

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ebru ARSLAN**

**NARİNCE ÜZÜMÜNDEN İZOLE EDİLEN ENDOJEN  
*Saccharomyces* ve *Non-Saccharomyces* MAYALARIN KARIŞIK  
ve SAF KÜLTÜRLERİNİN BEYAZ ŞARAP AROMASI  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ADANA-2018**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NARİNCE ÜZÜMÜNDEN İZOLE EDİLEN ENDOJEN *Saccharomyces* ve  
Non-*Saccharomyces* MAYALARIN KARIŞIK ve SAF KÜLTÜRLERİNİN  
BEYAZ ŞARAP AROMASI ÜZERİNE ETKİSİ**

**Ebru ARSLAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu Tez .././2018 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....  
Prof. Dr.Turgut CABAROĞLU  
DANIŞMAN

.....  
Prof.Dr. Hüseyin ERTEN  
ÜYE

.....  
Prof.Dr. Haşim KELEBEK  
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

**Kod No:**

**Prof. Dr. Mustafa GÖK  
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.**

**Proje No: FYL-2016-6851**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NARİNCE ÜZÜMÜNDEN İZOLE EDİLEN ENDOJEN *Saccharomyces* ve *Non-Saccharomyces* MAYALARIN KARIŞIK ve SAF KÜLTÜRLERİNİN BEYAZ ŞARAP AROMASI ÜZERİNE ETKİSİ

Ebru ARSLAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU  
: Yıl:2018, Sayfa: 63  
Jüri : Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU  
: Prof. Dr. Hüseyin ERTEN  
: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

Bu çalışmada Narince üzümünün spontan fermantasyonu sırasında izole edilen endojen saf *S. cerevisiae*-1088 (Sc-1088), *T. delbrueckii*-214 (Td-214) ve bunların karışık kültür (K.k.) kullanılarak Narince şarapları üretilmiş ve üretimde kullanılan bu şuşların, şarapların genel ve aroma bileşimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Şarapların aroma maddelerinin ekstraksiyonu sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile, tanımlanması ve miktarının tespiti ise GC-MS-FID tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Şarapların duyuşal özellikleri Tanımlayıcı Duyusal Analiz ile belirlenmiştir. *S. cerevisiae*-1088, *T. delbrueckii*-214 ve bunların karışık kültür kullanılarak üretilen Narince şaraplarında 49 adet aroma bileşimi tanımlanmıştır, bunların miktarları sırası ile 203 mg/L, 187 mg/L, 229 mg/L belirlenmiştir. Saf *S. cerevisiae*-1088 suşu esterleri, uçucu asitleri ve laktonları, *T. delbrueckii*-214 kültürüne göre daha yüksek miktarda oluştururken, uçucu fenoller ve karbonil bileşiklerini daha düşük miktarda oluşturmuştur. *T. delbrueckii*-214 suşu, alkol fermantasyonunu tamamlayamamış, düşük miktarda etanol ve yüksek miktarda gliserol ve uçar asit üretmiştir. Duyusal analize göre, tropik meyve, narenciye ve bal kokuları Sc-1088 ve karışık kültür şarabının karakterini, pişmiş meyve ve elma kokuları ise Td-214 şarabının karakterini oluşturmuştur. Karışık kültür şarabı diğer şaraplara kıyasla daha gövdeli, canlı ve damakta uzun/kalıcı bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Narince Üzümü, endojen maya, beyaz şarap, aroma maddeleri

## ABSTRACT

### MSc THESIS

**EFFECTS of PURE AND MIXED CULTURES of ENDOGENOUS  
*Saccharomyces* and Non-*Saccharomyces* YEASTS ISOLATED FROM  
NARINCE GRAPES on WHITE WINE AROMA**

**Ebru ARSLAN**

**CUKUROVA UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING**

Supervisor : Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU  
: Year: 2018, Pages : 63  
Jury : Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU  
: Prof. Dr. Hüseyin ERTEN  
: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

In this study, Narince wines were produced with endogenous pure *S. cerevisiae*-1088 (Sc-1088), *T. delbrueckii*-214 (Td-214) and mixed culture (K.k.) isolated from spontaneous fermentations of Narince grapes, and effect of cultures that is used in fermentations on general and aroma compositions of the wines were investigated. Extraction of aroma compounds of the wines were carried out by liquid-liquid extraction method and identification and quantification by GC-MS-FID technique. The sensory evaluations of the wine were determined by the Descriptive Analysis. Total of 49 aroma compounds were identified in Narince wines produce with *S. cerevisiae*-1088, *T. delbrueckii*-214 and mixed cultures, their amount were 203 mg/L, 187 mg/L, 229 mg/L, respectively. In pure culture, *S. cerevisiae*-1088 strain produced higher amounts of esters, volatile acids and lactones while produced lower amounts of volatile phenols and carbonyl compounds than *T. delbrueckii*-214 strain. The presence of Td-214 yeast slowed down the fermentation and produced lower level of ethanol, higher level of glycerol and volatile acid. According to sensory evaluations, tropical fruit, citrus and honey odours were characteristic of Sc-1088 and mixed culture wines while cooked fruit and apple odours were the characteristic of Td-214 wine. The mixed culture wines was described by heavy body, more acidic and persistence in mouthfeel than compared the other wines.

**Key Words:** Narince grape, endogenous yeast, white wine, aroma compounds

## GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bu çalışmada Tokat bölgesi Narince üzümünden yöreye özgü endojen *S. cerevisiae*-1088 ve *T. Delbrueckii*-214 maya suşu saf ve karışık kültürde kullanılarak beyaz şarap üretilmiş, bu şarapların genel bileşimleri ve aroma maddeleri belirlenmiş, kullanılan farklı suşların şarapların kalitesi üzerine etkisi kapsamlı olarak araştırılmıştır.

Denemeler Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü pilot şarap işletmesinde gerçekleştirilmiştir. Üzüm ezme ve patlatma işleminden sonra elde edilen şıra 10 °C' de 24 saat durultmaya bırakılmıştır. Tortu ayırma işleminden sonra şıralara maya ilavesi yapılmıştır.

Maya suşları aşılama için önce steril üzüm şırası içinde ayrı ayrı çoğaltılmıştır. Erlenlerdeki şıra 105 °C' de 5 dak. sterilize edilip, soğutulmuştur. Bundan sonra katı besi yeri üzerinde çoğaltılan mayalardan bir, iki koloni aşılama orbital karıştırıcıya yerleştirilmiş ve 160 devir/dak.'da 25 °C'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İki günlük inkübasyon sonunda mayalar, steril tüpler içersinde santrifüjden geçirilmiş ve steril su ile yıkanmıştır. Thoma lamı ile mikroskop altında sayımı yapıldıktan sonra fermantasyon ortamına  $5 \times 10^6$  hücre/ml maya olacak şekilde aşılama yapılmıştır (Erten, 2002; Zöhre ve Erten, 2002).

Denemeler 20 litrelik damacanalarda gerçekleştirilmiştir ve fermantasyon sıcaklığı 18 °C olarak ayarlanmıştır. Alkol fermantasyonunun sonunda aktarma ve olgunlaştırma işlemleri yapıp şişelenmiştir. Elde edilen şaraplar kimyasal ve duyuusal analizleri yapılmaya kadar 10-15 °C'de mahzende tutulmuştur. Denemeler uygulanan maya suşuna göre *Saccharomyces cerevisiae*-1088: Sc-1088 ; *Torulospira delbrueckii* 214: Td-214 ve Karışık kültür (Sc -1088 X Td-214): K.k. şeklinde kodlanmıştır.

Şırada yoğunluk, pH, toplam asit, suda çözünür kurumadde (SÇKM), esmerleşme indisi, indirgen şeker analizleri yapılmıştır. Şaraplarda ise pH, alkol

taini, yoğunluk, toplam asit, uçar asit, toplam ve serbest kükürt dioksit, ve renk analizleri yapılmıştır.

Şıra ve şaraplarda şeker ve organik asit analizleri HPLC ile, renk maddeleri Hunter-Lab renk cihazı ile, aroma maddeleri GC-MS/FID ile, duyuşal özellikler ise duyuşal analiz ile belirlenmiştir.

Narince üzümünün suda çözünür kurumadde miktarı 20.4 °Briks, toplam asit miktarı 5.44 g/L (tartarik asit cinsinden) ve pH değeri 3.60 bulunmuştur. Şıradaki indirgen şeker miktarı 190 g/L olarak bulunmuştur.

Sc-1088 şarabının alkol miktarı hacmen % 11.6 pH'sı 3.66, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 6,05 g/L ve uçar asit miktarı asetik asit cinsinden 0.40 g/L, indirgen şeker miktarı 3.82 g/L olarak belirlenmiştir. Td-214 şarabının alkol miktarı hacmen % 10.12, pH'sı 3.68, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 7,04 g/L ve uçar asit miktarı asetik asit cinsinden 0.58 g/L, indirgen şeker miktarı 22.31 g/L olarak belirlenmiştir. Karışık kültür şarabının alkol miktarı hacmen %11.48, pH'sı 3.71, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 6.56 g/L ve uçar asit miktarı ise asetik asit cinsinden 0.43 g/L, indirgen şeker miktarı 4.80 g/L olarak belirlenmiştir.

Narince şaraplarında 51 adet aroma maddesi tanımlanmıştır. Sc-1088, Td-214 ve karışık kültür şaraplarında 49'ar adet bileşik tanımlanmış, miktarları sırası ile 203 mg/L, 187 mg/L ve 229 mg/L bulunmuştur. Her üç şarapta da 13 adet yüksek alkol, 11 adet uçucu asit, 3 adet lakton, 2 adet uçucu fenol, 4 adet altı karbonlu bileşik, 1 adet karbonil bileşiğı, Sc-1088 ve karışık kültür şarabında 15 adet ester, 214 şarabında 14 adet ester bileşiğı ve 1 adet kükürtlü bileşik tanımlanmıştır. Bu uçucu bileşiklerden yüksek alkoller, esterler ve uçucu asitler miktar olarak en fazla bulunan grup olmuştur.

Duyuşal değerlendirme sonuçlarına göre tropik meyve, narenciye ve bal kokuları Sc-1088 ve karışık kültür şarabında daha baskın olduğı belirlenmiştir. Pişmiş meyve ve elma kokuları ise Td-214 şarabının karakterini oluşturmuştur.

Karışık kültür şarabı diğer şaraplarla kıyaslandığında daha gövdeli, canlı ve damakta uzun/kalıcı olduğundan panelistler tarafından daha çok tercih edilmiştir.

Endojen maya kullanımı yöreye özgü üzüm çeşitlerinin karakteristik özelliklerine katkı sağlamakta ve kökeni kontrollü şarapların üretiminde önerilmektedir. Non-*Saccharomyces* maya suşları ise şarabın aroma karakterine zenginlik kazandırmaktadır. Narince şarabı ülkemizin kalite beyaz şarap veren önemli çeşitlerinden birisidir. Sonuç olarak, endojen *S. cerevisiae*-1088 X *T. delbrueckii* karışık kültürünün veya *S. cerevisiae*-1088 saf kültürünün Tokat yöresinde Narince üzümünden köken kontrollü kalite şarap üretiminde kullanılmasını öneriyoruz. Daha güvenilir sonuçlar almak için de aynı suşlarla benzer çalışmaların tekrarlanmasında yarar vardır.





## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU'na, jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren ve önerilerini sunmaktan kaçınmayan sayın hocalarım Prof. Dr. Hüseyin ERTEN ve Prof.Dr. Haşım KELEBEK'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Üzüm numunelerimi sağlayan Kavaklıdere Şarap İşletmesine, yüksek lisans eğitimim boyunca şarap üretimi, analizi ve tez yazım konusundaki bilgi ve tecrübelerini benimle içtenlikle paylaşan, her konuda desteğini aldığım Dr. Zeynep Dilan ÇELİK'e sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamın analizlerinde yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Ar. Gör. Dr. Merve DARICI ve Serap DURAN'a teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim ve tez yazımı boyunca bana destek olan, sürekli moral ve motivasyon sağlayan değerli arkadaşlarım Hilal MERAL, Tuğçe ÖZTEKİN ve Öğr. Gör. Müge CANATAR'a çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi, manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan ve bu dönemde tüm zorluklara rağmen desteklerini esirgemeyen başta annem olmak üzere aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ .....	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET .....	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER .....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	5
2.1. Endojen Maya Üzerine Yapılan Çalışmalar .....	5
2.2. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>T. delbrueckii</i> Kullanılarak Yapılan Çalışmalar .....	11
3. MATERYAL VE METOT .....	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Metot.....	16
3.2.1. Üzümlerin Şaraba İşlenmesi .....	16
3.2.2. Şıra ve Şaraplarda Yapılan Analizler .....	19
3.2.2.1. Genel Analizler.....	19
3.2.2.1.(1). Suda Çözünür Kurumadde Tayini .....	20
3.2.2.1.(2). Toplam Asit Tayini.....	20
3.2.2.1.(3). Yoğunluk Tayini.....	20
3.2.2.1.(4). pH Tayini.....	20
3.2.2.1.(5). Alkol Tayini.....	20
3.2.2.1.(6). Uçar Asit Tayini .....	20
3.2.2.1.(7). İndirgen Şeker Tayini .....	21
3.2.2.1.(8). Kükürt Dioksit Tayini.....	21

3.2.2.1.(9). HPLC ile Şeker ve Organik Asitlerin Analizi.....	21
3.2.2.1.(10). Renk Değerleri Ölçümü.....	22
3.2.2.2. Aroma Maddelerinin Analizi.....	22
3.2.2.3. Duyusal Analiz.....	26
3.2.2.4. İstatistiksel analizler.....	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	29
4.1. Alkol Fermantasyonu ve Maya Popülasyonu.....	29
4.2. Şıra ve Şarapların Genel Bileşimi.....	30
4.2.1. Narince Şırasının Bileşimi.....	30
4.2.2. Narince Şaraplarının Genel Bileşimi.....	32
4.2.3 Narince Şaraplarının Aroma Maddeleri Bileşimi.....	35
4.2.3.1 Yüksek Alkoller.....	37
4.2.3.2 Esterler.....	40
4.2.3.3 Uçucu Asitler.....	42
4.2.3.4. Laktonlar.....	44
4.2.3.5. Uçucu Fenoller.....	46
4.2.2.6. 6C'lu Bileşikler.....	47
4.2.3.7. Narince Şaraplarında Tanımlanan Diğer Bileşikler.....	48
4.2.4. Narince Şaraplarının Duyusal Özellikleri.....	48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	63

## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

Çizelge 4.1. Narince Şirasının Bileşimi.....	31
Çizelge 4.2. Maya suşunun Narince Şaraplarının Genel Bileşimi Üzerine Etkisi.....	32
Çizelge 4.3 Narince Şaraplarında Belirlenen Toplam Aroma Maddeleri.....	36
Çizelge 4.4. Maya suşunun Narince Şaraplarının Yüksek Alkoller Üzerine Etkisi .....	38
Çizelge 4.5. Maya suşunun Narince Şaraplarının Ester Bileşikleri Üzerine Etkisi .....	41
Çizelge 4.6. Maya suşunun Narince Şaraplarının Uçucu Asitleri Üzerine Etkisi.....	43
Çizelge 4.7. Maya suşunun Narince Şaraplarının Laktonları Üzerine Etkisi.....	45
Çizelge 4.8. Maya suşunun Narince Şaraplarının Uçucu Fenoller Üzerine Etkisi .....	46
Çizelge 4.9. Maya suşunun Narince Şaraplarının 6C'lu Bileşikleri Üzerine Etkisi .....	47



ŞEKİLLER DİZİNİ	SAYFA
Şekil 3.1. Narince Üzüümü .....	15
Şekil 3.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	16
Şekil 3.3. <i>Torulaspota delbrueckii</i> .....	16
Şekil 3.4. Narince Şarabı Üretim Aşamaları .....	18
Şekil 3.5. Fermantasyon denemesi .....	19
Şekil 3.6. Aroma Maddelerinin Ekstraksiyonu .....	23
Şekil 3.7. Vigreux Konsantrasyon Düzeneği .....	23
Şekil 3.8. Analizlerde Kullanılan GC-MS Cihazı .....	24
Şekil 3.9. Duyusal Analiz Formu .....	27
Şekil 4.1. Fermantasyon süresince yoğunluk değişimi .....	29
Şekil 4.2. Fermantasyon süresince maya popülasyonu değişimi. ....	30
Şekil 4.3. Maya şuşunun Narince Şaraplarının Koku Profili Üzerine etkisi .....	49
Şekil 4.4. Maya Şuşunun Narince Şaraplarının Lezzet Profili Üzerine Etkisi .....	50



## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
°C	: Derece Celsius
6C'lu Bileşik	: 6 Karbonlu Bileşik
dk	: Dakika
g	: Gram
GC	: Gaz Kromatografisi
GC-FID	: Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Kg	: Kilogram
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
NaOH	: Sodyum Hidroksit
µg	: Mikrogram
<i>S. cerevisiae</i>	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>T. delbrueckii</i>	: <i>Torulospira delbrueckii</i>
Sc-1088	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -1088
Td-214	: <i>Torulospira delbrueckii</i> -214
K.k.	:Karışık kültür





## 1. GİRİŞ

Türk Gıda Kodeksi Şarap Tebliği'ne göre şarap, parçalanmış veya parçalanmamış yaş üzüm şirasının, kısmen veya tamamen alkol fermantasyonu ile elde edilen, coğrafi işaret ya da köken ismi tescili yapılmış ya da yapılmamış bir üründür (Anon, 2009). Üzüm çeşidi, çevresel faktörler (iklim ve toprak), fermantasyon koşulları (maya florası, pH ve sıcaklık), şarap yapımındaki teknolojik işlemler ve şarabın olgunlaşma koşulları şarap bileşimini etkileyen temel faktörlerdir (Canbaş ve Cabaroğlu, 2000).

