC kromatogramı (CS)

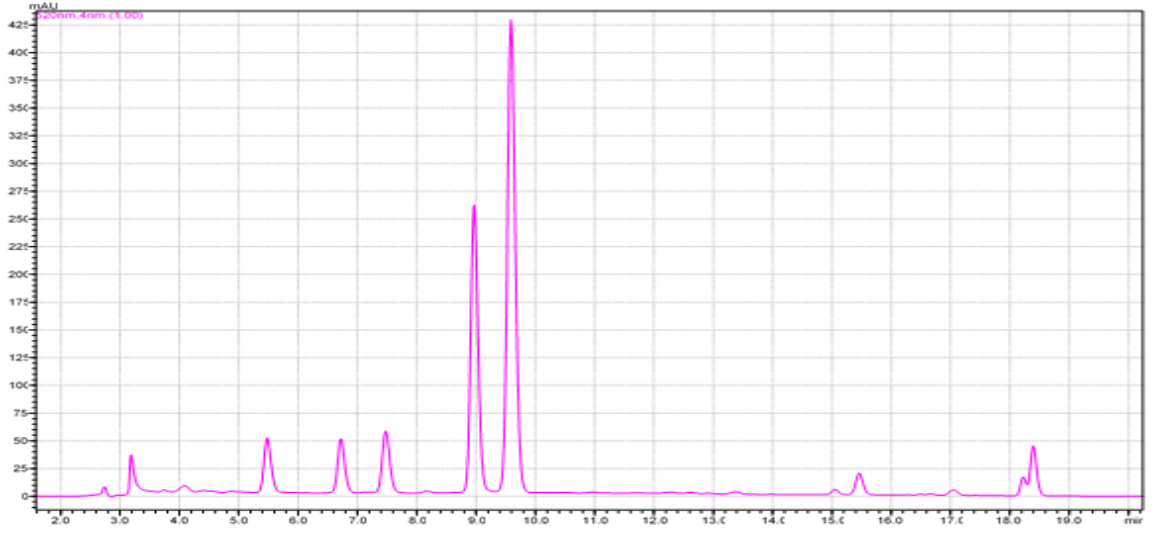


EK 6.5. Spontan fermentasyon ile üretilen genç şarabın antosiyaninlerine ait HPLC kromatogramı (CS)

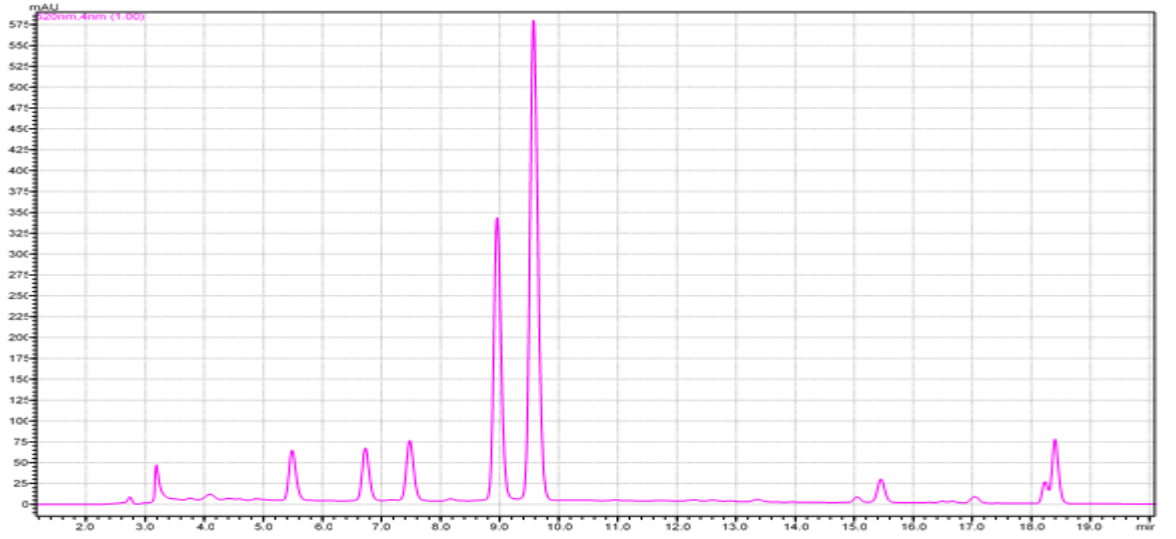


EK 6.6. Ticari maya inokülasyonu ile üretilen genç şarabın antosiyaninlerine ait HPLC kromatogramı (CS)

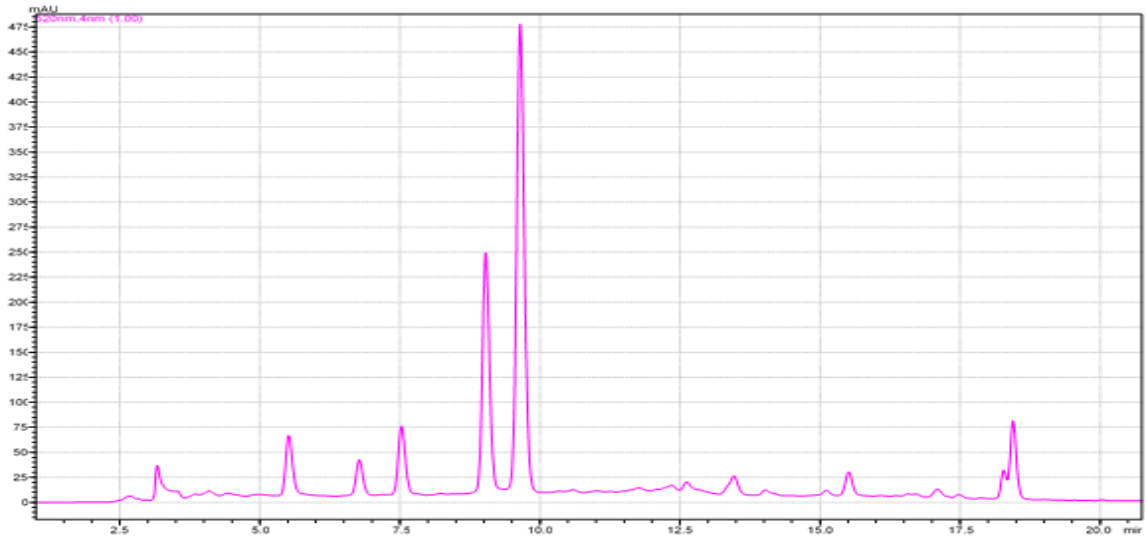
EK 7. Karalahna Şıra ve Şarap Örneklerinin Antosiyanin Kromatogramları