Alkol fermantasyonunda rol oynayan mayalar ve fermantasyon koşulları şarabın bileşimi üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir. Şarap üretiminde pastörizasyon işlemi uygulanmadığından üzümlerin doğal maya florası, koşullara bağlı olarak alkol fermantasyonu üzerinde etkili olmakta ve bu etki şarabın bileşimine de yansımaktadır (Ribéreau-Gayon ve ark., 2000).

Şarap mayaları, üzümden, şıradan ve şaraptan izole edilen endojen mayalar arasından seçilen kültür mayalarıdır (Nurgel, 2000). Şarap mayalarında istenilen özellikler şöyle sıralanabilir:

- Fermantasyon derecesi yüksek olmalı,
- Yüksek ve düşük ısıya dayanıklı olmalı,
- Kuvvetli kükürttenmiş şıradan çalışabilmeli, yüksek alkole dayanıklı olmalı,
- Yüksek şeker konsantrasyonuna dayanıklı olmalı
- Az köpük oluşturmali,
- Dibe kolay çökmeli, çevre koşullarına dayanıklı olmalı,
- Şarapta özel tat ve aroma maddeleri oluşturabilmeli,
- Şarapta arzulanmayan fermantasyon yan ürünlerini az oluşturmali (Özçelik ve Denli, 1999).
- Malik asidi indirgeyebilmeli

- $\beta$ -glükozidaz aktivitesi içermeli
- Gliserol oluşturmali
- Killer özellik (Nurgel, ve ark., 2006) göstermelidir.

Şarap fermantasyonu boyunca *Saccharomyces* dışındaki maya türlerinin gelişimi fermantasyonun ilk üç günü ile sınırlı olup, sonra sayıları azalır. Asıl şarap mayası olan *S. cerevisiae* ortama hakim olur ve fermantasyonu tamamlar. *S. cerevisiae* türleri yüksek miktarda etil alkol üreterek, *Saccharomyces* dışındaki mayaların gelişimini inhibe etmekte ve sıra fermantasyonu boyunca baskın hale gelmektedirler (Bağder, 2008). Düşük fermantasyon gücüne sahip olan *Saccharomyces* dışındaki mayalar, fermantasyonun başlangıç aşamalarında ikincil metabolitler üreterek, şarap aromasını geliştirmektedirler. *Saccharomyces* dışındaki mayalar enolojik koşullarda rekabet edemediklerinden, şarap üretiminde yüksek fermantasyon gücüne sahip *S. cerevisiae* ile birlikte karışık starter kültür olarak kullanılabilirler (Bağder ve Özçelik, 2009).

Etanole duyarlılıkları nedeni ile *Saccharomyces* cinsi dışındaki şarap maya suşlarının, şarap üretiminde fermantasyonun tamamlanmasını sağlamak için sadece *S. cerevisiae* gibi etanole toleranslı suşlarla birlikte starter kültür olarak kullanılacakları belirtilmektedir. Bu amaçla, üzüm suyuna maya aşılmasının *Saccharomyces* cinsi dışındaki mayalar ile kuvvetli *S. cerevisiae* şarap suşunun karışık kültürleriyle yapılabileceği ifade edilmektedir. Bir başka yöntemde ise; mayaların ortama sıralı olarak aşılmasını önerilmektedir. Bu amaçla; ortama önce *Saccharomyces* cinsi dışındaki maya suşunun aşılabilmesi, bunu takiben *S. cerevisiae* suşu ile aşılmanın gerçekleştirilebileceği ifade edilmektedir (Ergül ve Özbaş, 2009).

*Saccharomyces cerevisiae* alkol fermantasyonundan sorumlu asıl maya türü olup, şarap fermantasyonunda non-*Saccharomyces* maya türlerinin de yer alması, şarap aromasına katkıda bulunan ikincil metabolitlerin oluşumu açısından

önem taşımaktadır (Esteve-Zarzosa ve ark., 1998). Non-*Saccharomyces* mayalar esterazlar, glikozidazlar, lipazlar,  $\beta$ -glukozidazlar, proteazlar, selulazlar gibi çeşitli enzimler üretmektedirler. Bu enzimler, üzüm öncül bileşikleri ile reaksiyona girerek aktif aroma bileşikleri üzerine rol oynamaktadırlar (Bağder ve ark., 2009). Non- *Saccharomyces* cinsi endojen şarap mayalarının genellikle yüksek derişimde esterler, yüksek alkoller, aldehitler ve gliserin gibi şarabın duysal profilini belirleyen bileşikler ürettikleri bilinmektedir. Bu tür bileşiklerin üretimlerinin farklı maya türlerine göre değiştikleri ifade edilmektedir (Ergül ve ark., 2009). Şimdiye kadar *Candida*, *Kloeckera*, *Hanseniaspora*, *Zygosaccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspora*, *Brettanomyces*, *Saccharomycodes*, *Pichia* ve *Williopsis* cinslerinden olan türler şarap üretimi için araştırılmıştır (Jolly ve ark., 2006).

*Saccharomyces* dışındaki mayalar, aroma oluşumunda önemli rolü olan  $\beta$ -glikozidaz enzimlerini üretmeleri nedeniyle, şarap üretiminde büyük önem taşımaktadırlar. Ayrıca; bu şarap mayaları, şarabın karakteristik meyvemsi aromasını oluşturan esterlerin iyi birer üreticisi olarak kabul edilmektedirler (Bağder ve ark., 2009).

Aroma şaraplarda kaliteyi ve karakteristik özelliği belirleyen en önemli faktörlerden biridir (Cabaroğlu, 2003). Bugüne kadar şaraplarda 1000' den fazla aroma bileşiği belirlenmiştir. Şarapta bulunan aroma maddelerini kaynaklarına göre 4 grup altında toplamak mümkündür. Bunlar: üzümde kaynaklanan aroma maddeleri (çeşit aroması), üzümün işlenmesi sırasında uygulanan teknolojik işlemlerden kaynaklanan aroma maddeleri (fermantasyon öncesi aroma), fermentasyon sırasında oluşan aroma maddeleri (alkol ve malolaktik fermentasyon aroması) ve şarabın olgunlaşması sırasında oluşan aroma maddeleri (olgunluk aroması)' dir (Ribéreau-Gayon ve ark., 2000; Canbaş ve Cabaroğlu, 2000). Mayalar tarafından alkol fermentasyonu sırasında oluşturulan aroma maddeleri, özellikle esterler şarabın duysal kalitesi üzerinde önemli rol oynamaktadır.

Son yıllarda özellikle İspanya ve İtalya gibi ülkelerde fermantasyonu kontrol altına almak ve kaliteyi iyileştirmek amacı ile kendi şarap bölgelerinden izole edilmiş ve seçilmiş maya kültürleri kullanılmaya başlanmıştır. Endojen mayaların izole edildikleri ortama, herhangi bir ticari mayadan daha iyi uyum sağladıkları ve bu nedenle ortama daha hızlı hakim oldukları düşünülmektedir. Ayrıca endojen mayalardan elde edilen şaraplar üretildiği yörenin özelliklerini ve pozitif karakteristik özelliklerini göstermektedirler (Nurgel, 2000; Teixeira, 2014).

Narince üzümü Tokat ve Nevşehir bölgesinde yetişen Türkiye'nin önemli beyaz şaraplık üzüm çeşididir. Narineden elde edilen şaraplar zengin ve dengeli bir yapıya sahip olup, yıllandırılmaya müsaittirler. Narince üzümünden endojen maya kullanılarak Narince şarabının üretilmesi üzerine çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı, Narince üzümünden elde edilen endojen *Saccharomyces cerevisiae-1088* ve non-*Saccharomyces* (*Torulopora delbrueckii* 214) mayalarının saf ve karışık kültür (*S. cerevisiae-1088* X *T. delbrueckii-214*) fermantasyonlarının şarabın aroma maddeleri ve duyuşsal özellikleri üzerine etkisini belirlemektir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Endojen Maya Üzerine Yapılan Çalışmalar

Şarap teknolojisinde alkol fermantasyonu spontan olarak ya da saf maya kullanılarak gerçekleştirilir. Spontan olarak yürütülen fermantasyonda şıra ve üzümde bulunan doğal maya florası etkili olur. Saf maya kullanımında ise ortama özellikleri bilinen seçilmiş kültür mayası eklenir ve fermantasyonun bu maya tarafından gerçekleştirilmesi sağlanır. Saf maya kullanıldığında şırada fermantasyonun daha çabuk başladığı, daha kısa sürede tamamlandığı ve elde edilen şarapların da duyuşsal özellikler ve genel bileşim bakımından farklı buldukları bildirilmektedir. Beyaz şarabın kalitesini büyük ölçüde fermantasyon sırasında şarapta oluşan aroma maddeleri belirlemektedir. Bu maddelerin oluşumunda fermantasyonu yürüten maya suşu ve fermantasyon sıcaklığı etkilidir. Yüksek alkoller, esterler, karbonil bileşikler ve uçucu fenoller, fermantasyon sonucunda oluşan başlıca aroma maddeleridir (Cabaroğlu ve ark., 1999).

Tek bir maya suşunun istenen tüm enolojik karakteristikleri birlikte buldurması mümkün olmayabilmektedir. *S. cerevisiae* suşları tek başlarına starter kültür olarak kullanıldıklarında, alışlagelmiş aroma özelliklerine sahip şarapların üretilebildikleri belirtilmektedir. Bu nedenle şarap mayalarının seçilmeleri sırasında, enolojik olmayan ortamlardan izole edilen *S. cerevisiae* suşları veya *Saccharomyces* cinsi içerisinde yer almayan mayaları da kapsayacak şekilde çeşitli çalışmalar yapıldığı gözlenmektedir. Ancak bu mayaların tek başlarına starter kültür olarak kullanılmaları, kuvvetli bir fermantasyon gerçekleştiremeyecekleri için tavsiye edilmemektedir. Bunun yerine, karışık endojen kültürlerin kullanılması, istenen özelliklere sahip şarap üretimi için tercih edilmektedir (Ergül ve ark., 2009).

Zohre ve Erten (2002), üzüm sırasında, *Kloeckera apiculata*, *Candida pulcherrima* ve *Saccharomyces cerevisiae* mayalarının saf ve karışık kültürlerinin davranışları incelemişlerdir. Karışık kültürde non-*Saccharomyces* mayalarının

çoğaldığı ve ortamda daha uzun süre kaldığı, *Sachharomyces* mayalarının ise fermantasyona hakim olduğunu belirlemişlerdir. Elde edilen bulgulara göre, karışık ve saf kültürlerde en fazla etil alkolü *S. cerevisiae* mayaları üretmiştir ve saf kültürler ile yapılan fermantasyonda, *K. Apiculata* ve *C. pulcherrima* mayaları, düşük etil alkol, yüksek indirgen şeker ve yüksek miktarda etil asetat üretmişlerdir. Karışık kültürle yapılan fermantasyonda ki etil asetat konsantrasyonu, *S. cerevisia* saf kültürü ile yapılanına göre daha fazla bulunmuştur.

Clemente-Jimenez ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada 'Valle del Andrax' (İspanya) bölgesinde, altı farklı üzüm çeşidine ait şıralar ile gerçekleştirilen spontan fermantasyon sırasında maya popülasyonunu araştırmışlardır. Bu çalışmada PCR-RFLP yöntemiyle *Candida*, *Hanseniaspora*, *Issatchenkia*, *Metschnikowia*, *Pichia* ve *Saccharomyces* türlerine ait mayaları tanımlamışlar, mayaların fermantasyon yeteneklerini ve oluşan şarapların aroma profilini belirlemişlerdir. Yapılan analizler sonucunda en iyi yüksek alkol profili *Saccharomyces cerevisiae* mayası tarafından elde edilmiştir ve bunu *Hanseniaspora uvarum*, *Issatchenkia orientalis* ve *Candida stellata* mayaları takip etmiştir. *Metschnikowia pulcherrima* ve *Pichia fermentans* mayaları şarapta istenen aromalar olan, yüksek miktarlarda etil oktanoat ve 2-fenil etanol üretmişlerdir.

Toro ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada saf, karışık ve sıralı maya kültürlerini kullanarak Syrah üzüm şırasının alkol fermantasyonu boyunca *Candida cantarellii* ve *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının davranışlarını incelemişlerdir. Etil alkolün son konsantrasyonu karışık ve sıralı testlerde benzer olup *S.cerevisiae* saf kültüründen daha yüksektir (%7.8 den %10.6 ya kadar). Karışık ve sıralı kültürlerde son ürünün gliserol içeriği saf *S.cerevisiae* fermantasyonu ile elde edilen üründen %44.3 ten %52.8 e kadar daha yüksek bulunmuştur. *S. cerevisiae* ve *C. cantarellii* suşlarını içeren karışık kültürden elde edilen şarapların bileşimleri başlıca asetoin, propanol ve süksünik asit içeriği bakımından saf olanlardan farklıdır. Araştırmacılar elde ettikleri bulgulara göre karışık kültürün ve saf

*C.cantarellii* fermantasyonundan 3 gün sonra *S.cerevisiae*'nin aşılmasının Syrah şaraplarının belli özelliklerini geliştirmek için daha uygun bir seçenek olduğunu ifade etmişleridir.

Rojas ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada *non-Saccharomyces* iki maya suşu olan *Hanseniaspora guilliermondii* 11104 ve *Pichia anomala* 10590 'ı, *Saccharomyces cerevisiae* ile birlikte karışık kültür olarak kullanmışlar ve şarap kalitesi üzerine etkilerini belirlemişlerdir. Karışık kültür kullanılarak üretilen şaraplarda asetaldehit, asetik asit, gliserol ve toplam yüksek alkollerin düzeyleri şarap için tanımlanan aralıklar içinde saptanmış ve asetat esterlerinin konsantrasyonlarında bir artış bulunmuştur. Araştırmacılar analiz edilen şaraplarda etil asetatın en yüksek miktarda üretilen ester olduğunu ve bunu izoamil asetat ve 2-fenil etil asetatın takip ettiğini bildirmişlerdir. *S. cerevisiae* etil esterlerini en iyi üretirken, *H. guilliermondii* 11104 hem saf hem karışık kültürlerinde 2-fenil etil asetatı güçlü bir şekilde üretmiştir. Karışık kültürler etil ester seviyelerini etkilememiştir.

Jolly ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada *non-Saccharomyces* mayalarının fermantasyon ve şarap kalitesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada, *non-Saccharomyces* mayalar tek tek ve endüstriyel şarap mayası ile (*Saccharomyces cerevisiae* suşu VIN 13) kombinasyon halinde fermantasyonda kullanılmışlardır. Elde edilen şarap etanol, uçucu asit, toplam SO<sub>2</sub> ve gliserol bakımından analiz edilmiştir. Sonuçlar, endüstriyel şarap mayası ile karşılaştırılınca *non-Saccharomyces* maya suşlarının bütün şekeri fermente edemediğini göstermiştir. Bireysel *non-Saccharomyces* ile fermente edilmiş şaraplar farklı kimyasal analize sahipken, kombine olarak fermente edilmiş şaraplar sadece endüstriyel maya kullanarak elde edilen şaraba benzemektedir. Daha sonraki küçük ölçekli şarap yapım denemelerinde kombine edilmiş fermantasyon ile üretilen bazı şarapların sadece *S.cerevisiae* ile üretilenden daha kaliteli olduğu kanısına varılmıştır. Fakat bu kalite artışı artan ester seviyesine bağlanmamıştır.



Clemente-Jimenez ve ark. (2005), *Pichia fermentans*'ın saf ve *Saccharomyces cerevisiae* ile sıralı karışık kültürlerini şarabın aromatik bileşen ve karakteristiğini geliştirmek için araştırmışlardır. Sıralı karışık kültürlerde *P. fermentans*'ın sadece fermantasyonun ikinci günündeki sonunda şarapta aşağıda belirtilen aroma miktarını ve sayısını önemli düzeyde arttırdığı belirtilmiştir. Bu bileşikler asetaldehit, etil asetat, 1-propanol, n-bütanol, 1-hekzanol, etil oktanoat, 2,3-bütandiol ve gliseroldür. non -*Saccharomyces* suşunun daha uzun süre şıra ile temas halinde olması kantitatif olarak aroma bileşimini arttırmaktadır. Elde edilen sonuçlar *P. fermentans*'ın şarap üretiminde alkol fermantasyonu için iyi bir starter suş olduğunu göstermiştir.