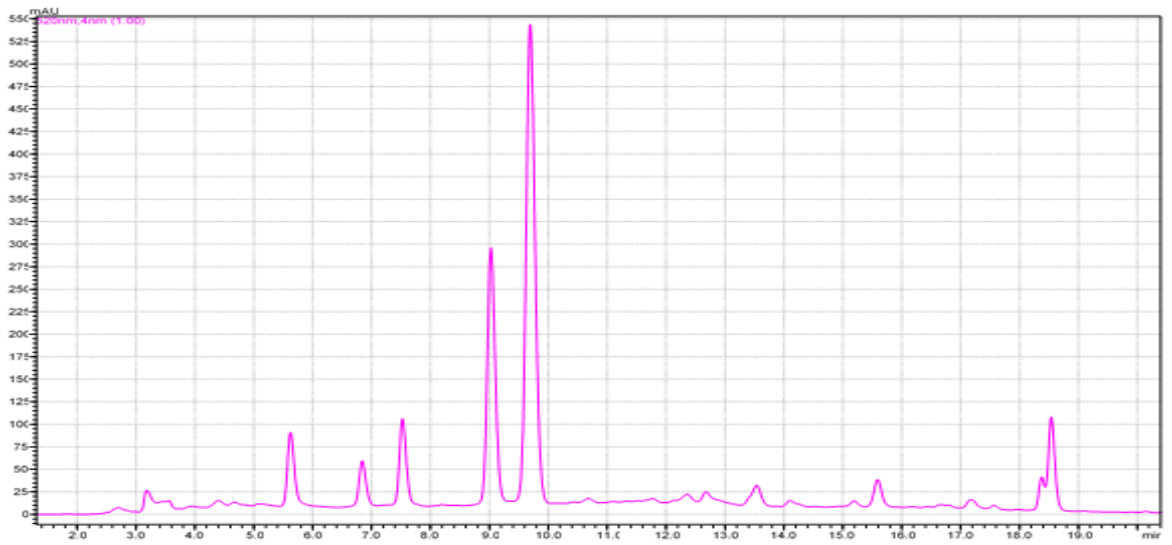
Ek 7.1. Maserasyon öncesi şıranın antosiyanin kromatogramı (520 nm) (KL)



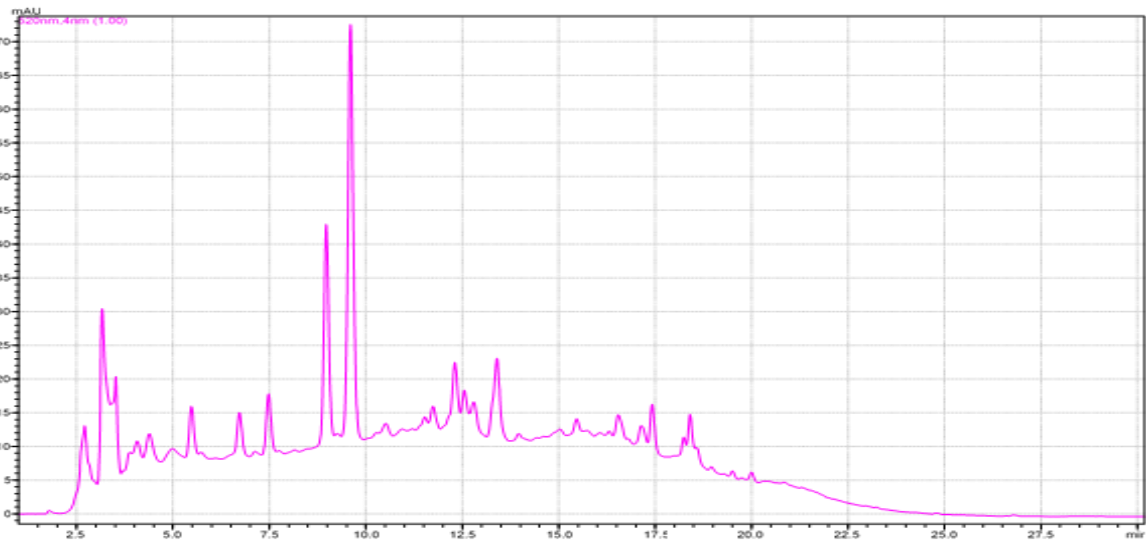
Ek 7.2. Maserasyon sonrası şıranın antosiyanin kromatogramı (520 nm) (KL)