Blanco ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada, Galica (İspanya)'nın yerli beyaz çeşidi olan *Vitis vinifera* Lado üzüm şırası ile spontan ve starter kültür aşılı olarak fermantasyon gerçekleştirmişlerdir ve fermantasyonlar sonucunda ortamda bulunan maya popülasyonunun şarabın kimyasal özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Spontan fermantasyon sırasında izole edilen *Saccharomyces cerevisiae* maya suşlarının genetik çeşitliliği düşük bulunmuştur. Analizler sonucunda şarapların genel olarak yüksek alkol ve toplam asit (pH 3.0) değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak spontan fermantasyon gerçekleştirilen şarabın alkol derecesi daha düşük bulunmuştur, toplam asit değeri ise daha yüksek bulunmuştur.

Blanco ve ark. (2012), beş yerli *Saccharomyces cerevisiae* suşunun (XG1, XG2, XG3, XG4 and XG5) fermantasyon kabiliyeti ve bunların Treixadura şarabının duyuşal özellikleri ve kimyasal bileşimi üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Farklı mayalardan elde edilen şarapların toplam ve uçucu asit değerleri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Uçucu bileşenler ile ilgili olarak, asetatlar, etil esterler, asetoin, 1-hekzanol ve yağ asitleri bakımından şaraplar arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. Spontan fermantasyonla yapılan şaraplar ve XG3, XG4 mayaları ile yapılanlar temel bileşen analizi ile net bir şekilde ayrılmıştır. Kimyasal bileşim şarabın duyuşal özelliklerini özellikle de kokusunu

etkilemiştir. XG4 suşundan elde edilen şarap panalistler tarafından daha çok beğenilmiştir.

Andorrà ve ark. (2012), sentetik üzüm sırasında saf ve karışık aşılamanın, fermantasyon hızına ve şarap üretiminin temel özelliklerine, uçucu profil, amino asit tüketimi ve maya popülasyon dinamikleri üzerine olan etkisini değerlendirmişlerdir. Üç maya türü denenmiştir: *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum* ve *Candida zemplinin*, karışık kültürlerin oranı Non-*Saccharomyces* ve *S. cerevisiae* arasında 90:10 olmuştur. Popülasyon dinamikleri, ekim, mikroskop sayımı ve QPCR ile takip edilmiştir. Aromatik profili, GC ile belirlenirken, amino asit tüketimi HPLC ile belirlenmiştir. *S. cerevisiae*'nin bulunduğu tüm fermantasyonlar daha hızlı gelişmiştir ve bu tür tarafından yürütülmüştür. *S. cerevisiae* ayrıca amino asit tüketimini biyokütleyle dönüştürmede en etkili olmuştur. Fakat en düşük seviyede aromatik bileşik üretmiştir.

Gobbi ve ark. (2013) şarabın kalitesini yükseltmek ve asitliğini arttırmak amacıyla *Lachancea (Kluyveromyces) thermotolerans* ve *Saccharomyces cerevisiae* 'yı eş zamanlı ve sıralı fermantasyon uygulayarak karşılaştırmışlardır. Karışık kültür fermantasyonunda *non-Saccharomyces* mayası yüksek düzeyde bir rekabet gücü göstermiştir. Yine de *S. cerevisiae* suşu endüstriyel fermantasyon koşulları altında spontan *S. cerevisiae* suşları üzerinde fermantasyona hakim olmuştur. Test edilen farklı koşullar (aşılama modelleri, fermantasyon sıcaklığı, farklı üzüm suları) *S. cerevisiae* ve *L. thermotolerans*'ın ortak kültürde etkileşimini ve fermantasyon davranışını etkilemiştir. Bununla birlikte, pH indirgemesi ve 2-feniletanol ve gliserolün arttırılması gibi bazı metabolik davranışlar burada test edilen tüm koşullar altında gösterilmiştir. Bu şapaların spesifik kimyasal profilleri duyuşal analiz testiyle teyit edilmiştir ve baharatlı aroma ve toplam asit açısından önemli bir artış olarak ifade edilmiştir.

Teixeira ve ark. (2014), Portekiz kırmızı üzüm çeşidi olan Touriga Nacional (TN) şirasının spontan fermantasyonundan izole edilen non-*Saccharomyces* mayalarını incelemiş, TN şarabını geliştirmek ve çeşitlendirmek için çalışmışlardır. *Starmerella bacillaris* en fazla bulunan maya türü olup, bunu *Hanseniaspora guilliermondii* ve *Hanseniaspora uvarum* maya türleri izlemiştir. *Candida diversa* ve *S. bacillaris* izolatları ile üretilen şaraplar daha yüksek kalitede, daha dengeli, daha yoğun ve farklı aromaya sahip olmuştur. Ayrıca *S. bacillaris* izolatları Touriga Nacional şaraplarında bergamot, menekşe, gül gibi tipik aromaları arttırmıştır.

Balıkçı ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada Emir üzüm şirasında saf, eş zamanlı ve sıralı fermantasyon ile *Lachancea thermotolerans* ve *Saccharomyces cerevisiae*'in davranışlarını incelemiştir. *S.cerevisiae*'in saf kültürü ile elde edilen şarapta ve aynı anda aşılana *L. thermotolerans* and *S.cerevisiae*'dan elde edilen şarapta daha hızlı fermantasyon oranları gözlemlenmiştir. *L. thermotolerans* and *S. cerevisiae*'nin ikisi de yüksek oranda popülasyon vermiştir. *L. thermotolerans*'ın karışık ve sıralı kültürde kullanımı şaraplarda toplam asit (tartarik asit cinsinden 5.40-6.28 g/l arasında) içeriğinde artışa neden olmuştur. Saf *S. cerevisiae* kültürü ise en düşük toplam asitlik (5 g/l) değerini vermiştir. *L. termotolerans* kullanılarak toplam asitlikteki artış küresel iklim değişikliği nedeniyle düşük asitli şarapların geliştirilmesinde yararlı olabileceği düşünülmüştür. Etil alkol konsantrasyonu hacmen % 10.76–11.62 arasında değişirken uçur asit miktarları (asetik asit cinsinden) 0.53–0.73 g/l aralığında olmuştur. Şarapların sıralı fermantasyonu ve *L. thermotolerans*'ın saf kültür fermantasyonu n-propanol ve esterlerin haricinde asetaldehit ve yüksek alkol konsantrasyonlarında azalmaya neden olmuştur. Duyusal analiz sonuçlarına göre sıralı kültür fermantasyonu ile elde edilen şarap ve bu mayaların aynı anda aşılması ile elde edilen şarap en çok tercih edilen şaraplar olmuştur.

### 2.2. *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* Kullanılarak Yapılan Çalışmalar

Geçmiş yıllarda, *Saccharomyces* olmayan mayalar, düşük fermantasyon yeteneği ve diğer olumsuz özellikleri sergilediğinden dolayı esas olarak bozulma yapan/sorunlu maya olarak düşünülmüştür. Son yıllardaki deneyler, fermantasyonu tamamlayamamalarına rağmen şarapların duyuşsal özelliğini attırmak için *Saccharomyces* ile sıralı ve karışık kültür fermantasyonda kullanılabilen bazı *Saccharomyces* olmayan suşların bulunduğunu göstermiştir. Laboratuvar koşullarında yapılan fermantasyonda, seçilmiş *Torulaspóra delbrueckii* maya suşlarının genel etkilerinin oldukça pozitif, şarap üretiminde ve bira üretiminde belirgin özellikte ve çiçek/meyveli aromaya sahip ürünler elde edildiği gözlemlenmiştir (Tataridis ve ark., 2013).

Eskiden *Saccharomyces rosei* olarak sınıflandırılan *T. delbrueckii* (*C. colliculosa*'nın teleomorfu), daha önce şeker ve asidi düşük şıraların şarapçılığı için tavsiye edilmiştir. Daha sonra İtalya'da kırmızı ve roze şaraplarının ticari üretimi için kullanılmıştır (Castelli, 1955). *T. delbrueckii*, ilk *S. cerevisiae* ticari şarap starter kültürlerinin piyasaya sürülmesinden yaklaşık yarım asır sonra, bu amaçla üretilen ilk *Saccharomyces* olmayan türdür ve şimdi *T. delbrueckii*'nin farklı suşları şarap üretimi için kullanılabilir (Azzolini ve ark, 2015).

Moreno ve ark. tarafından yürütölen deneylerde (1991), saf kültürde *T. delbrueckii*'nin test edilen *S. cerevisiae* suşlarından daha düşük seviyede uçar asit ürettiği bulunmuştur (Jolly ve ark., 2006).

Ciani ve ark. (1998), şarap yapımı ile ilişkili çeşitli maya kültürüne ait olan beş tane *non-Saccharomyces* maya türünü değerlendirmişlerdir. Sonuçlar *Candida stellata* ve *Torulaspóra delbrueckii*'nin alkollü içkilerin aroma ve tadını pozitif olarak etkileyebildiğini göstermiştir. *Apiculate* mayaları başta etil asetat olmak üzere büyük miktarda olumsuz yan ürün üretmiştir. Bununla birlikte *Kloeckera*

*apiculata*, asetik asit ve etil asetat oluşumu ve etanol üretimi arasında önemli derecede olumsuz bir korelasyon göstermiştir.

Ciani ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada *Hanseniaspora uvarum*, *Torulasporea delbrueckii* ve *Kluyveromyces thermotolerans*'ın çoklu starter fermantasyonlarını *Saccharomyces cerevisiae* ile birlikte araştırmışlardır. Yüksek şeker içerikli üzüm şirasıyla yapılan karışık denemeler şarabın fermantasyon davranışı ve analitik profilinin karşılaştırılabilir olduğunu ve saf kültür *S.cerevisiae* tarafından sergilenenden daha iyi olduğunu göstermiştir. *H. uvarum* etil asetat (175 ml l-1) içeriğinde aşırı bir artışa neden olurken, *T. delbrueckii* ve *K. thermotolerans*'ın sıralı denemelerinde durgun bir fermantasyon saptanmıştır. 15 °C de *H. uvarum* ile gerçekleştirilen sıralı fermantasyonunda yüksek miktarda etil asetat üretilmiştir.

Viana ve ark. (2008), tarafından yapılan bu çalışmada 38 tane *Candida*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Torulasporea* ve *Zygosaccharomyces* 'e ait olan maya türü sentetik mikrobiyolojik ortamda ester oluşumu bakımından değerlendirmişlerdir. *Hanseniaspora* ve *Pichia* cinsleri en iyi asetat ester üreticisi olarak göze çarpmıştır. *Hanseniaspora guilliermondii* 11027 ve 11102, *Hanseniaspora osmophila* 1471, *Pichia membranifaciens* 10113 ve 10550'nin ester porifline dayanarak şaraplık özelliklerinin daha iyi tanımlanması için seçilmiştir. Başlangıçtaki şıra şekerinin %90 nından daha fazlasını tüketen *H. osmophila* 1471 şırada geliştiği zaman asetik asit, orta zincirli yağ asitleri ve etil asetatı şarap için tanımlanan aralıklar içinde üretmiştir. Diğer taraftan *H.osmophila* 1471 2-feniletıl asetatın güçlü bit üreticisi olmuştur.

Belly ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada *Botrytis cinerea* bulaşmış şıraları *Torulasporea delbrueckii* mayası ile saf kültür ve *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile karışık kültür kullanarak fermente etmişlerdir. Çalışmada saf ve karışık kültürde, uçucu asit, asetaldehit ve gliserolün oluşumu, fermantasyon hızı, biyokütle artışı gözlenmiştir. Bu çalışma *T. delbrueckii*'nin standart koşullarda düşük asetik asit ürettiğini göstermiştir ve yüksek şeker ortamında bile bu kaliteyi

koruduğunu belirtilmiştir. Bununla birlikte bu maya düşük miktarda etanol ve biyokütle üretmiş ve fermantasyon ağır gerçekleşmiştir. Sonuç olarak *T. delbrueckii* ve *S. cerevisiae* 'nin karışık kültürü tatlı şarabın analitik profilini geliştirmek için, özellikle uçucu asit ve asetaldehit üretimi açısından en iyi kombinasyonu oluşturmuştur. Karışık 20:1 oranındaki *T. delbrueckii*/*S. cerevisiae* kültürü, saf *S. cerevisiae* kültüründen %53 daha az uçucu asit ve %60 daha az asetaldehit üretmiştir. Fermantasyondan beş gün sonra *T. delbrueckii* ile aşılana *S. cerevisiae* uçucu asit ve asetaldehit üzerine daha ez etki etmiştir.

*Torulaspota delbrueckii*'nin etkisi, ilk kez, yüksek alkollü sek kırmızı bir şarap olan Amarone şarabının üretiminde, Azzolini ve ark. (2012), tarafından incelenmiştir. Şarap denemeleri, seçilen bir *T. delbrueckii* suşu tarafından *Saccharomyces cerevisiae* ile aynı anda ve sıralı olarak inoküle edilmiştir. *T. delbrueckii*'nin Amarone şarabının aroması üzerindeki etkileri fermantasyon esnasındaki varlığı ile ilişkilendirilmiştir ve karışık kültürlerle elde edilen şarapta çok sayıda bileşik çeşitlilik göstermiştir. En önemli değişiklikler, Amarone şarap aromasında önemli olan alkoller, fermentatif esterler, yağ asitleri ve laktonlar arasında gözlenmiştir. Bu çalışma, *T. delbrueckii*'nin şarap aroması üzerindeki rolü ve non-*Saccharomyces*'in şarap üretimindeki kullanılma potansiyelini göstermiştir.

Loira ve ark. (2014), *Torulaspota delbrueckii*'nin beş suşunun *Saccharomyces cerevisiae* ile sıralı fermantasyonlarında, polialkol, aromatik bileşen ve pigment oluşumunu analiz ederek fermentatif davranışlarını incelemişlerdir. Bu beş suşun fermantasyon gücü %7.4-9.0 v/v alkol arasında olurken; uçucu asit miktarı %0.2-0.7 g/l asetik asit arasında olmuştur. Gliserol üretimi, *S. cerevisiae* tek başına olduğunda zayıf olmuştur. Saf kültür *S. cerevisiae* fermantasyonda ulaşılan 2,3-bütandiol konsantrasyonu beş ardışık *T. delbrueckii*/*S. cerevisiae* fermantasyonlarına göre %73 daha fazla olduğu belirlenmiştir. Fakat bu fermantasyonlar tek kültür *S. cerevisiae* fermantasyonundan daha fazla miktarda diasetil, etil laktat, 2-feniletıl asetat üretmiştir. 3-etoksi propanal sadece bu sıralı

fermantasyonlarda üretilmiştir. Bu beş sıralı fermantasyon, saf kültür *S. cerevisiae* fermantasyonundan daha az miktarda vitisin A ve B üretmiştir.

Azzolini ve ark. (2015), bu çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* ile sıralı olarak aşılana (çoklu starter fermantasyon ) *Torulaspota delbrueckii* starter kültürünün 2 farklı beyaz şarapta (sek ve tatlı) fermantasyon ve aroma üzerine katkılarını analiz etmiştir. Soave ve Chardonnay şaraplarının (sek şarap) kimyasal analizleri, çoklu kültür fermantasyonun bazı uçucu maddelerin içeriğini büyük ölçüde etkilediğini göstermiştir. Bunlar 2-feniletanol, izoamil asetat, yağ asidi esterleri, C4-C10 yağ asitleri ve vinilfenollerdir ve iki farklı *T. delbrueckii* suşunun test edilmesiyle suşun spesifik katkıları gösterilmiştir. *T. delbrueckii* aktivitesinin şarap kalitesi üzerindeki olumlu etkisi tatlı bir şarap olan Vino Santo'da da görülmüştür. Düşük asetik asit üretmesi nedeniyle *non-Saccharomyces* mayası yüksek şekerli üzümün fermantasyonu için tavsiye edilmektedir. Ayrıca *T. delbrueckii* laktonları içeren farklı kimyasal grupların içeriğini de etkilemiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

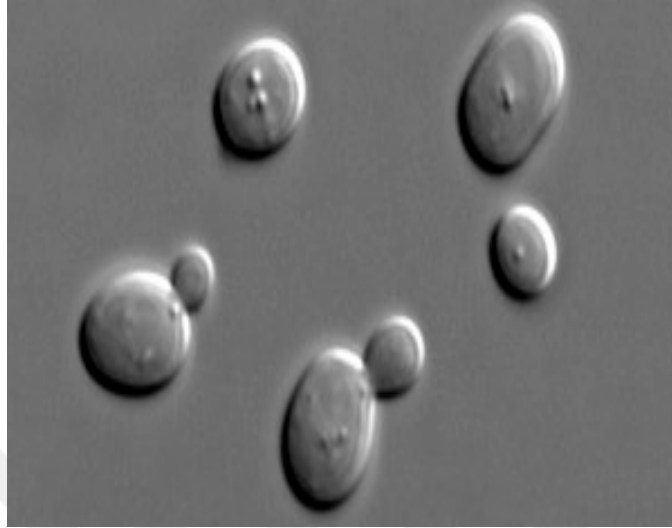
Bu çalışmada Tokat yöresinde yetiştirilen Narince (Şekil 3.1) üzümleri kullanılmıştır. Bağ bozumu yapıldıktan sonra üzümler, işletmeye plastik kasalarla taşınmış ve bekletilmeden şaraba işlenmiştir.

Maya olarak, Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünde yürütülen TUBİTAK-214O173 nolu projeden Narince üzüm şirasından izole edilmiş olan endojen mayalardan *Saccharomyces cerevisiae*-1088 suşu (Şekil 3.2) ve non-*Saccharomyces* olan *Torulasporea delbrueckii*-214 suşu (Şekil 3.3) kullanılmıştır.

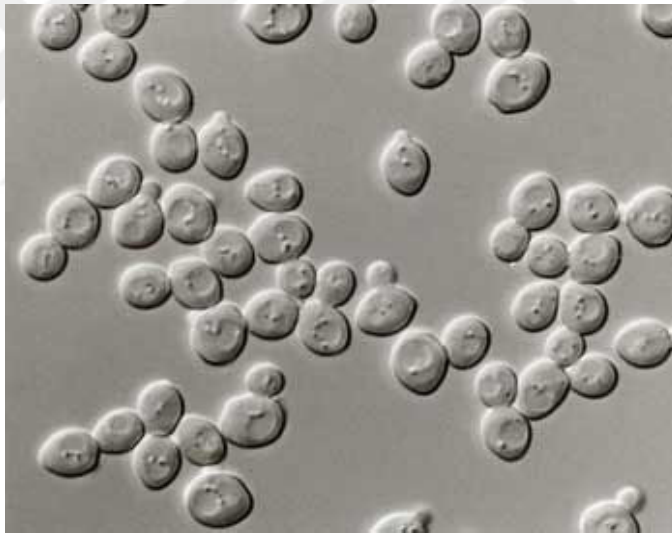


Şekil 3.1. Narince Üzümü





Şekil 3.2. *Saccharomyces cerevisiae*



Şekil 3.3. *Torulaspora delbrueckii*

### 3.2. Metot

#### 3.2.1. Üzümlerin Şaraba İşlenmesi

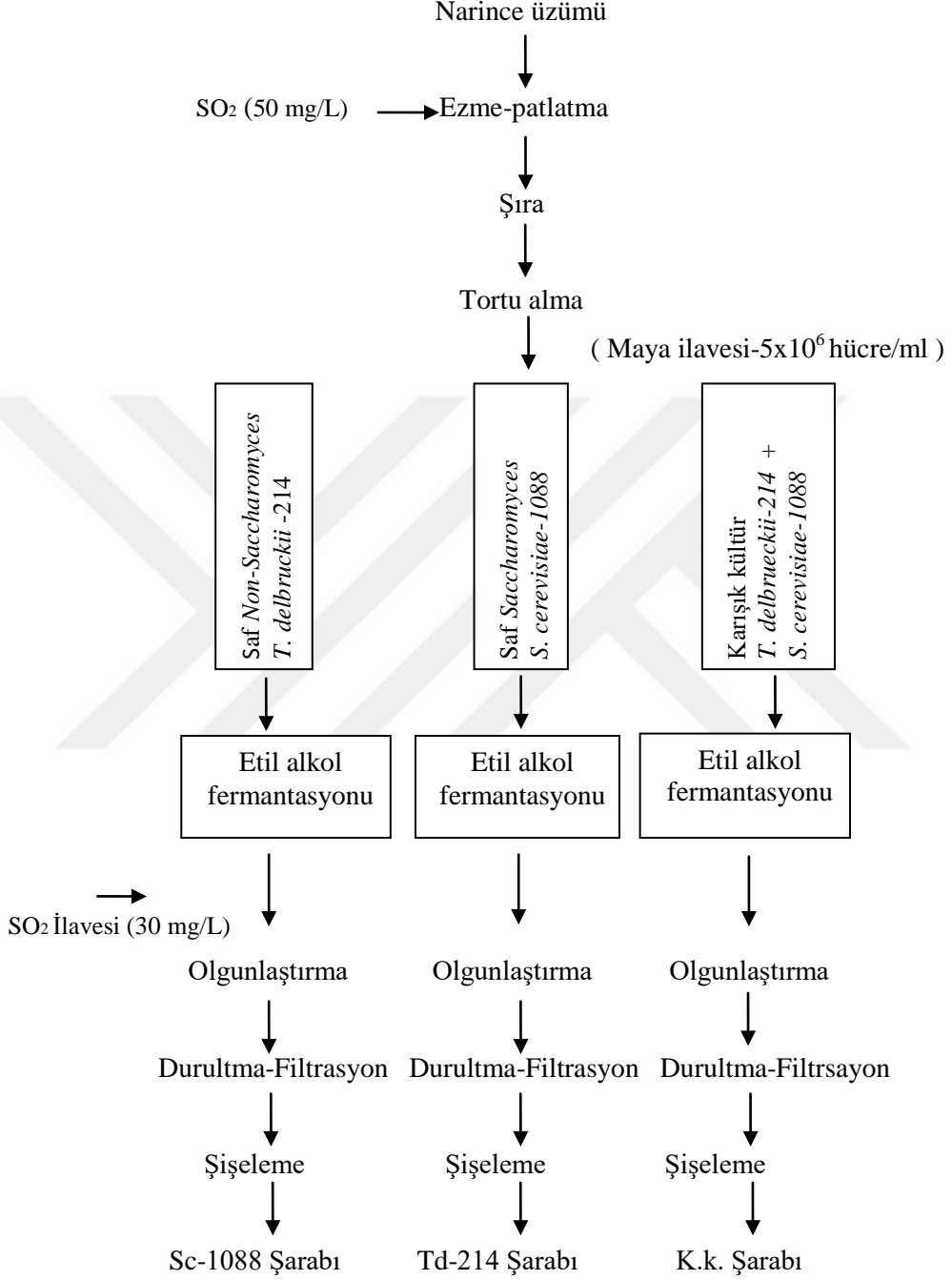
Endojen mayalar ile Narince üzümünden beyaz şarap üretim aşamaları Şekil 3.4'te verilmiştir. Denemeler Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda

Mühendisliği Bölümü pilot şarap işletmesinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5). Üzüm ezme ve patlatma işlemi sırasında 50 mg/L SO<sub>2</sub> ilave edilmiştir. Şıra elde edildikten sonra 10°C'de 24 saat durultmaya bırakılmıştır. Tortu ayırma işleminden sonra şıraya maya ilavesi yapılmıştır ( Ribereau-Gayon ve ark., 2006)

Maya suşları aşılama için önce steril üzüm şırası içinde ayrı ayrı çoğaltılmıştır. Bu amaçla 250 ml'lik erlenlere 100 ml üzüm şırası konulup, ağzları alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Erlenler 105 °C'de 5 dak. sterilize edilip, soğutulmuştur. Bundan sonra katı besi yeri üzerinde çoğaltılan mayalardan bir, iki koloni aşılansak orbital karıştırıcıya yerleştirilmiş ve 160 devir/dak.'da 25 °C'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İki günlük inkübasyon sonunda mayalar, steril tüpler içersinde 4000 devir/dak.'da 10 dak süre ile santrifüjden geçirilerek steril su ile yıkanmıştır. Ardından maya kitlesine bir miktar üzüm şırası ilave edilip ve maya metilen mavisi kullanılarak Thoma lamı ile mikroskop altında sayım yapılmıştır. Fermantasyon ortamına 5x10<sup>6</sup> hücre/ml maya olacak şekilde aşılama yapılmıştır (Erten, 2002; Zöhre ve Erten, 2002).

Denemeler iki paralelli olarak, 20 litrelik damacanalarda gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon sıcaklığı 18 °C olarak ayarlanmıştır. Fermantasyon boyunca hergün yoğunluk ve sıcaklık takipleri yapılmıştır. Alkol fermantasyonunun sonunda aktarma ve olgunlaştırma işlemleri yapıp şişelenmiştir. Elde edilen şaraplar kimyasal ve duyusal analizleri yapıncaya kadar 10-15 °C'de mahzende tutulmuştur. Denemeler uygulanan maya suşuna göre şu şekilde kodlanmıştır:

<i>Saccharomyces cerevisiae</i> -1088	: Sc-1088
<i>Torulospora delbrueckii</i> 214	: Td-214
Karışık kültür ( <i>S. cerevisiae</i> -1088 X <i>T. delbrueckii</i> -214)	: K.k.



Şekil 3.4. Narince Şarabı Üretim Aşamaları



Şekil 3.5. Fermantasyon denemesi

### 3.2.2. Şıra ve Şaraplarda Yapılan Analizler

#### 3.2.2.1. Genel Analizler

Şırada toplam asitlik, SÇKM (°Briks), pH, esmerleşme indisi, indirgen şeker analizleri, analizleri yapılmıştır. Şaraplarda şırada yapılan analizlere ek olarak alkol, uçar asit, organik asit, gliserol, serbest ve toplam SO<sub>2</sub> analizleri yapılmıştır.

**3.2.2.1.(1). Suda Çözünür Kurumadde Tayini**

Şıranın SÇKM değeri el refraktometresi ile belirlenmiştir. (Anon., 2015)

**3.2.2.1.(2). Toplam Asit Tayini**

10 ml şıra veya şarap örneği üzerine 20 ml saf su alınmış ve 1 ml fenolftalein indikatörü konulmuş ve pH'sı 8.2 oluncaya kadar 0.1 N NaOH ile titre edilerek belirlenmiştir. Sonuçlar tartarik asit cinsinden g/L olarak verilmiştir (Anon, 2015).

**3.2.2.1.(3). Yoğunluk Tayini**

Yoğunluk 20 °C'de elektronik dansimetre (Anton Paar marka) ile tayin edilmiştir (Anon, 2015).

**3.2.2.1.(4). pH Tayini**

Şıra ve şarapların pH'sı doğrudan cam elektrotlu pH-metre kullanılarak ölçülmüştür (Anon., 2015).

**3.2.2.1.(5). Alkol Tayini**

Alkol analizi NIR (Yakın Kızılötesi Spektroskopisi) yöntemi ile yapılmıştır. Şarapların hacmen etil alkol derecesini belirlemek için Anton Paar NIR Spektrometresi kullanılmıştır. Alkol oranı % hacmen olarak ifade edilmiştir. Kabarcık kontrolü yapılır. Cihaz ölçümü yaptıktan sonra dijital göstergeden değer okunur. Alet hacmen alkol miktarını 2 basamaklı yüzde olarak doğrudan veren bir programa sahiptir.

**3.2.2.1.(6). Uçar Asit Tayini**

Şarapların uçar asit miktarları Dujardin Salleron marka cihazda buharlı damıtma yöntemine göre belirlenmiştir. Sonuçlar asetik asit cinsinden g/L olarak verilmiştir. (Anon., 2015).

**3.2.2.1.(7). İndirgen Şeker Tayini**

İndirgen şeker tayini, Carrez çözeltileri ile rengi giderilen ve durultulan şaraplarda Luff-Schoorl yöntemine göre yapılmıştır (Anon., 2015).

**3.2.2.1.(8). Kükürt Dioksit Tayini**

Şaraplarda toplam ve serbest kükürt dioksit, taşıyıcı olarak kullanılan azot gazı yardımı ile hidrojen peroksit çözeltisinde toplanmıştır ve N/100'lük NaOH ile titre edilmek suretiyle belirlenmiştir (Anon, 2015).

**3.2.2.1.(9). HPLC ile Şeker ve Organik Asitlerin Analizi**

Şeker ve organik asit analizleri Sturm ve ark. (2003)'e göre yapılmıştır. Üzümlerde şeker ve organik asitlerin analizleri için, şıradan 100 mL örnek alınmıştır. Şıra önce kaba filtre, sonra 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilerek süzülmüştür. Şıra, 1:10 oranında ultra saf su ile seyreltilmiş ve doğrudan Shimadzu LC-20AD model HPLC cihazına enjekte edilerek organik asit ve şeker miktarları belirlenmiştir. Şaraplarda şeker ve organik asit analizi için 100 ml şarap örneği kullanılmıştır. Şarap örneklerinde seyreltme yapılmamış, 0.45 µm'lik filtreden geçirilip doğrudan enjeksiyon gerçekleştirilmiştir. Şeker ve organik asitlerin miktarının belirlenmesinde Shimadzu marka HPLC (RID 10A ve SPD-20A UV dedektörlü) kullanılmıştır. Şeker ve organik asitlerin ayrımı Biorad HPX-87H (300X7.8mm) kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Dedektörün dalga boyu 210 nm'dir. Taşıyıcı faz olarak 5 mM'lık sülfürik asit çözeltisi kullanılmış ve akış hızı 0.5 ml/dakika olarak ayarlanmıştır.

Örneklerdeki şeker konsantrasyonlarının belirlenmesinde dış standart yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla sakkaroz, glikoz ve fruktoz standartlarından 5 farklı konsantrasyonda kalibrasyon çözeltileri hazırlanıp, HPLC analizleri yapılmış ve elde edilen verilere göre üzüm ve şaraplardaki şeker miktarları belirlenmiştir. Organik asit konsantrasyonları da aynı yöntemle tartarik, malik, laktik ve sitrik asit standartları kullanmak suretiyle saptanmıştır.

**3.2.2.1.(10). Renk Değerleri Ölçümü**

Şarapların L\*, a\*, b\* renk değerleri Hunter Lab renk ölçüm cihazı ile ölçülmüştür. L\*, a\*, b\* değerleri 3 boyutlu koordinat sistemi ile verilmekte ve bu koordinat sisteminde L\* değeri dikey eksenle parlaklıktan koyuluğa gidişi belirtirken +a\* kırmızılığa, -a\* yeşilliğe, +b\* sarılığa, -b\* ise maviliğe gidişi göstermektedir (Anon, 2015b).

**3.2.2.2. Aroma Maddelerinin Analizi**

**Serbest aroma maddelerinin ekstraksiyonu:** Aroma analizlerinde sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniği uygulanmıştır. Aroma maddelerinin ekstraksiyonunda şarap örnekleri için 100 ml örnek kullanılmıştır. Çözgen olarak diklorometan çözgeni kullanılmıştır ve ekstraksiyonlar, her bir örnek için üç kez tekrarlanmıştır. Örnekler iç standart olarak 40 µg 4-nonanol ve 40 ml diklorometan ilave edilip ve 500 ml'lik erlene alınmıştır. Erlenekteki karışım azot gazı altında, 4-5°C'de, manyetik karıştırıcıda 30 dakika karıştırılıp ve ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6) (Blanch ve ark.,1991; Priser ve ark.,1997). Bu işlem sonucu iki faza ayrılmış olan erlen içeriğinden aroma maddelerini içeren çözgen fazı alınarak "Vigreux" damıtma kolonunda 45°C'de 1 ml kalıncaya kadar konsantre edilmiştir (Şekil 3.7). Konsantre halde elde edilen sıvı doğrudan GC ve GC-MS' e enjekte edilerek serbest aroma maddeleri belirlenmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.6. Aroma Maddelerinin Ekstraksiyonu



Şekil 3.7.Vigreux Konsantrasyon Düzeneği





Şekil 3.8. Analizlerde Kullanılan GC-MS Cihazı

**GC-FID ve GC-MS koşulları:** Aroma maddelerinin miktarı ve tanımlanması "Agilent 6890N" marka gaz kromatografisi ve buna bağlı "Agilent 5975B VL MSD" kütle spektrometresinde eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir. Miktar tayininde, alev iyonlaşma dedektörlü (FID) gaz kromatografisi kullanılmıştır. Aroma maddelerinin ayrımı CP-WAX 57CB kapiler kolon (60 m x 0.25 mm x 0.4  $\mu$ m) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enjektör sıcaklığı 220 °C, dedektör sıcaklığı 250 °C, kolon sıcaklığı, 60°C'de 3 dakika beklemeden sonra, dakikada 2°C artarak 220 °C ye ve daha sonra dakikada 3°C artarak 245°C ye çıkacak ve bu sıcaklıkta 20 dakika sabit kalacak şekilde programlanmıştır. Cihaza enjekte edilen miktar 3  $\mu$ l'dir. Taşıyıcı gaz olarak He kullanılmıştır. Helyumun akış hızı 1.5 ml/dakika'dır. Dedektör ve enjektör sıcaklıkları 250 °C dir.