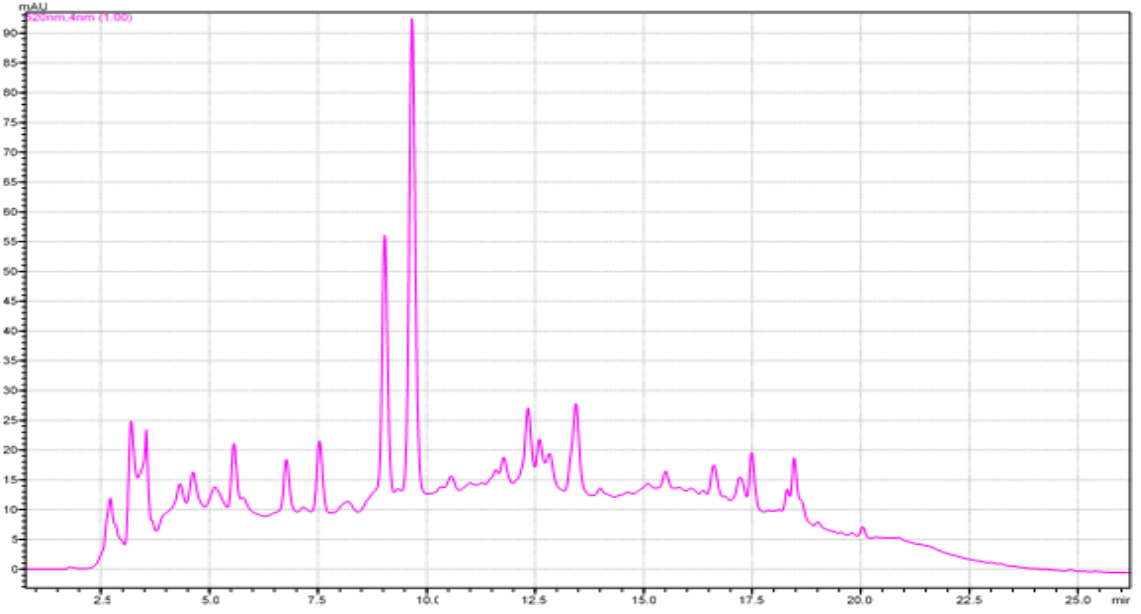
Ek 7.3. Spontan ham şarapların antosiyanin kromatogramı (520nm) (KL)



Ek 7.4. Ticari mayalı ham şarapların antosiyanin kromatogramı (520 nm) (KL)

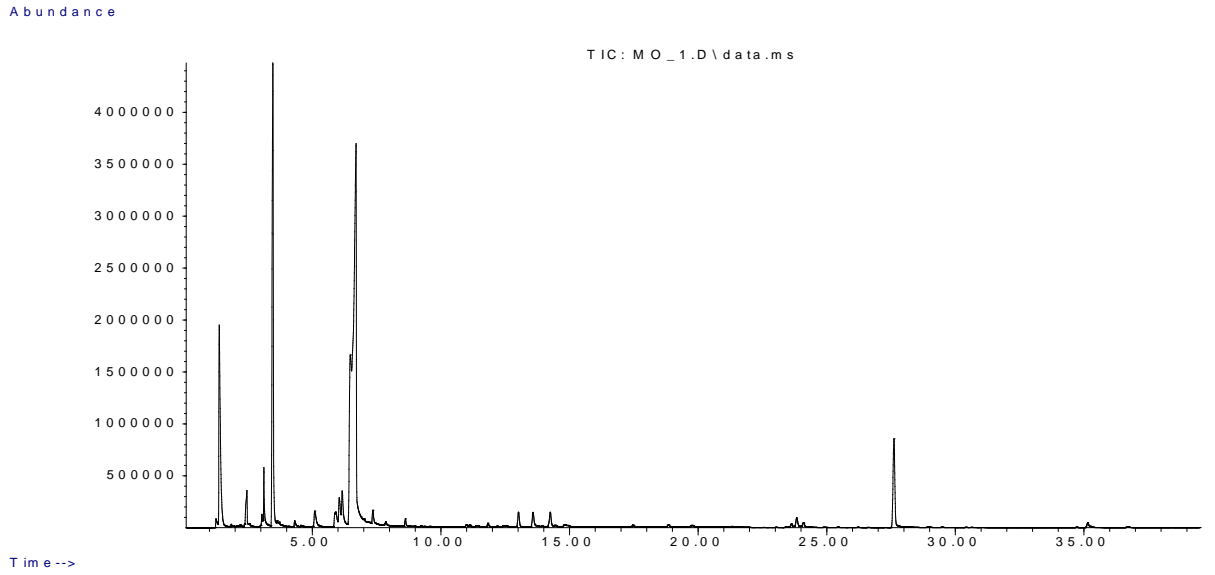


Ek 7.5. Spontan şarapların antosiyanin kromatogramı (520 nm) (KL)