**Aroma maddelerinin tanımlanmasında;** Yukarıda belirtilen gaz kromatografisine bağlı “Agilent 5975B VL MSD” marka kütle spektrometresi kullanılmıştır. Enjektör tipi ve sıcaklık programı gaz kromatografisi ile aynı koşulları taşımaktadır. Taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyumun hızı 1.5 ml/dk 'dır. Kütle spektrometresinin iyonlaşma enerjisi 70 eV, iyon kaynağı sıcaklığı 250°C, kuadrupol sıcaklığı 120°C tutularak, 1 saniye aralıklarla 29-350 kütle/yük (m/e) arasında tarama yapılmıştır. Piklerin tanısı, standardı bulunan bileşikler için standart çözelti enjekte edilerek, standardı olmayan bileşikler için kütle spektrumunun bilgisayar hafızasındaki kütle karşılaştırılması yoluyla yapılmıştır. Piklerin tanısından sonra aroma maddelerinin konsantrasyonları iç standart yöntemiyle hesaplanmıştır (Schneider ve ark., 1998; 2001).

**Aroma maddelerinin miktarlarının hesaplanması:** Piklerin tanısından sonra aroma maddelerinin miktarlarını hesaplamak için, standart bileşiklerden kalibrasyon eğrileri elde edilmiş ve iç standart yöntemiyle aşağıdaki formül kullanılarak miktarlar hesaplanmıştır.

Hesaplama her bir bileşiğin cevap faktörü dikkate alınmıştır.

$$C_i = (A_i / A_{st}) \times C_{st} \times RF \times HF$$

$C_i$  : Bileşiğin konsantrasyonu

$A_i$  : Bileşiğin pik alanı

$A_{st}$  : İç standartın pik alanı

$C_{st}$  : İç standartın konsantrasyonu (40 µg/100 ml)

RF : Cevap faktörü

HF : Hesaplama faktörü (örnek miktarının kg'a çevrilmesi için faktör: 10)

**3.2.2.3. Duyusal Analiz**

Şarapların duyusal özelliklerinin belirlenmesinde aroma ve lezzet özelliklerini esas alan Şekil 3.9' da verilen duyusal analiz formu kullanılmıştır (Altuğ ve Elmacı, 2005). Duyusal analiz 7 kişiden oluşan bir panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir.

<b>DUYUSAL ANALİZ FORMU</b>		
AD SOYAD:		ÖRNEK NO:
<b>Lütfen önce şarap örneğinin rengini değerlendiriniz, daha sonra koklayarak Kokusunu değerlendiriniz. Son olarak şarap örneğini tadınız ve formdaki kriterlere göre değerlendiriniz.</b>		
Açık sarı-yeşil	Sarı-altın sarısı	Amber
<b>AROMA (BURUNDA)</b>		
Çiçeksi (gül, yasemin, hanımeli)		
Bitki Çayı (ıhlamur, limon)		
Lavanta		
Narenciye (portakal, limon çiçeği)		
Tropikal Meyve (kavun, mango, passion fruit)		
Ağaç Meyveleri (elma, şeftali)		
Bal		
Otsu		
Pişmiş Meyve		

AĞIZDA (DAMAKTA)
Tatlılık
Asidite
Lezzetin kalıcılığı
Gövde
Aroma
Genel İzlenim

Şekil 3.9. Duyusal Analiz Formu

#### 3.2.2.4. İstatistiksel analizler

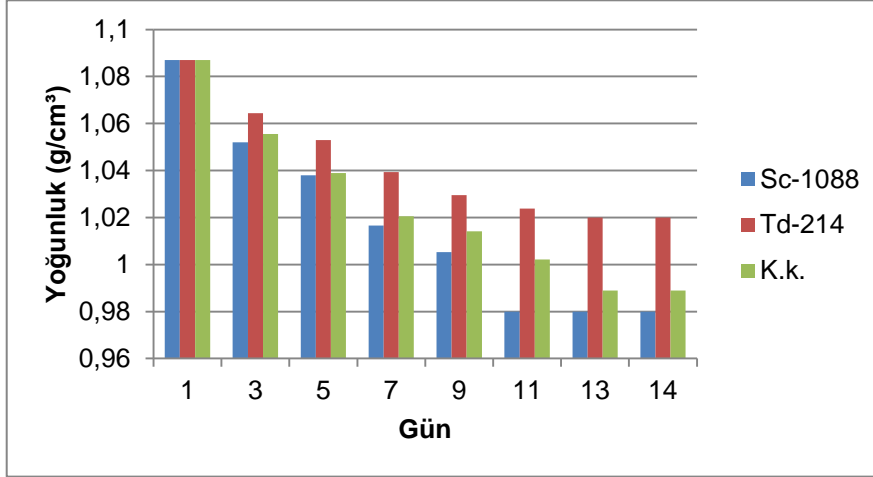
Elde edilen sonuçlar varyans analizi ile değerlendirilmiş ve bu amaçla “Windows SPSS 22.0 Software” istatistik paket programı kullanılmıştır (Rencher, 2002).



#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

##### 4.1. Alkol Fermantasyonu ve Maya Popülasyonu

Tokat yöresinden elde edilen Narince üzüm çeşidinden üretilen şarapların fermantasyon süresi boyunca yoğunluk değişimleri Şekil 4.1'de verilmiştir. Sc-1088'in saf kültür fermantasyonu 11 günde, Td - 214'ün saf kültür fermantasyonu 13 günde ve karışık kültür fermantasyonu ise aynı şekilde 13 günde sona ermiştir. *T. delbrueckii*-214 suşu ise fermantasyonu bitirememiş ve yoğunluk  $1.020 \text{ g/cm}^3$  te sabit kalmıştır.

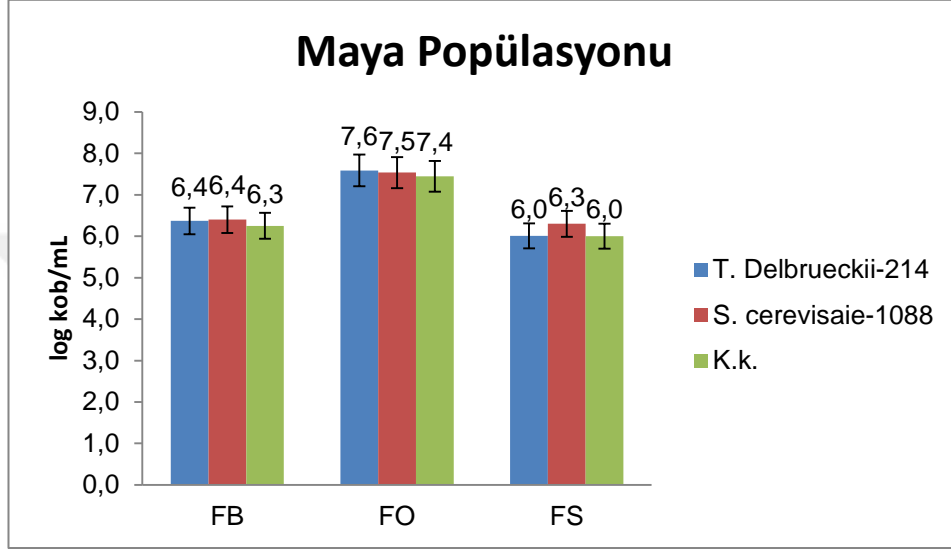


Şekil 4.1. Fermantasyon süresince yoğunluk değişimi

*T. delbrueckii*-214 maya suşu kullanılan şaraplarda saf kültür *S. cerevisiae* - 1088 maya suşu kullanılan şaraba göre daha yavaş bir fermantasyon başlangıcı görülmüş ve fermantasyon hızı daha yavaş seyretmiştir. Bu durum mayaların kükürt dioksit dirençleri, yüksek alkol konsantrasyonu ve farklı koşullara kolay adaptasyonu ve farklı maya türü ile açıklanabilir.

Fermantasyon süresince maya popülasyonu değişimi Şekil 4.2'de verilmiştir. Maya sayımı, metilen mavisi kullanılarak Thoma lamı ile mikroskop

altında yapılmıştır. Aynı zamanda besi yerine ekim yapılarak da maya sayımı yapılmıştır. Sc-1088 maya sayımı için YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose Agar), Td-214 maya sayımı için Lysine Agar besi yeri kullanılmıştır.



Şekil 4.2. Fermantasyon süresince maya popülasyonu değişimi. FB: Fermantasyon Başı, FO: Fermantasyon Ortası, FS: Fermantasyon sonu

Sc-1088, Td-214 ve karışık kültür şarabında fermantasyon başında maya popülasyonu sırası ile 6.4 log kob/mL, 6.4 log kob/mL ve 6.3 log kob/mL olmuştur ve fermantasyon ortasında sırası ile 7.5 log kob/mL, 7.6 log kob/mL ve 7.4 log kob/mL'ye çıkmıştır. Fermantasyon sonunda ise 6.3 log kob/mL, 6.0 log kob/mL ve 6.0 log kob/mL'ye düşmüştür.

## 4.2. Şıra ve Şarapların Genel Bileşimi

### 4.2.1. Narince Şirasının Bileşimi

Tokat yöresinden alınan Narince üzüm çeşidinden elde edilen şıraların kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Narince Şırasının Bileşimi

Yoğunluk (g/cm <sup>3</sup> )	1.0872
SÇKM (°Briks)	20.4±0.0
pH	3.60±0.0
Toplam Asit (g/L)*	5.44±0.1
İndirgen Şeker (g/L)	190±0.8
Esmerleşme İndisi (OY <sub>420</sub> )	0.062±0.2
Sakkaroz (g/L)	0.4±0.0
Glikoz (g/L)	97.4±0.2
Fruktoz (g/L)	93.7±0.6

\*Tartarik asit cinsinden

Üzüm şırasının pH, toplam asit, suda çözünür kurumadde ve renk gibi bazı özellikleri, şarabın karakteristiği ve kalitesini etkileyen önemli faktörlerdendir (de Andrés-de Prado ve ark., 2007).

Şıranın SÇKM değeri 20.4 ° Briks olarak bulunmuştur. Boulton ve ark. (1996), kalite beyaz şaraplık üzümlerde SÇKM miktarının 19.50-23.0 arasında olması gerektiğini bildirmişlerdir. Elde edilen sonuç, yapılan önceki çalışmalar (Canatar, 2017; Kalkan ve Aktan., 1999) ile uyumluluk göstermektedir. Şıranın pH'ı 3.60, toplam asitliği ise 5.44 g/L (tartarik asit cinsinden) olarak bulunmuştur. Kalite beyaz şaraplık üzümlerde pH değerinin 3.0-3.5 arasında değiştiği ve tartarik asit cinsinden toplam asit değerinin 7.00-8.00 olması gerektiği bildirilmiştir (Boulton ve ark., 1996). Kayalar (2015) yaptığı çalışmada Erbaa-1 yöresindeki Narince şırasının pH'ını 3.53, Erbaa-2 yöresindeki Narince şırasının pH'ını 3.63 olarak bulduğunu ifade etmiştir.

Şıradaki indirgen şeker miktarı fermantasyon sonunda potansiyel alkol derecesini gösterir. Narince üzüm şırasının indirgen şeker miktarı 190 g/L olup şekerlerden ise glikoz ve fruktoz saptanmıştır. Sakkaroz miktarı çok düşük olduğundan göz ardı edilmiştir. Şaraplık üzümlerde toplam glikoz ve fruktoz



miktarı yaklaşık olarak 150-250 g/L arasında değişir (Ribéreau-Gayon ve ark. 2000). Tabloda da görüldüğü gibi glikoz miktarı 97.04 g/L, fruktoz miktarı 93.07 g/L bulunmuştur.

#### 4.2.2. Narince Şaraplarının Genel Bileşimi

Maya suşunun Narince şaraplarının genel bileşimi üzerine etkisi Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Maya suşunun Narince Şaraplarının Genel Bileşimi Üzerine Etkisi

	<b>Sc-1088</b>	<b>Td-214</b>	<b>K.k.</b>	<b>F</b>
Yoğunluk (g/cm <sup>3</sup> , 20°C)	0.980±0.0 <sup>a</sup>	1.020±0.0 <sup>b</sup>	0.989±0.0 <sup>a</sup>	**
Alkol (% hacmen, 20°C)	11.6±0.0 <sup>b</sup>	10.12±0.0 <sup>a</sup>	11.48±0.0 <sup>b</sup>	**
Toplam asit <sup>a</sup> (g/L)	6.05±0.0 <sup>a</sup>	7.04±0.0 <sup>c</sup>	6.56±0.0 <sup>b</sup>	**
pH	3.66±0.0 <sup>a</sup>	3.68±0.0 <sup>a,b</sup>	3.71±0.0 <sup>b</sup>	*
Uçar asit <sup>b</sup> (g/L)	0.406±0.0 <sup>a</sup>	0.58±0.0 <sup>c</sup>	0.437±0.0 <sup>b</sup>	**
Gliserol (g/L)	5.9±0.0 <sup>a</sup>	7.4±0.3 <sup>b</sup>	6.1±0.1 <sup>a</sup>	**
Şeker (g/L)				
Glikoz	1.95±0.0 <sup>a</sup>	8.06±0.1 <sup>c</sup>	2.27±0.0 <sup>b</sup>	**
Fruktoz	1.87±0.0 <sup>a</sup>	14.25±0.0 <sup>c</sup>	2.53±0.0 <sup>b</sup>	**
Toplam Şeker (g/L)	3.82 <sup>a</sup>	22.31 <sup>c</sup>	4.80 <sup>b</sup>	**
Organik Asitler (g/L)				
Tartarik asit	3.16±0.1	3.12±0.1	3.15±0.1	öd
Malik asit	2.21±0.0	2.77±0.1	2.40±0.0	öd
Serbest SO <sub>2</sub> (mg/L)	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	ö.d
Toplam SO <sub>2</sub> (mg/L)	55.5±0.5	56±1.0	56.75±0.2	ö.d
Renk				
L*	75.58±0.0 <sup>c</sup>	72.16±0.0 <sup>b</sup>	70.85±0.0 <sup>a</sup>	**
a*	-0.835±0.0 <sup>c</sup>	-1.16±0.0 <sup>b</sup>	-1.49±0.0 <sup>a</sup>	**
b*	3.05±0.0 <sup>c</sup>	1.605±0.0 <sup>b</sup>	1.2±0.0 <sup>a</sup>	**

<sup>a</sup> : Tartarik asit cinsinden; <sup>b</sup> : asetik asit cinsinden; ± : standart sapma değerleri; F: varyans analizine göre farklılık durumu; ö.d : p>0.05 düzeyinde önemsizdir \* : farklılığın p<0.05 düzeyinde önemli olduğunu; \*\* : farklılığın p<0.01 düzeyinde önemli olduğunu ifade eder.

Narince şaraplarının genel özelliklerinin verildiği Çizelge 4.2 incelendiğinde Sc-1088, Td-214 ve karışık kültüre ait şarapların pH değerleri sırasıyla 3.66, 3.68 ve 3.71 bulunmuştur. Üç farklı denemenin pH değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Sc-1088, Td-214 ve karışık kültür şaraplarının toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden sırasıyla 6.05 g/L, 7.04 g/L, 6.56 g/L bulunmuştur. Td-214 şarabının toplam asit miktarı diğer iki şaraba göre daha yüksek bulunmuştur. Bu üç şarabın asit miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Yapılan bir çalışmada sek şaraplarda tartarik asit cinsinden toplam asit miktarı 4.5 g/L ile 9 g/L arasında değişmekle birlikte kalite açısından en uygun miktarın 6-7 g/L arasında olduğu ve pH değerinin 2.7-3.8 aralığında olması gerektiği belirtilmiştir (Ough ve Amerine, 1988).

*S. cerevisiae*-1088 suşu kullanılarak üretilen Narince şarabının alkol miktarı hacmen %11.6, *T. delbrueckii*-214 suşu kullanılarak üretilen şarabın alkol miktarı hacmen %10.12 ve her iki suşun kullanılmasıyla üretilen Narince şarabının alkol miktarı hacmen %11.48 olarak tespit edilmiştir. *T. delbrueckii*-214 suşu kullanılarak üretilen Td-214 şarabında fermantasyon tam bitmediği için üretilen alkol miktarı diğer iki şaraba göre düşük olmuştur. Üç farklı denemenin alkol değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Belly ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışmada saf kültürde kullanılan *T. delbrueckii* 31703 suşu hacmen %10.47 oranında, *S.cerevisiae* (Zymaflore ST) suşu hacmen %14.10 alkol, karışık kültür fermantasyonunda ise hacmen %13.17 oranında alkol üretildiği tespit edilmiştir. Alkol, şarapların karakteristik tat ve kokusu üzerine etki eden önemli bileşenlerden biridir (Akman ve Yazıcıoğlu, 1960). Türk Gıda Kodeksi şarap tebliğine göre; şarabın hacmen gerçek alkol miktarı en az % 9, toplam alkol miktarı en fazla % 15 olmalıdır (Anonim, 2009). Buna göre çalışmada elde edilen alkol değerlerinin literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmektedir.

Uçar asitler, alkol fermantasyonu ile oluşan bileşiklerdir ve bunların önemli bir kısmını asetik asit oluşturur. Uçar asit miktarı Sc-1088 şarabında asetik asit

cinsinden 0.40 g/L, Td-214 şarabında 0.58 g/L ve karışık kültür ile elde edilen şarapta ise 0.43 g/L olarak belirlenmiştir. *T. delbrueckii*-214 suşu kullanılarak üretilen Td-214 şarabında asetik asit miktarı diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda tespit edilmiştir. Bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Türk Gıda Kodeksi şarap tebliğine göre uçar asit miktarı asetik asit cinsinden beyaz şaraplar için en fazla 18 meq/L (1.08 g/L) olmalıdır. (Anonim, 2009). Çalışmada elde edilen uçar asit değerleri mevzuata uygun bulunmuştur. Belly ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada *T. delbrueckii*, *S. cerevisiae* ve karışık kültür kullanılarak üretilen şaraplardaki uçar asit miktarını asetik asit cinsinden sırası ile 0.47 g/L, 0.89 g/L ve 0.56 g/L olarak tespit etmişlerdir. *T. delbrueckii* kullanılarak elde edilen şarapların uçar asit miktarlarının daha düşük olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu veriler sonucunda *T. delbrueckii*'nin fermantasyon boyunca üretilen yüksek uçar asit miktarına çözüm olabileceği belirtmişlerdir.

*T. delbrueckii*-214 suşu kullanılarak üretilen Td-214 şarabında gliresrol miktarı 7.4 g/L, *S. cerevisiae*-1088 suşu kullanılarak üretilen Sc-1088 şarabında gliserol miktarı 5.9 g/L, her iki maya suşu kullanılarak üretilen karışık kültür şarabında ise gliserol miktarı 6.1 g/L olarak bulunmuştur. Değerler incelendiğinde *T. delbrueckii*-214 suşunun *S. cerevisiae*-1088 suşuna göre daha yüksek miktarda gliserol ürettiği tespit edilmiştir. Gliserolün büyük bir kısmı alkol fermantasyonu sırasında üretilir. Gliserol, sek ve dömi-sek şaraplarda 5- 14 g/l miktarlarında bulunur. Gliserolün algılanma eşik değeri 5.2 g/l'dir ve kokusuz, renksiz bir bileşik olan gliserol şarabın viskozitesini artırır ve kıvamlı bir yapı verir (Swiegers ve ark., 2005).

Şeker miktarı Sc-1088 şarabında 3.82 g/L, Td-214 şarabında 22.31 g/L, karışık kültür fermantasyonu ile elde edilen şarapta ise 4.80 g/L olarak tespit edilmiştir. *T. delbrueckii*-214 suşu kullanılarak üretilen Td-214 şarabında fermantasyon tamamlanmadığı için kalan şeker miktarı diğer iki şaraba göre daha yüksek değerde olmuştur. Fermantasyonda kullanılan mayalar şekeri parçalamaları

bakımından belirgin farklılıklar göstermiştir. Bu iki şarabın şeker miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Şarapların üçünde de tartarik ve malik asit saptanmıştır.

Parlaklıktan koyuluğa gidişi ifade eden L değeri 1088 şarabında 75.6, 214 şarabında 72.2 ve karışık kültür şarabında 70.8 olarak belirlenmiştir. Pozitifken kırmızılığa, negatifken yeşillığe işaret eden  $a^*$  değeri Sc-1088 şarabında -0.84, Td-214 şarabında -1.16 ve karışık kültür şarabında -1.49 olarak ölçülmüştür. Pozitifken sarılığı negatifken maviliği gösteren  $b^*$  değeri sc- 1088 şarabında 3.05, Td-214 şarabında 1.61 ve karışık kültür şarabında ise bu değer 1.2 olarak belirlenmiştir. Şarapların renk değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $p<0.01$ ).

Şarabın yapılmasında, olgunlaştırılmasında ve şişede saklanmasında kükürt dioksitin ( $SO_2$ ) çok büyük rolü vardır. Aktif kükürt dioksitin şaraptaki fonksiyonları şöyle özetlenebilir: a) Biyolojik etkili olup bakteri ve yabancı mayaların gelişmesini kontrol eder. b) Enzimleri inaktive edici etkili olup şıra ve şarabı oksidasyonlara karşı korur. c) İndirgeyici özellikte olup şarabın oksidasyonunu önler. d) Olgunlaşmaya olumlu katkı sağlar (Güven, 2008). Sc-1088, Td-214 şaraplarında ve karışık kültür fermantasyonu ile elde edilen şarapta toplam kükürt miktarı sırası ile 55 mg/L, 57 mg/L, 56.5 mg/L olarak tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde beyaz şarapların kükürt miktarının en fazla 200 mg/L olabileceği bildirilmiştir (Anon, 2011). Çalışmada tespit edilen değerler mevzuata uygun bulunmuştur.

#### 4.2.3 Narince Şaraplarının Aroma Maddeleri Bileşimi

Narince şaraplarında belirlenen aroma maddelerinin miktarları kimyasal yapılarına göre gruplandırılarak Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çizelgedeki konsantrasyonlar üç farklı enjeksiyonun ortalaması olup,  $\mu\text{g/L}$  olarak ifade edilmiştir. Aroma maddelerinin tanımlanmasında kütle spektroskopisinin

kütüphanesinden, aroma maddeleri standartlarından ve alıkonma indisi değerlerinden yararlanılmıştır.

Çizelge 4.3.Narince Şaraplarında Belirlenen Toplam Aroma Maddeleri\*

<b>Bileşikler (µg/L)</b>	<b>Sc-1088</b>	<b>Td-214</b>	<b>K.k.</b>
<b>Yüksek Alkoller</b>	179954.5	173169.9	206580.3
<b>Esterler</b>	12228.4	6969.3	12684.9
<b>Uçucu Asitler</b>	10534.6	5436.9	9897.1
<b>Laktonlar</b>	2073.1	1417.9	2060.4
<b>Kükürtlü bileşikler</b>	s	56.4	s
<b>Karbonil Bileşikleri</b>	308.0	1448.5	299.1
<b>Uçucu Fenoller</b>	253.2	265.7	204.6
<b>6C'lu Bileşikler</b>	1784.6	1637.1	1685.1
<b>Genel Toplam</b>	203278.7	187290.3	229666.0

\* : Sonuçlar üç ekstraksiyon tekrerrünün ortalaması olarak verilmiştir.

Narince şaraplarında toplam 51 adet aroma maddesi tanımlanmıştır. Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi Sc-1088 şarabında toplam 49 adet aroma maddesi tanımlanmış olup bunların toplam miktarı 203 mg/L olarak bulunmuştur. Td-214 şarabında toplam 49 adet aroma maddesi tanımlanmış olup toplam miktarı 187 mg/L olarak bulunmuştur. Karışık kültür fermentasyonu ile elde edilen şarapta ise toplam 49 adet aroma maddesi tanımlanmış olup toplam miktarı 229 mg/L olarak bulunmuştur. Tanımlanan aroma bileşikleri arasında yüksek alkol, ester ve uçucu asitlerin her üç şarapta da miktar olarak en fazla bulunan bileşikler olduğu tespit edilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi saf kültür *S cerevisiae*-1088 suşu esterleri uçucu asitleri ve laktonları *T. delbrueckii*-214 suşuna göre daha yüksek miktarda üretirken, karbonil bileşiklerini daha düşük miktarda üretmiştir.

**4.2.3.1 Yüksek Alkoller**

Yüksek alkoller alkol fermantasyonunun yan ürünüdür ve aroma maddeleri içerisinde miktar olarak önemli bir yere sahiptir. Yüksek alkoller, alifatik (düz zincir) ve aromatik yapıda bulunurlar. Şaraplardaki yüksek alkollerin miktarı 0.1-0.3 g/L arasında değişmektedir. Maya metabolizması sonucunda sekonder bileşik olarak açığa çıkan başlıca yüksek alkoller; izoamil alkol, izobütanol, 2-fenil etanol ve 1-propanoldür (Etiévant,1991). Maya suşunun Narince şaraplarının yüksek alkollerine etkisi Çizelge 4.4'te verilmiştir.



Çizelge 4.4. Maya suşunun Narince Şaraplarının Yüksek Alkolleri Üzerine Etkisi

Yüksek alkoller (µg/l)	LRI	ID	Sc-1088	Td-214	K.k.	F
1-propanol	1034	A,B,C	1224.5 ±64.8 <sup>a</sup>	1702.4 ±7.1 <sup>b</sup>	1283.0 ±4.9 <sup>a</sup>	**
İzobutil alkol	1027	A,B	9123.2 ±153.7	10621.5 ±62.1	10649.2 ±1012.5	ö.d
1-bütanol	1143	A,B,C	309.6 ±29.7 <sup>a</sup>	617.9 ±1.0 <sup>c</sup>	400.5 ±5.0 <sup>b</sup>	**
İzoamil alkol	1224	A,B,C	144208.6 ±1146.1 <sup>b</sup>	120544.6 ±757.7 <sup>a</sup>	167996.0 ±459.4 <sup>c</sup>	**
4-metil-1-pentanol	1290	A,B	149.9 ±0.12 <sup>c</sup>	67.9 ±3.4 <sup>a</sup>	133.5 ±0.63 <sup>b</sup>	**
3-pentanol	-	-	67.2 ±0.59 <sup>a</sup>	104.1 ±1.8 <sup>c</sup>	73.7 ±1.3 <sup>b</sup>	**
3-etoksi-1-propanol	1364	A,B	43.9 ±0.81 <sup>c</sup>	741.6 ±1.0	162.9 ±5.2 <sup>b</sup>	**
1-heptanol	-	-	175.0 ±21.3 <sup>b</sup>	89.8 ±23.5 <sup>a</sup>	80.4 ±4.7 <sup>a</sup>	*
2,3-bütandiol	1513	A,B	1371.7 ±19.6 <sup>c</sup>	771.6 ±8.67 <sup>a</sup>	1029.1 ±42.6 <sup>b</sup>	**
1,3-bütandiol	-	-	239.7 ±0.8 <sup>b</sup>	296.5 ±1.6 <sup>c</sup>	215.9 ±13.9 <sup>a</sup>	**
Methionol	1737	A,B,C	590.7 ±5.7 <sup>a</sup>	1746.6 ±8.2 <sup>c</sup>	722.7 ± 11.3 <sup>b</sup>	**
Benzil alkol	1912	A,B,C	59.9 ±3.6 <sup>c</sup>	36.2 ±1.7 <sup>a</sup>	46.9 ±0.4 <sup>b</sup>	**
2-fenil etil alkol	1941	A,B	32738.2 ±584.2 <sup>a</sup>	48153.0 ±337.7 <sup>c</sup>	35718.7 ±765.3 <sup>b</sup>	**
<b>Toplam</b>			<b>179954.5</b>	<b>173169.9</b>	<b>206580.3</b>	

LRI: Linear alkolünma indeksi DB-WAX kapılar kolon üzerinde hesaplanmıştır.; Konsantrasyon: µg/l olarak 3 farklı enjeksiyon sonucunun ortalamasıdır.; ID: Tanımlama ; A: Standart kimyasal madde, B: Kütle spektrometresi kütüphanesi, C: Linear alkolünma indeksi ; F: Varyans analizine göre farklılık durumu; ö.d. : p>0.05 önem düzeyinde önemsizdir.; \*: farklılığın p<0,05 düzeyinde önemli olduğunu, \*\*: farklılığın p<0,01 düzeyinde önemli olduğunu ifade eder.

Çizelge 4.4'te de görüldüğü gibi her üç şarabında da 13 adet yüksek alkol bileşiği belirlenmiştir. Yüksek alkollerin toplam miktarı Sc-1088 şarabında 179954.5 µg/L, Td-214 şarabında 173169.9 µg/L ve karışık kültür fermantasyonu ile elde edilen şarapta 206580.3 µg/L olarak hesaplanmıştır. Şaraplarda belirlenen yüksek alkol bileşiklerinin miktarları arasındaki fark izobütil alkol dışında istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.

Her üç şarap örneğinde de izoamil alkol miktar olarak en fazla bulunan bileşik olup bunu 2-fenil etil alkol ve izobütil alkol izlemiştir. İzoamil alkol şaraplarda bulunan temel yüksek alkoldür. İzoamil alkol miktarı Sc-1088 şarabında 144 mg/L, Td-214 şarabında 120 mg/L, karışık kültür şarabında ise 167 mg/L olarak hesaplanmış ve şarapların tamamında izoamil alkol miktarı algılanma eşik değerinin (30 mg/L) üzerinde bulunmuştur. Narince şarplarının izoamil alkol değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,01$ ). Görüldüğü gibi saf kültürde *S. cerevisiae*-1088 suşu *T. delbrueckii*-214 suşuna göre daha yüksek miktarda izoamil alkol üretmiştir ve karışık kültür kullanılarak elde edilen şarapta izoamil alkol miktarı diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda bulunmuştur.

Şaraplarda öne çıkan diğer bir yüksek alkol ise 2-fenil etanoldür. 2-fenil etanol aromatik bir alkol olup algılanma eşik değerinin (10 mg/L) üzerinde şaraba bal, gül kokuları ile katkı sağlar (Fleet, 2008). Narince şaraplarında 2-fenil etanol miktarı en yüksek Td-214 şarabında (48 mg/L) belirlenmiş olup, bunu sırasıyla karışık kültür şarabı (35 mg/L) ve Sc-1088 şarabı (32 mg/L) izlemiştir ve bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,01$ ). Görüldüğü gibi *T. delbrueckii*-214 şusu *S. cerevisiae*-1088 suşuna göre daha yüksek miktarda 2-fenil etanol üretmiştir.

Şaraplarda izobütil alkol miktarı 9 mg/L ile 10 mg/L arasında bulunmuştur. İzobütil alkol algılanma eşik değerinin (40 mg/L) üzerinde füzal benzeri kokular verir. Narince şaraplarında izobütil alkol algılanma eşik değerinin altında bulunmuştur.



Methionol şaraplara pişmiş patates kokusu vermektedir ve methionolün algılanma eşik değeri 1 mg/L dir (Azzolini ve ark., 2015). Td-214 şarabının (1746.6 µg/L) methionol miktarı, Sc-1088 şarabı (590.9 µg/L) ve karışık kültür şarabına (722,7 µg/L) göre daha fazla bulunmuştur ve bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Azzolini ve ark. (2015), saf kültür *S. cerevisiae* suşu ile *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* (Td1) karışık kültür kullanarak ürettikleri Chardonnay şarabında methionol miktarını sırası ile 878.6 µg/L ve 1527.7 µg/L olarak tespit etmişlerdir.

#### 4.2.3.2 Esterler

Şarapta bulunan esterler, fermantasyon sırasında mayalar tarafından oluşturulur, ancak bazı esterler üzümde de az miktarlarda bulunmaktadır. Fermantasyon koşulları ve fermantasyon için seçilen maya suşu oluşan esterlerin konsantrasyonunu ve türlerini etkilemektedir (Vilanova ve ark., 2000).

Şarap aromasını oluşturan en önemli bileşiklerden biri olan esterler, yüksek alkollerin asetatları (özellikle etil asetat, izoamil asetat, hekzil asetat ve 2-feniletıl asetat) ve yağ asitlerinin etil esterleri (özellikle C4, C6, C7, C8, C10 karbonlular) olmak üzere iki gruba ayrılabilirler (Darıcı, 2011). Yağ asitlerinin ve asetatların etil esterleri şaraptaki temel uçucu bileşenler olarak tanımlanırlar. Şaraplardaki toplam miktarları çoğu zaman 100 mg/L'nin altındadır ve meyvemsi, çiçeksi aromanın başlıca kaynağıdır (Etievant, 1991; Ribereau-Gayon ve ark., 2000). Maya suşunun Narince şaraplarının ester bileşikleri üzerine etkisi Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Maya suşunun Narince Şaraplarının Ester Bileşikleri Üzerine Etkisi

Esterler (µg/l)	LRI	ID	Sc-1088	Td-214	K.K.	F
İzoamil asetat	1132	A,B,C	1336.7±37 <sup>b</sup>	646.6±0.0 <sup>a</sup>	1565.2±62.7 <sup>c</sup>	**
Etil hekzanoat	1238	A,B,C	1403.6±6.4 <sup>b</sup>	826.5±8.2 <sup>a</sup>	1438.5±41.6 <sup>b</sup>	**
Hekzil asetat	1222	A,B,C	202.6±7.1 <sup>b</sup>	117.9±0.0 <sup>a</sup>	190.3±12.1 <sup>b</sup>	**
Etil laktat	1321	A,B,C	609.0±8.5 <sup>a</sup>	978.2±4 <sup>c</sup>	775.6±18.3 <sup>b</sup>	**
Etil oktanoat	1439	A,B,C	1226.1±8 <sup>a</sup>	173.8±5 <sup>b</sup>	1052.6±10.7 <sup>c</sup>	**
Etil-3-hidroksibütirat	1483	A,B	109.2±1 <sup>b</sup>	S	116.4±1.9 <sup>c</sup>	**
Asetik asit metoksi etil ester	-	-	77.6±1.3	84.5±1.3	90.1±8.6	ö.d
Etil dekanooat	1634	A,B,C	300.3±1.2 <sup>c</sup>	28.3±2.2 <sup>a</sup>	232.2±7.3 <sup>b</sup>	**
Dietil süksinat	1640	A,B	248.9±5.1 <sup>c</sup>	152.2±4 <sup>a</sup>	216.0±4 <sup>b</sup>	**
1,3-propilen diasetat			194.5±6.8 <sup>a</sup>	258.1±0.5 <sup>c</sup>	223.8±6.4 <sup>b</sup>	**
Etil-4-hidroksibütanoat	1483	B,C	4202.7±21.9 <sup>c</sup>	656.6±0.0 <sup>a</sup>	3945.1±120.7 <sup>b</sup>	**
Etil laurate	-	-	83.2±3.3 <sup>c</sup>	26.6±1.4 <sup>a</sup>	73.6±0.3 <sup>b</sup>	**
Dietil dl-malat	2058	A,B	115.2±2	108.3±10.1	116.8±0.9	ö.d
Etil hekzadekanoat	-	-	234.1±12 <sup>b</sup>	132.9±2.1 <sup>a</sup>	124.4±6.1 <sup>a</sup>	**
Etil hidrojen süksinat	2342	A,B,C	1884.5±106.8 <sup>a</sup>	2778.7±63.9 <sup>c</sup>	2524.4±169.8 <sup>b</sup>	**
<b>Toplam</b>			<b>12228,4</b>	<b>6969,3</b>	<b>12684,9</b>	

LRI: Linear alkonma indeksi DB-WAX kapilar kolon üzerinde hesaplanmıştır; Konsantrasyon: µg/l olarak 3 farklı enjeksiyon sonucunun ortalamasıdır.; ID: Tanımlama ; A: Standart kimyasal madde, B: Kütle spektrometresi kütüphanesi, C: Linear alkonma indeksi; F: Varyans analizine göre farklılık durumu; ö.d. : p>0.05 önem düzeyinde önemsizdir.; \*\*: farklılık p<0,01 düzeyinde önemli olduğunu ifade eder.