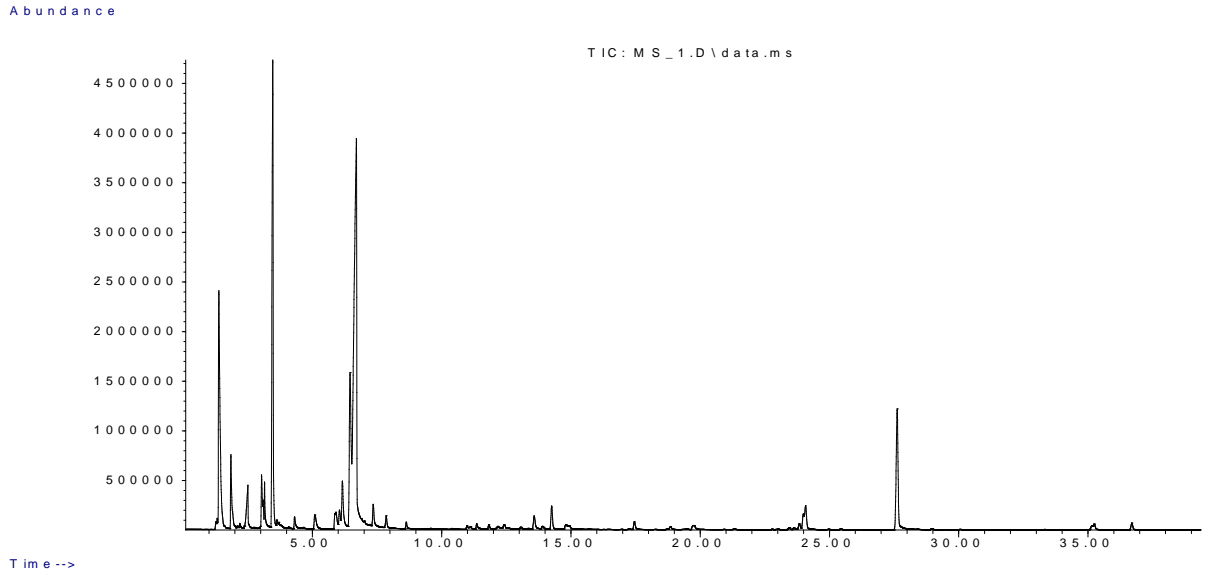


Ek 7.6. Ticari mayalı şarapların antosiyanin kromatogramı (520 nm) (KL)

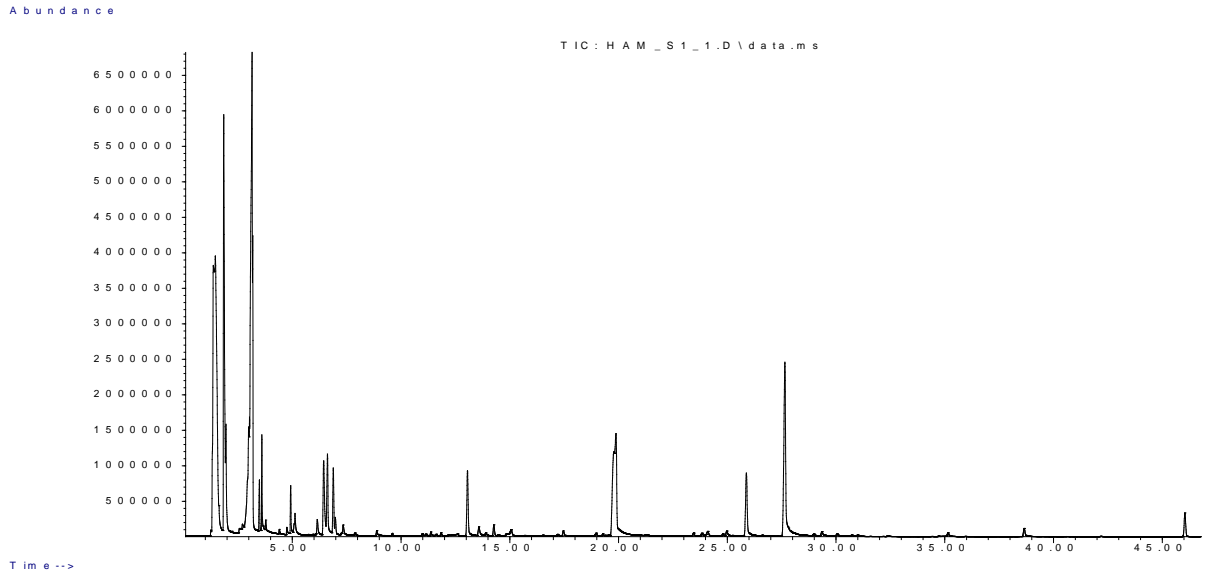
EK 8. Cabernet Sauvignon Şıra ve Şarap Örneklerinin GC-MS Kromatogramları



EK 8.1. Maserasyondan önce şıranın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (CS)

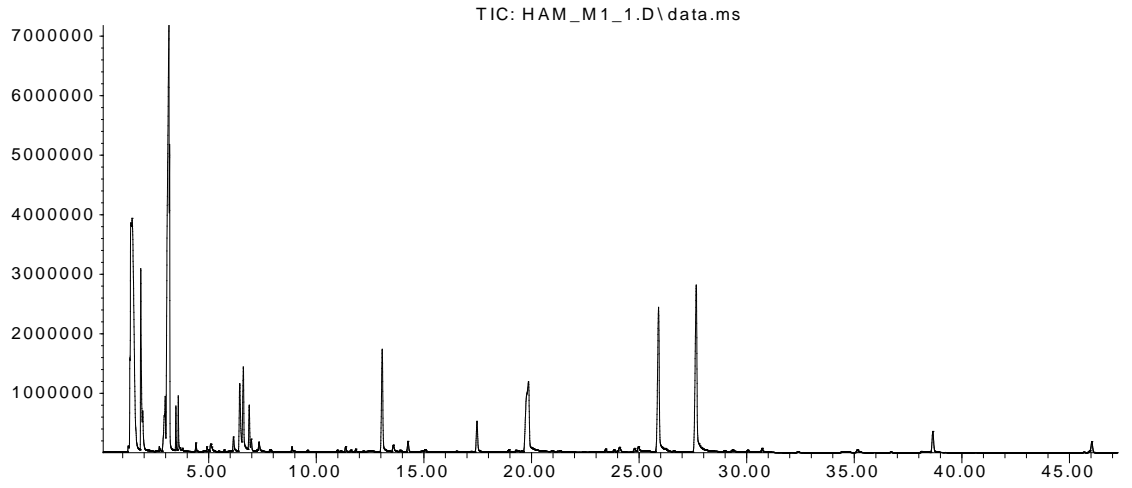


EK 8.2. Maserasyon sonrasında şıranın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (CS)



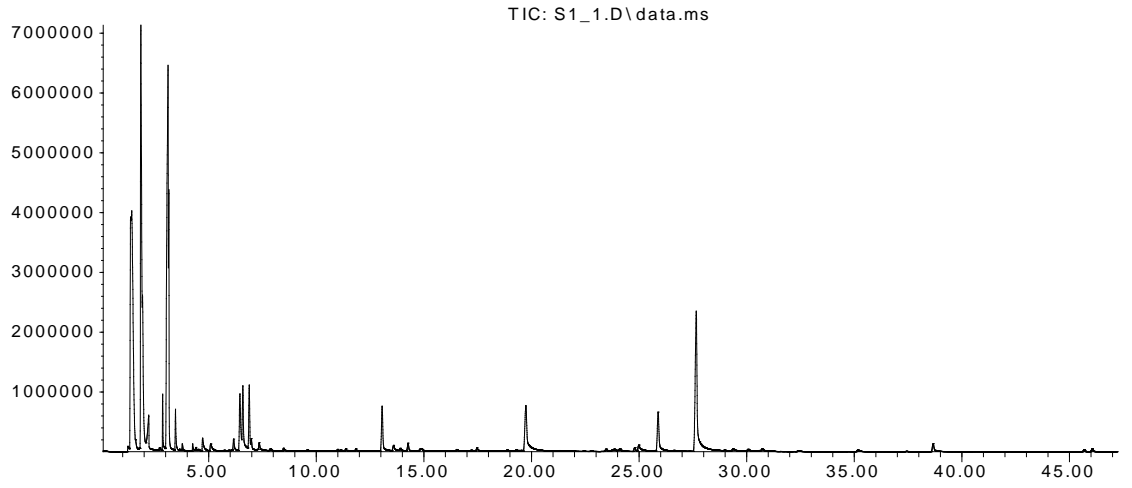
EK 8.3. Spontan fermentasyon ile üretilen ham şarabın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (CS)

Abundance



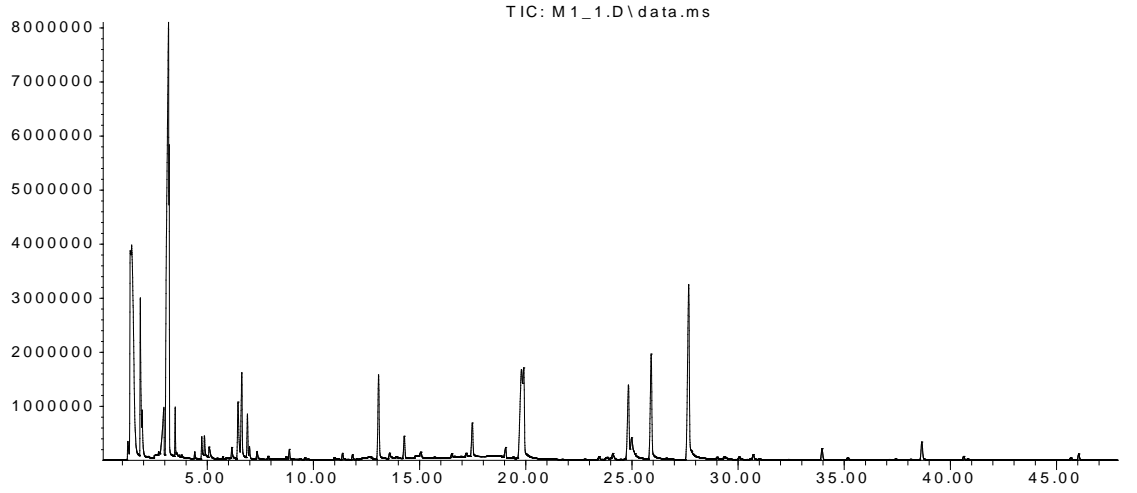
EK 8.4. Ticari maya inokülasyonu ile üretilen ham şarabın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (CS)

Abundance



EK 8.5. Spontan fermentasyon ile üretilen genç şarabın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (CS)

Abundance

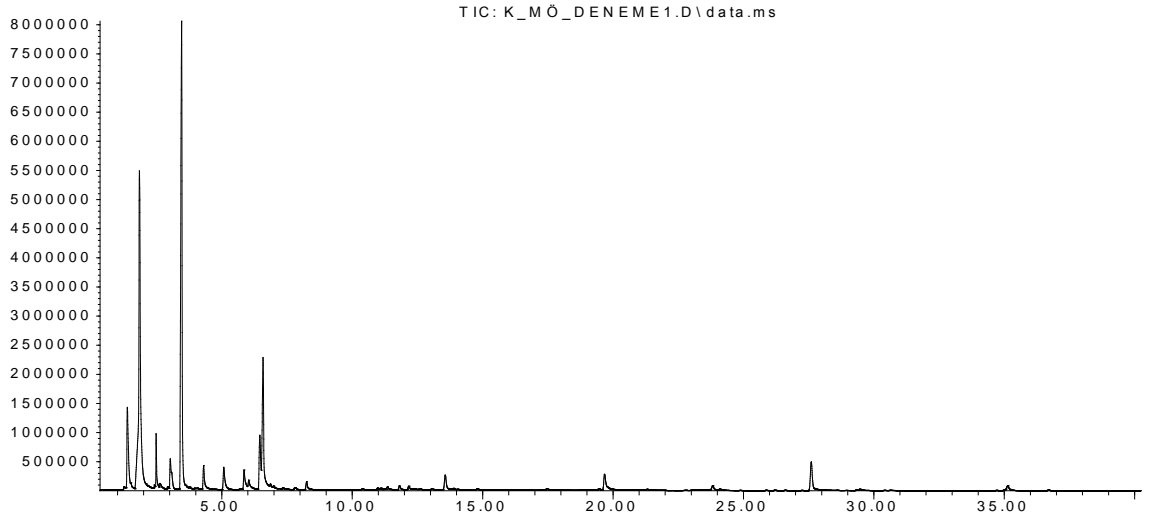


Time-->

EK 8.6. Ticari maya inokülasyonu ile üretilen genç şarabın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (CS)