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi Sc-1088 şarabında 15 adet ester bileşiği tanımlanmış olup toplam miktarı 12228.4 µg/L, T214 şarabında 14 adet ester bileşiği tanımlanmış olup toplam miktarı 6969.3 µg/L ve karışık kültür şarabında 15 adet ester bileşiği tanımlanmış olup toplam miktarı 12684.9 µg/L olarak

bulunmuştur. Her üç şarapta da en fazla miktarda bulunan bileşik etil hidrojen süksinatıdır. Bu bileşiğin miktarı Sc-1088 şarabında 1884.5 µg/L, Td-214 şarabında 2778.7 µg/L ve karışık kültür şarabında ise 2524.4 µg/L olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi *T. delbrueckii*-214 suşu *S. cerevisiae*-1088 suşuna göre daha yüksek miktarda etil hidrojen süksinat üretmiştir.

Td-214 şarabının izoamil asetat miktarı (646.6 µg/L), Sc-1088 şarabı (1336.7 µg/L) ve karışık kültür şarabına göre (1565.2 µg/L) daha düşük bulunmuştur. Azollini ve ark. (2015) saf kültür *S.cerevisiae* ve karışık kültür *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* (Td1) kullanarak elde ettikleri şarapların izoamil asetat miktarlarını sırası ile 1337.7 4µg/L ve 748.24 µg/L olarak tespit etmişlerdir.

Sc-1088, Td-214 ve karışık kültür şaraplarının etil hekzanoat miktarı sırası ile 1403.6 µg/L, 826.5 µg/L ve 1438.5 µg/L olarak hesaplanmıştır ve şaraplarda etil hekzanoat algılanma eşik değerinin (14 µg/L) üzerinde bulunmuştur. Fakat Td-214 şarabının etil hekzanoat miktarı diğer iki şaraba göre düşük bulunmuştur.

Sc-1088, Td-214 ve karışık kültür şaraplarında etil oktanoat miktarı sırası ile 1226.1 µg/L, 173.8 µg/L, 1052.6 µg/L olarak hesaplanmıştır. 214 şarabının etil oktanoat miktarı diğer iki şaraba göre oldukça düşük miktarda bulunmuştur.

Etil-3-hidroksibütirat bileşiği Sc-1088 ve karışık kültür şarabında sırası ile 109.2 µg/L ve 116.4 µg/L olarak tespit edilmişken Td-214 şarabında bulunamamıştır.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre şarapların dietil dl-malat ve asetik asit metoksi etil ester bileşiklerinin miktarları arasındaki fark önemli bulunmamış olup, kullanılan endojen maya suşunun diğer ester bileşiklerinin miktarı üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

#### 4.2.3.3 Uçucu Asitler

Şarapta birçok farklı asit türü olmasına rağmen, yağ asitleri aroma bileşiklerinin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Yağ asitleri, esas olarak fermantasyon sırasında mayaların ve bakterilerin biyosentezinden

kaynaklanmaktadır ve bunların en önemlileri asetik, bütanoik, hekzanoik, 3-metil bütanoik ve oktanoik asitlerdir (Vilanova ve ark. 2013; Canatar, 2017). Maya şuşunun Narince şaraplarının uçucu asitleri üzerine etkisi Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Maya şuşunun Narince Şaraplarının Uçucu Asitleri Üzerine Etkisi

Uçucu asitler ( µg/l)	LRI	ID	Sc-1088	Td-214	K.k.	F
Asetik asit	1423	A,B,C	2319.0±30 <sup>c</sup>	1446.3±10 <sup>a</sup>	1709.2±163 <sup>b</sup>	**
Propanoik asit	1495	A,B	71.8±0.7 <sup>b</sup>	53.5±0.5 <sup>a</sup>	71.7±2.2 <sup>b</sup>	**
İsobutirik asit	1588	A,B	373.1±4.7 <sup>b</sup>	1052.1±6.6 <sup>a</sup>	526.5±23.8 <sup>c</sup>	**
Bütanoik asit	1620	A,B	295.5±4 <sup>b</sup>	211.6±3.6 <sup>a</sup>	338.4±14.8 <sup>c</sup>	**
İsovalerik asit	1665	B,C	633.0±11.4 <sup>b</sup>	365.1±5.1 <sup>a</sup>	625.8±14.3 <sup>b</sup>	**
hekzanoik asit	1873	A,B,C	2355.7±70.2 <sup>b</sup>	787.6±3 <sup>a</sup>	2381.1±62.9 <sup>b</sup>	**
Trans-2-hekzanoik asit	-	-	134.9±56	150.1±13.7	128.3±6.4	ö.d
Oktanoik asit	2071	A,B,C	3383.2±112.7 <sup>b</sup>	624.6±3.2 <sup>a</sup>	3152.6±98.2 <sup>c</sup>	**
Nonanoik asit	-	-	101.5±26.9 <sup>a</sup>	94.1±1 <sup>a</sup>	70.6±5.6 <sup>a</sup>	ö.d
N-dekanoik asit	2264	A,B,C	573.1±36.6 <sup>b</sup>	40.6±1.2 <sup>a</sup>	623.3±16 <sup>c</sup>	**
9-dekanoik asit	2335	A,B	293.9±17.3 <sup>a</sup>	611.4±11.2 <sup>b</sup>	269.5±9.5 <sup>a</sup>	**
<b>Toplam</b>			<b>10534.6</b>	<b>5436.9</b>	<b>9897.1</b>	

LRI: Linear alikonma indeksi DB-WAX kapılar kolon üzerinde hesaplanmıştır.; Konsantrasyon: µg/l olarak 3 farklı enjeksiyon sonucunun ortalamasıdır.; ID: Tanımlama ; A: Standart kimyasal madde, B: Kütle spektrometresi kütüphanesi, C: Linear alikonma indeksi ; F: Varyans analizine göre farklılık durumu; ö.d. : p>0.05 önem düzeyinde önemsizdir.; \*\*: farklılığın p<0,01 düzeyinde önemli olduğunu ifade eder.

Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi her bir şarap örneği için 11 adet uçucu asit bileşiği tanımlanmıştır. Bunların toplam mikrarı Sc-1088 şarabında 10534.6 µg/l, Td-214 şarabında 5436.9 µg/l ve karışık kültür fermantasyonu ile elde edilen şarapta 9897.1 µg/l olarak hesaplanmıştır. *T. delbrueckii*-214 suşu ile üretilen Narince şarabı *S. cerevisiae*-1088 suşu ile üretilen şaraplara göre daha düşük miktarda uçucu asit değerine sahip olmuştur.

Sc-1088, Td-214 şarapları ve karışık kültür fermantasyonu ile elde edilen şarabın asetik asit miktarı sırası ile 2319 µg/L, 1446.6 µg/L, 1709.2 µg/L olarak tespit edilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda şarabın aromasını güçlendiren asetik asit, yüksek konsantrasyonlarda şaraba ekşi-zayıf bir tat vererek istenmeyen bir aroma meydana getirmektedir. Asetik asitin Narince şaraplarındaki miktarları değerlendirildiğinde algılanma eşik değerinin (200 mg/L) altında kaldığı görülmektedir. Tataridis ve ark. (2013), sentenik şırayı *S. cerevisia* (Sc12) ve *T. delbruecki* (Td28) ile fermente etmişlerdir ve asetik asit miktarını sırası ile 0.15 g/L ve 0.16 g/L olarak tespit etmişlerdir.

Td-214 şarabının izobütirik asit (1052.1 µg/L) miktarı, Sc-1088 (373.1 µg/L) ve karışık kültür şarabına (526.5 µg/L) göre daha yüksek miktarda bulunmuştur. Td-214 şarabının hekzanoik asit miktarı (787.6 µg/L) ise Sc-1088 (2355.7 µg/L) şarabı ve karışık kültür şarabına (2381.1 µg/L) göre daha düşük miktarda bulunmuştur.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre şarapların trans-2-hekzanoik asit ve nonanoik asit bileşiklerinin miktarları arasındaki fark önemli bulunmamış olup, kullanılan endojen maya suşundaki farklılık diğer uçucu asit bileşiklerinin miktarına etkisi önemli bulunmuştur (p<0.01).

#### 4.2.3.4. Laktonlar

Laktonların büyük bir kısmı maya faaliyeti sonucunda oluşmaktadır. Şaraplarda fermantasyon sırasında oluşan en önemli lakton bileşiği γ-bütirilaktondur. Bu lakton Ehrlich yoluyla glutamik asitin dekarboksilasyonu ve

deaminasyonu ile oluşan  $\gamma$ -hidroksibutirik asitin laktonizasyonu ile oluşur. Ancak bu bileşik aynı zamanda üzümde de gelebilir (Ribereau-Gayon ve ark., 2000). Maya suşunun Narince şaraplarının laktonları üzerine etkisi Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Maya suşunun Narince Şaraplarının Laktonları Üzerine Etkisi

Laktonlar ( $\mu\text{g/L}$ )	LRI	ID	Sc-1088	Td-214	K.k.	F
Gama-bütürolakton	1610	A,B	1726.8 $\pm$ 12.8 <sub>b</sub>	1185.2 $\pm$ 4.5 <sup>a</sup>	1770.9 $\pm$ 46.4 <sup>b</sup>	**
Pantolakton	2020	A,B	83.9 $\pm$ 22.3 <sup>a</sup>	146.7 $\pm$ 2.7 <sup>b</sup>	59.6 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	**
4-etoksikarbonil - $\gamma$ - bütürolakton	2200	A,B	262.4 $\pm$ 7.3 <sup>c</sup>	85.9 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	229.9 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	**
Toplam			<b>2073.1</b>	<b>1417.9</b>	<b>2060.4</b>	

LRI: Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapılar kolon üzerinde hesaplanmıştır.; Konsantrasyon:  $\mu\text{g/l}$  olarak 3 farklı enjeksiyon sonucunun ortalamasıdır.; ID: Tanımlama ; A: Standart kimyasal madde, B: Kütle spektrometresi kütüphanesi, C: Linear alıkonma indeksi ; F: Varyans analizine göre farklılık durumu; \*\*: farklılığın  $p<0,01$  düzeyinde önemli olduğunu ifade eder.

Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi Sc-1088, Td-214 ve karışık kültür şarabında 3'er adet lakton bileşiği tespit edilmiştir ve toplam miktarı sırası ile 2073,1  $\mu\text{g/L}$ , 1417,9  $\mu\text{g/L}$ , 2060,4  $\mu\text{g/L}$  olarak saptanmıştır. Kullanılan endojen maya suşlarının lakton bileşiklerindeki miktarında farklılık oluşturduğu tespit edilmiştir.

Narince şaraplarında en fazla bulunan bileşik  $\gamma$ -bütürolakton olup miktarları Sc-1088 şarabında 1726,8  $\mu\text{g/L}$ , Td-214 şarabında 1185,2  $\mu\text{g/L}$  ve karışık kültür şarabında ise 1770,9  $\mu\text{g/L}$  olarak bulunmuştur.

4-etoksikarbonil  $\gamma$ -bütürolakton miktarı Td-214 şarabında (85,9  $\mu\text{g/L}$ ) Sc-1088 (262,4  $\mu\text{g/L}$ ) şarabı ve karışık kültür şarabına (229,9  $\mu\text{g/L}$ ) göre daha düşük miktarda bulunmuştur. Her üç şarabın lakton bileşiklerinin miktarı arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur( $p<0,01$ ).

#### 4.2.3.5. Uçucu Fenoller

Uçucu fenoller üzümde bulunan fenolik asitlerin, fermantasyon sırasında mayalarda bulunan dekarboksilaz enziminin etkisiyle, parçalanması sonucu oluşurlar ve kuvvetli kokulara sahiptirler (Cabaroğlu, 2003). Şaraplarda bulunan başlıca uçucu fenoller; 4-vinil fenol (5-1200 µg/L), 4-vinil gaiakol (5-1200 µg/L), 4-etil fenol (0,1-500 µg/L) ve 4-etil gaiakol (0,1-400 µg/L)'dur. 4-vinil fenol ve 4-vinil gaiakol miktarları 800 µg/L'nin üzerine çıktığında şaraplarda hoş olmayan kokular (plastik kokusu) oluşturmaktadırlar (Pisarnitskii, 2001). Maya suşunun Narince şaraplarının uçucu fenollerine etkisi Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Maya suşunun Narince Şaraplarının Uçucu Fenollerine Üzerine Etkisi

Uçucu Fenoller (µg/l)	LRI	ID	Sc-1088	Td-214	K.k.	F
2-metoksi-4-vinilfenol	2193	A,B	198.6±0.9 <sup>b</sup>	215.3±3.4 <sup>c</sup>	172.4±5.6 <sup>a</sup>	**
Asetovanilon	2569	A,B	54.6±0.5 <sup>c</sup>	50.3±3.3 <sup>b</sup>	32.2±0.2 <sup>a</sup>	**
<b>Toplam</b>			<b>253.2</b>	<b>265.7</b>	<b>204.6</b>	

LRI: Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapılar kolon üzerinde hesaplanmıştır.; Konsantrasyon: µg/l olarak 3 farklı enjeksiyon sonucunun ortalamasıdır.; ID: Tanımlama ; A: Standart kimyasal madde, B: Kütle spektrometresi kütüphanesi,; F: Varyans analizine göre farklılık durumu; \*\*: farklılığın p<0,01 düzeyinde önemli olduğunu ifade eder.

Narince şaraplarının her biri için toplam iki adet uçucu fenol bileşiği tanımlanmıştır ve toplam uçucu fenol miktarı Sc-1088 şarabında 253.2 µg/l, Td-214 şarabında 265.7 µg/l ve karışık kültür şarabında 204.6 µg/l olarak hesaplanmıştır. 2-metoksi-4-vinilfenol miktarı her üç şarapta da asetovanilon miktarına göre daha yüksek miktarda bulunmuştur. Fenol bileşiklerinin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( p<0,01).

2-metoksi-4-vinilfenol miktarı Sc-1088 şarabında 198.6 µg/l, Td-214 şarabında 215.3 µg/l ve karışık kültür şarabında 172.4 µg/l olarak tespit edilmiştir. Rodriguez-Bencomo ve ark. (2013), Airen üzümünden elde edilen beyaz şaraplarda 2- metoksi-4-vinilfenol'ün en yüksek miktarda bulunan uçucu fenol olduğunu bildirmişlerdir.

Şaraplardaki asetovanilon miktarı Sc-1088 şarabında 56.4 µg/L, Td-214 şarabında 50.3 µg/L ve karışık kültür şarabında 32.2 µg/L olarak hesaplanmıştır. Azollini ve ark. (2015) saf kültür *S. cerevisiae* ve karışık kültür *S. cerevisiae* + *T. delbrueckii* (Td1) mayalarını kullanarak elde ettikleri Vino Santo şaraplarındaki asetovanilon miktarını sırası ile 92.2 µg/l, 92.5 µg/l olarak tespit etmişlerdir.