EK 9. Karalahna Şıra ve Şarap Örneklerinin GC-MS Kromatogramları

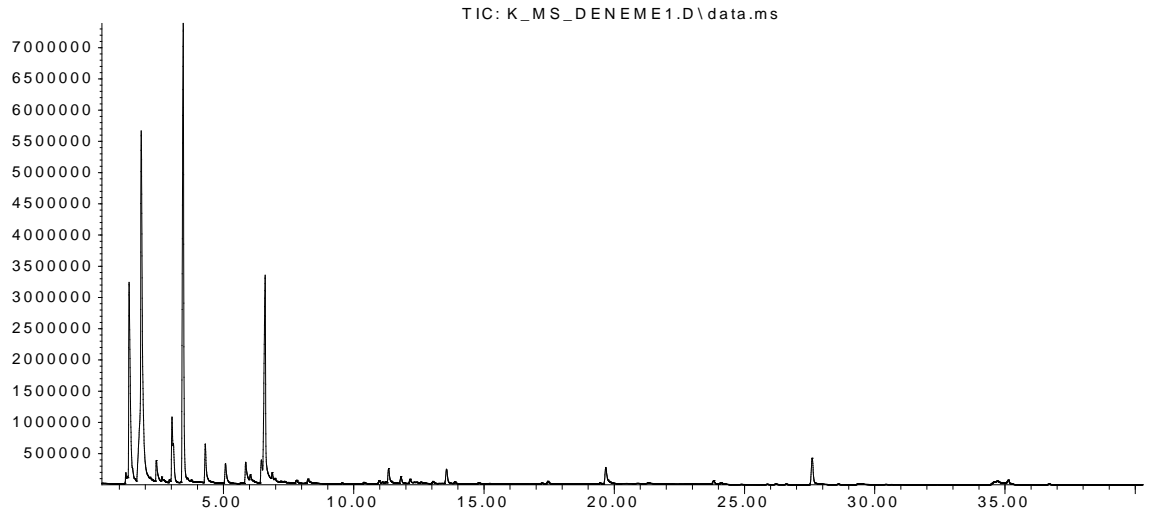
Abundance



Time-->

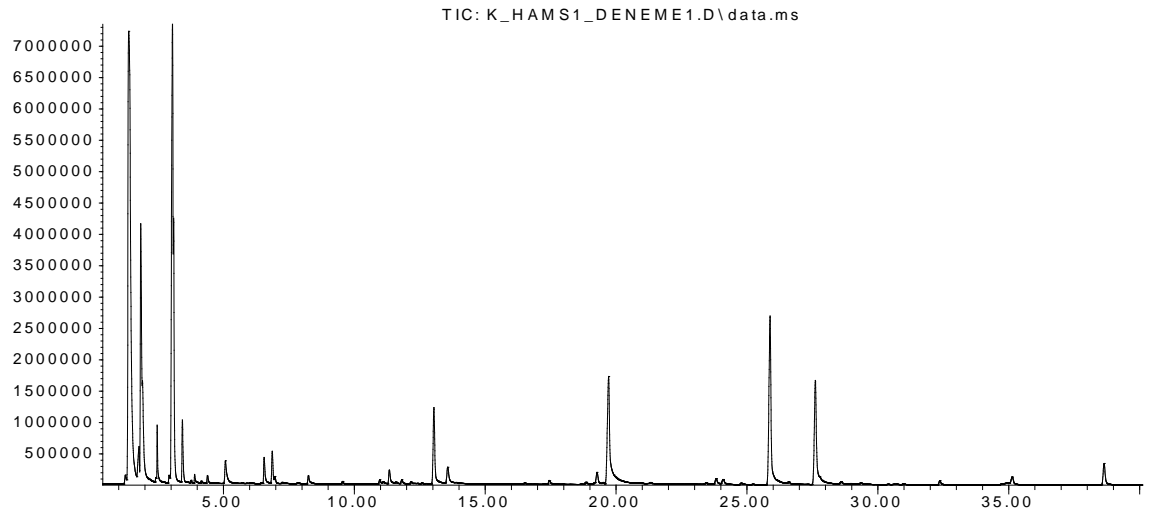
EK 9.1. Maserasyondan önce şıranın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (KL)

Abundance



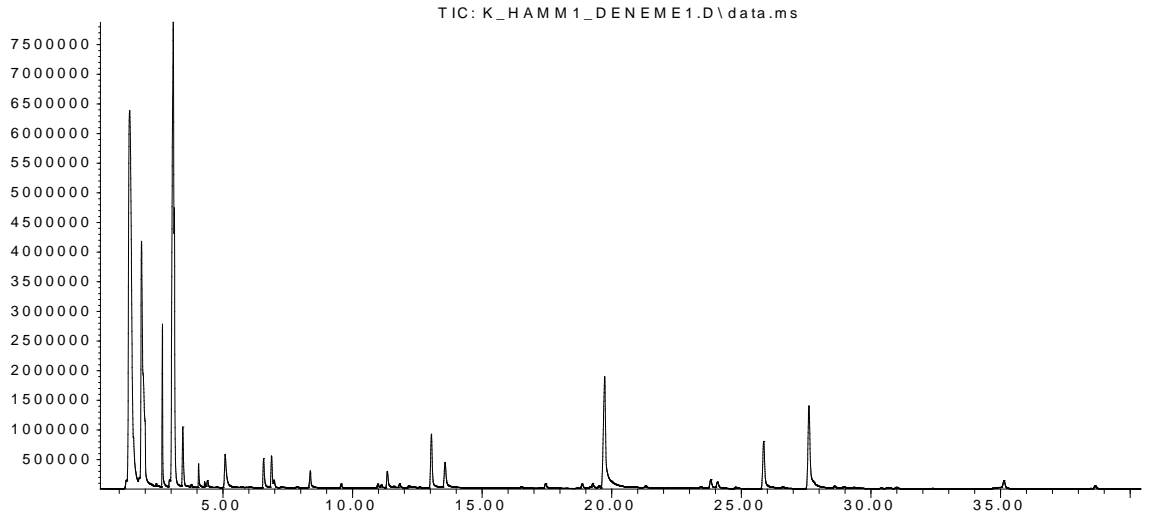
EK 9.2. Maserasyon sonrasında şıranın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (KL)

Abundance



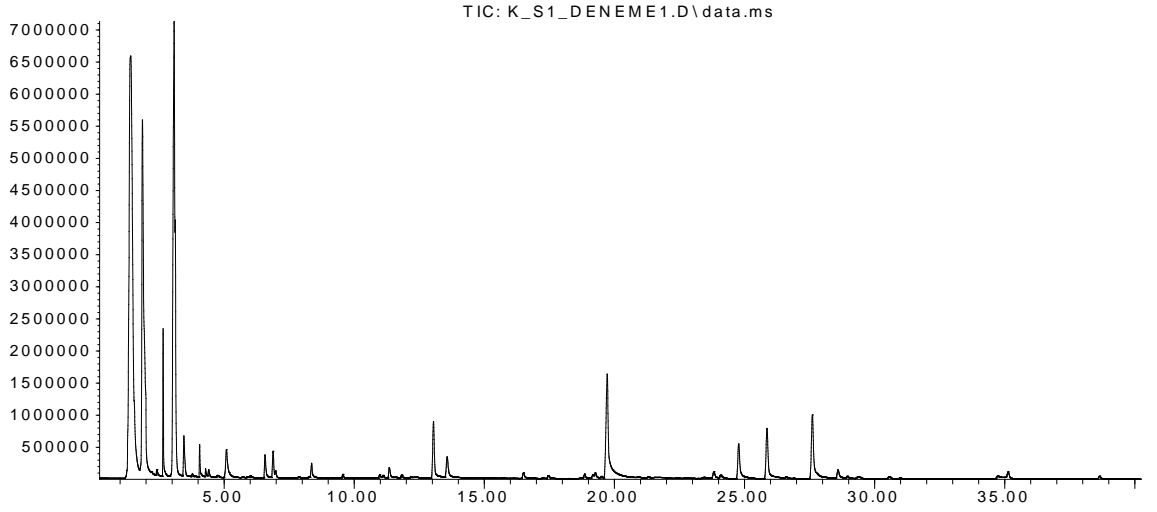
EK 9.3. Spontan fermentasyon ile üretilen ham şarabın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (KL)

Abundance



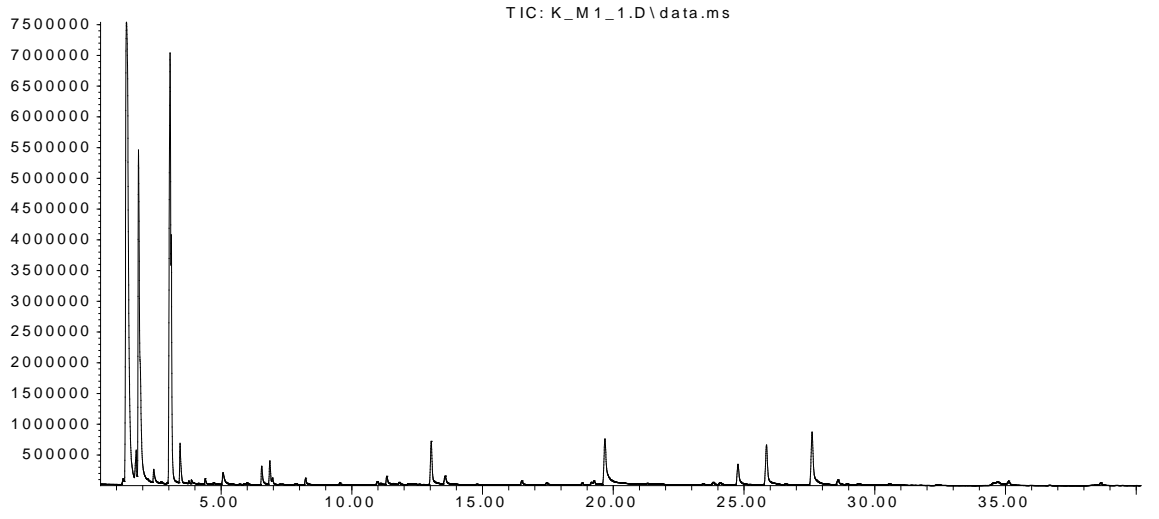
EK 9.4. Ticari maya inokülasyonu ile üretilen ham şarabın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (KL)

Abundance



EK 9.5. Spontan fermentasyon ile üretilen genç şarabın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (KL)

Abundance



EK 9.6. Ticari maya inokülasyonu ile üretilen genç şarabın uçucu bileşenlerine ait GC-MS kromatogramı (KL)

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. AYŞEGÜL KIRCA TOKLUCU
Proje No:	114O431
Proje Başlığı:	Spontan ve Saf Maya Fermentasyonunun Karalahna ve Cabernet Sauvignon Üzümlerinden Elde Edilen Şarabın Uçucu Bileşik, Fenolik Madde ve Antosiyenin Üzerine Etkisi ve Spontan Fermentasyonda Rol Alan Mayaların Tanımlanması
Proje Türü:	1001 - Araştırma
Proje Süresi:	20
Araştırmacılar:	MUSTAFA AY, SİNE ÖZMEN TOĞAY, ASLI BAYHAN, YONCA YÜCEER
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ÇANAKKALE ONSEKİZ MART Ü. MÜHENDİSLİK-MİMARLIK F. GIDA MÜHENDİSLİĞİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/12/2014 - 01/08/2016
Onaylanan Bütçe:	197700.0
Harcanan Bütçe:	171240.69
Öz:	<p>Bu çalışmanın amacı, spontan ve ticari maya fermentasyon tekniklerinin Cabernet Sauvignon (CS) ve Karalahna (KL) üzümlerinden elde edilen kırmızı şarapların antosiyenin, fenolikleri, uçucu bileşenleri ve duyuşal profilleri üzerine etkilerini belirlemek ve spontan fermentasyondan sorumlu mayaları izole ederek moleküler düzeyde tanımlamaktır. Antosiyenin ve fenoliklerin dağılımı ve konsantrasyonları HPLC-PDA ile belirlenmiş, uçucu bileşenler ise GC-MS ile tanımlanarak miktarları hesaplanmıştır.</p> <p>CS ve KL genç şaraplarının TMA miktarları malvidin-3-glukozit (Mv-3-Glu) cinsinden sırasıyla 96-70 mg/L ve 48-53 mg/L aralığındadır. Spontan fermentasyon tekniği, CS şaraplarında daha yüksek TMA içeriğini sağlamıştır. CS ve KL genç şaraplarının toplam fenolik madde (TP) miktarları gallik asit cinsinden sırasıyla 1776-1553 mg/L ve 2358-3052 mg/L aralığında saptanmıştır. Mv-3-Glu, tüm şarap örneklerinde baskın antosiyenin olarak bulunmuştur. Genç şarap örneklerinde belirlenen fenolikler arasında gallik asit ve (+) kateşin en yüksek miktarlara sahiptir. CS genç şaraplarında gallik asit ve (+) kateşin miktarları spontan fermentasyonda önemli derecede yüksek olup, sırasıyla 60,8 ve 62,5 mg/L konsantrasyona sahiptir. KL genç şaraplarının gallik asit ve (+) kateşin miktarları ise ticari maya fermentasyonunda daha yüksektir (sırasıyla 213,6 ve 179,7 mg/L).</p> <p>CS şaraplarında 38 (17 alkol, 17 ester ve 4 diğer), KL şarap örneklerinde ise 29 (9 alkol, 18 ester ve 2 diğer) adet uçucu bileşen belirlenmiştir. CS genç şaraplarında yüksek alkoller ticari maya fermentasyonunda daha yüksek iken, esterlerin miktarı ise spontan fermentasyon tekniğinde daha fazladır. Aynı şekilde KL şaraplarında da ester miktarı spontan fermentasyon ile elde edilen şaraplarda ön plana çıkmaktadır. Duyuşal yönden değerlendirilen örnekler arasında spontan fermentasyon ile üretilen şaraplar iki çeşit için de genel olarak kırmızı meyvemsi aroma yönünden yüksek skorlar almıştır.</p> <p>Spontan maya fermentasyonu ile KL üzümünden elde edilen şarapların maya tür çeşitliliği (Candida albicans, Zygosaccharomyces bisporus, Dekkera anomala ve Issatchenkia terricola) yönüyle CS (Dekkera anomala, Candida albicans, Candida apicola) uzumlerinden elde edilen şaraplara göre daha zengin bir floraya sahip olduğu, fermentasyonun sonunda her iki üzüm çeşidinde de baskın olan maya türlerinin birbirine benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.</p>
Anahtar Kelimeler:	Şarap, spontan fermentasyon, maya, uçucu bileşen, antosiyenin, fenolik
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır

Proje Yapılan Yayınlar:	<p>1- Anthocyanin and Phenolic Profile of Red Wines Obtained from Karalahna Grapes, A Native Grape Variety of Bozcaada (Tenedos), Turkey. (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>2- Effect of Spontaneous and Inoculated Fermentations on Anthocyanins and Phenolics of Cabernet Sauvignon Wines (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>3- Ticari Maya Kullanımının Karalahna Üzümlerinden Üretilen Kırmızı Şarapların Uçucu Bileşen ve Duyusal Karakteristiği Üzerine Etkisi (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>4- Spontan ve Saf Maya Fermentasyon Tekniklerinin Cabernet Sauvignon Üzümlerinden Elde Edilen Kırmızı Şarapların Karakteristik Özellikleri Üzerine Etkileri. (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>5- Spontan ve Saf Maya Fermentasyonlarının Cabernet Sauvignon Üzümlerinden Elde Edilen Kırmızı Şarapların Karakteristik Özelliklerine Etkileri (Tez (Araştırmacı Yetiştirilmesi) - Yüksek Lisans Tezi),</p> <p>6- Ticari Maya Kullanımının Karalahna Üzümlerinden Üretilen Kırmızı Şarapların Karakteristik Özellikleri Üzerine Etkisi (Tez (Araştırmacı Yetiştirilmesi) - Yüksek Lisans Tezi),</p>
-------------------------	--

TÜBİTAK