#### 4.2.2.6. 6C'lu Bileşikler

6 karbonlu bileşikler, temel olarak üzümde bulunan linoleik ve linolenik asitten ard arda meydana gelen enzimatik reaksiyonlar sonucunda oluşurlar (Çelik, 2012). 6 karbonlu bileşikler oksijenli ortamda üzümlere uygulanan çöp ayırma, sıkma ve ezme gibi mekanik işlemler sırasında açığa çıkarlar (Darıcı, 2012). Üzüm ve şarapların yeşil ve otsu aromalarından kısmen sorumludur (Vilanova, 2013). Maya suşunun Narince şaraplarının 6C'lu bileşikleri üzerine etkisi Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Maya suşunun Narince Şaraplarının 6C'lu Bileşikleri Üzerine Etkisi

6C'lu Bileşikler (µg/L)	LRI	ID	Sc-1088	Td-214	K.k.	F
2-hekzanol	1250	A,B,C	295.0±20.3 <sup>c</sup>	200.0±9.02 <sup>a</sup>	246.4±13.8 <sup>b</sup>	*
1-hekzanol	1347	A,B,C	1249.6±25.9 <sup>a</sup>	1329.5±3.8 <sup>b</sup>	1228.9±18.6 <sup>a</sup>	*
E-3-hekzenol	-	-	136.8±4.1 <sup>c</sup>	3.2±0.5 <sup>a</sup>	116.4±2.4 <sup>b</sup>	**
Z-3-hekzenol	-	-	103.2±51	104.4±4.1	93.4±7	ö.d
Toplam			<b>1784.6</b>	<b>1637.1</b>	<b>1685.1</b>	

LRI: Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapılar kolon üzerinde hesaplanmıştır.; Konsantrasyon: µg/l olarak 3 farklı enjeksiyon sonucunun ortalamasıdır.; ID: Tanımlama ; A: Standart kimyasal madde, B: Kütle spektrometresi kütüphanesi, C: Linear alıkonma indeksi ; F: Varyans analizine göre farklılık durumu; ö.d. : p>0.05 önem düzeyinde önemsizdir.; \*: farklılığın p<0,05 düzeyinde önemli olduğunu, \*\*: farklılığın p<0,01 düzeyinde önemli olduğunu ifade eder.

Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi Sc-1088, Td-214 ve karışık kültür şaraplarında 4'er adet 6C'lu bileşik tanımlanmış ve toplam miktarları sırası ile 1784.6 µg/L, 1637.1 µg/L ve 1685.16 µg/L olarak bulunmuştur. Her üç şarap



örneğinde de baskın olan 6C'lu bileşik 1-hekzanoldür. Bu bileşiğin miktarı Sc-1088 şarabında 1249.6 µg/L, Td-214 şarabında 1329.5 µg/L ve karışık kültür şarabında 1228.9 µg/L bulunmuştur. Bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Belda ve ark. (2015), saf kültür *S. cerevisiae*, *T. delbrueckii* ve karışık kültür (*S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii*) kullanarak yaptıkları çalışmada 1-hekzanol miktarını sırası ile 1835.33 µg/l, 1859 µg/l, ve 1983 µg/l olarak tespit etmişlerdir.

#### 4.2.3.7. Narince Şaraplarında Tanımlanan Diğer Bileşikler

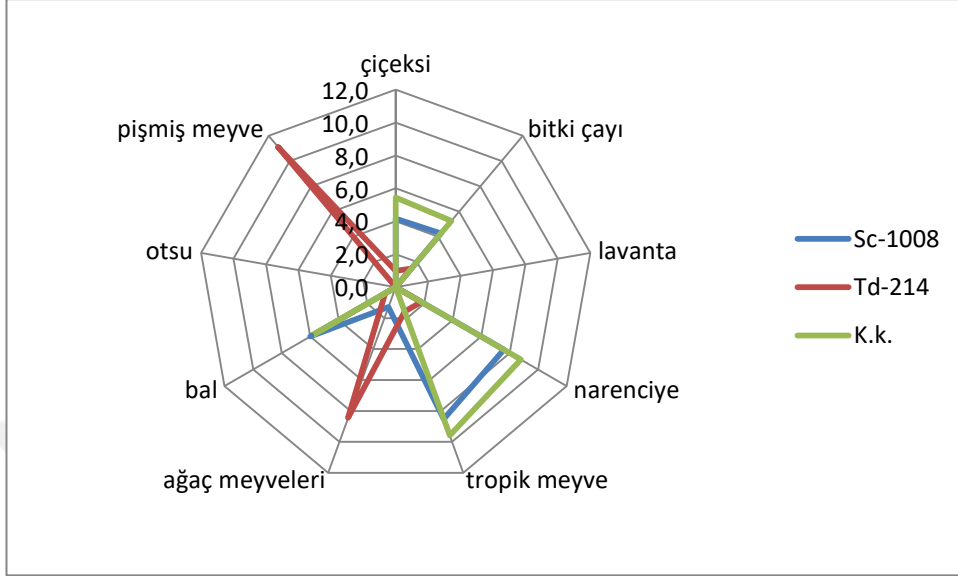
**Karbonil bileşikler:** Karbonil bileşikler çeşitli aldehit ve ketonları içerirler. Bu bileşikler fermantasyon sırasında mikroorganizmalar tarafından ortamdaki karbon kaynağına bağlı olarak karbonhidrat veya sitrat metabolizmasıyla, lipit oksidasyonu veya amino asit indirgenmesiyle oluşabilirler (Darıcı, 2011).

Narince şaraplarında karbonil bileşiği olarak sadece asetoin tespit edilmiştir. Td-214 şarabında asetoin miktarı (1448.5 µg/L) Sc-1088 (308 µg/L) ve karışık kültür şarabına (299.1 µg/l) göre daha yüksek miktarda bulunmuştur. Kullanılan maya suşlarının karbonil bileşiği üretiminde farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0,01$ ).

**Kükürtlü Bileşikler:** Narince şaraplarında kükürtlü bileşik olarak sadece Td-214 şarabında 2-(Metilthio)-etanol (56,4 µg/l) bileşiği tespit edilmiştir.

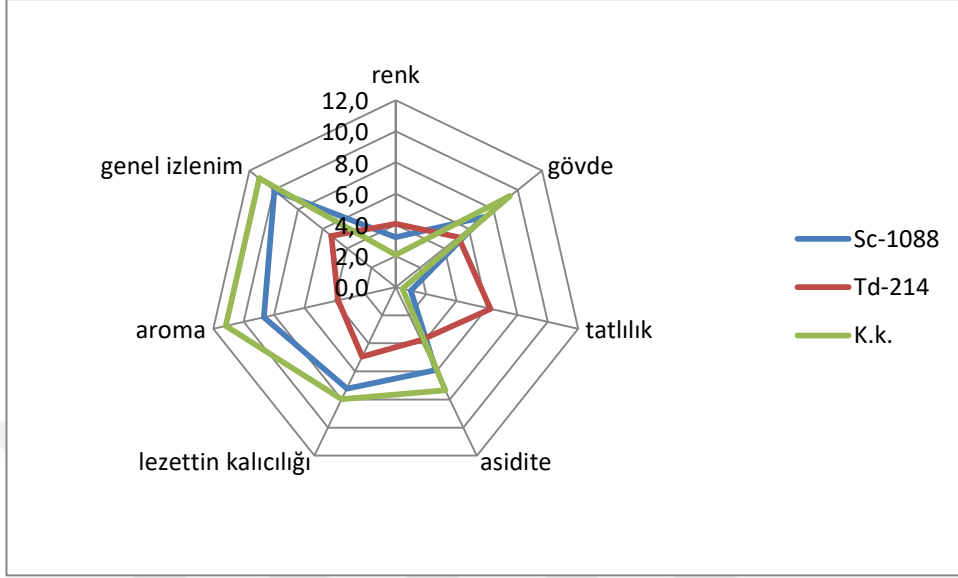
#### 4.2.4. Narince Şaraplarının Duyusal Özellikleri

Narince şaraplarının duyusal özellikleri koku ve lezzeti esas alan duyusal analiz ile değerlendirilmiştir. Analizler 7 kişilik bir panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Maya suşunun Narince şaraplarının koku ve lezzet profili üzerine etkisi örümcek ağı diyagramı üzerinde Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Maya şuşunun Narince Şaraplarının Koku Profili Üzerine etkisi

Koku profiline göre, tropik meyve (8.5), narenciye (7.6), bal (6.0) kokuları Sc-1088 şarabının karakterini oluşturmuştur. Pişmiş meyve (11.1), ağaç meyveleri (elma) (8.5) kokuları Td-214 şarabının karakterini belirlemiştir. Tropik meyve (9.6), narenciye (8.8), bal (5.9) kokuları karışık kültür şarabının karakterini oluşturmuştur. Bu koku kriterleri dikkate alındığında karışık kültür şarabının diğer şaraplara kıyasla panelistlerden daha yüksek puan aldığı belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Maya Şuşunun Narince Şaraplarının Lezzet Profili Üzerine Etkisi

Lezzet profiline göre şarap örnekleri renk açısından değerlendirildiğinde, şarapların açık sarı-yeşil renk tonuna yakın olduğu belirlenmiştir. Ağızda, aroma bakımından karışık kültür şarabı (11.2) en yüksek puanı alırken, en düşük puanı Td-214 şarabı (3.8) almıştır. Asidite bakımından karışık kültür şarabı (8.0) en yüksek puanı alırken bunu 1088 (5.9) ve 214 (3.8) şarabı izlemiştir. Tatlılık bakımından en yüksek puanı Td-214 (6.2) şarabı almıştır ve kimyasal analiz sonucunda bulunan veriler ile de uyumluluk göstermektedir. Duyusal analiz sonuçlarına göre panelistler tarafından en çok beğenilen şarap karışık kültür şarabı olmuştur.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Tokat bölgesi Narince üzümünden yöreye özgü endojen *S. cerevisiae*-1088 ve *T. Delbrueckii*-214 maya suşu saf ve karışık kültürde kullanılarak beyaz şarap üretilmiş, bu şarapların genel bileşimleri ve aroma maddeleri belirlenmiş, kullanılan farklı suşların şarapların kalitesi üzerine etkisi kapsamlı olarak araştırılmıştır.

Çalışmada kullanılan şarapların aroma maddelerinin ekstraksiyonu sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile, tanımlanması ve miktarının tespiti ise GC-MS-FID tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Şarabın duyuşal özellikleri koku ve lezzeti esas alan duyuşal analiz ile değerlendirilmiştir.

Narince üzümünden elde edilen şıranın kimyasal analiz sonuçlarına göre SÇKM miktarı 20.4 °Briks, toplam asit miktarı 5.44 g/L (tartarik asit cinsinden), yoğunluğu 1.0872 g/cm<sup>3</sup>, pH değeri 3.60 bulunmuştur. Şıradaki glikoz konsantrasyonu 97.4 g/L ve früktoz miktarı 93.7 g/L ve indirgen şeker miktarı ise 190 g/L olarak bulunmuştur.

*S. cerevisiae*-1088 suşu kullanılarak üretilen Narince şarabının alkol miktarı hacmen % 11.6 pH'sı 3.66, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 6.05 g/L, uçar asit miktarı ise asetik asit cinsinden 0.40 g/L ve indirgen şeker miktarı 3.82 g/L olarak belirlenmiştir. *T. Delbrueckii* suşu kullanılarak üretilen Narince şarabının alkol miktarı hacmen % 10.12, pH'sı 3.68, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 7.04 g/L, uçar asit miktarı asetik asit cinsinden 0.58 g/L ve indirgen şeker miktarı 22.31 g/L olarak belirlenmiştir. Her iki suşun kullanılmasıyla üretilen karışık kültür Narince şarabının alkol miktarı ise hacmen %11.48, pH'sı 3.71, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 6.56 g/L, uçar asit miktarı ise asetik asit cinsinden 0.43 g/L ve indirgen şeker miktarı 4.80 g/L olarak belirlenmiştir. Bir non-*Saccharomyces* olan *T. delbrueckii*-214 maya suşunun *S. cerevisiae*-1088 maya suşuna göre daha düşük miktarda alkol ürettiği ve şekerin tamamını parçalayamadığı görülmüştür. Değerler incelendiğinde, endojen maya suşlarının

karışık ve saf kültürde kullanımların şarapların bileşimleri üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Narince şaraplarında 51 adet aroma maddesi tanımlanmıştır. Sc-1088, Td-214 ve karışık kültür şaraplarında 49'ar adet bileşik tanımlanmış, miktarları sırası ile 203 mg/L, 187 mg/L ve 229 mg/L bulunmuştur. Her üç şarapta da 13 adet yüksek alkol, 11 adet uçucu asit, 3 adet lakton, 2 adet uçucu fenol, 4 adet altı karbonlu bileşik, 1 adet karbonil bileşiği tanımlanmıştır. Td-214 şarabında 14 adet ester bileşiği ve 1 adet kükürtlü bileşik, Sc-1088 ve karışık kültür şarabında 15 adet ester bileşiği tanımlanmıştır. *Saccharomyces*, non-*Saccharomyces* ve karışık kültür kullanılarak elde edilen şarapların aroma bileşikleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Narince şaraplarında aroma bileşiklerinden yüksek alkoller, esterler ve uçucu asitler miktar olarak en fazla bulunan grup olmuştur. Şaraplarda yüksek alkollerden izoamil alkol miktar olarak en fazla bulunan bileşik olup bunu 2-fenil etil alkol ve izobütül alkol izlemiştir. İstatistiksel değerlendirmeler göz önünde bulundurulduğunda *Sacchoromyces* ve non-*Sacchoromyces* maya suşunun kullanımı yüksek alkoller üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Her üç şarapta da en fazla miktarda bulunan ester bileşiği etil hidrojen süksinattır. Kullanılan maya suşu birkaç ester hariç genel olarak ester bileşiklerinin miktarı üzerinde istatistiksel açıdan önemli düzeyde etkili olmuştur.

Duyusal değerlendirmeler neticesinde şarapların koku profiline göre tropik meyve, narenciye ve bal kokuları Sc-1088 ve karışık kültür şarabının karakterini oluşturduğu belirlenmiştir. Pişmiş meyve ve elma kokuları ise Td-214 şarabının karakterini oluşturmuştur. Lezzet profili sonuçlarına göre ise karışık kültür şarabı diğer şaraplara kıyasla daha gövdeli, canlı ve damakta uzun/kalıcı bulunmuş ve diğer ikisine göre tercih edilmiş ve bunu Sc-1088 şarabı izlemiştir.

Ülkemizde şarap fermantasyonunda yöreye özgü endojen non-*Saccharomyces* mayaların ve bunların *S. cerevisiae* ile birlikte kullanımı oldukça sınırlıdır. Endojen maya kullanımı yöreye özgü üzüm çeşitlerinin karakteristik

özelliklerine katkı sağlamakta ve kökeni kontrollü şarapların üretiminde önerilmektedir. Non-*Saccharomyces* maya suşları ise şarabın aroma karakterine zenginlik kazandırmaktadır. Narince şarabı ülkemizin kalite beyaz şarap veren önemli çeşitlerinden birisidir. Sonuç olarak, endojen *S. cerevisiae*-1088 X *T. delbrueckii* karışık kültürünün veya *S. cerevisiae*-1088 saf kültürünün Tokat yöresinde Narince üzümünden köken kontrollü kalite şarap üretiminde kullanılmasını öneriyoruz. Daha güvenilir sonuçlar almak için de aynı suşlarla benzer çalışmaların tekrarlanmasında yarar vardır.





## KAYNAKLAR

- Anonim, 2009. Turk Gıda Kodeksi Şarap Tebliği. Tebliği No: 2008/67, Resmi Gazetesayı 27131.
- Anonim, 2011. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katlı Maddeleri Yönetmeliği, Resmi Gazete, Sayı:28157 (3. Mükerrer) 29 Aralık 2011, Ankara.
- Anonymous, 2015. Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts – OIV.
- Altuğ, T. ve Elmacı, Y., 2005. Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Müh. Bölümü, Meta Basım Bornova, İzmir, 92s.
- Andorrà I., Berradre M., Mas A., Zarzoso B.E., Guillamón, J.M., 2012. Effect of mixed culture fermentations on yeast populations and aroma profile. LWT - Food Science and Technology 49, 8-13.
- Azzolini, M., Fedrizzi, B., Tosi, E., Finato, F., Vagnoli, P., Scrinzi, C., Zapparoli, G. 2012. Effects of *Torulaspota delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* mixed cultures on fermentation and aroma of Amarone wine. Eur. Food Res Technol., 235:303–313.
- Azzolini, M., Tosi, E., Lorenzini, M., Finato F., Zapparoli, G., 2015. Contribution to the aroma of white wines by controlled *Torulaspota delbrueckii* cultures in association with *Saccharomyces cerevisiae*. World J. Microbiol. Biotechnol., 31:277–293.
- Bağder, S., Özçelik, F. 2009. *Saccharomyces* dışındaki mayaların şarap aromasına etkileri. GIDA, 34 (4): 239-244.
- Bağder, S., 2008. Türkiyede değişik şarap ölgelerinden izole edilmiş şarap mayalarının teknolojik özellikleri. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 97s., Ankara.



- Balıkçı, E.K., Tangüler, H., Jolly, N.P., And Erten, H. 2016. Influence of *Lachancea thermotolerans* on cv. Emir wine fermentation. *Yeast* -33, 313–321.
- Belda, I., Navascués, E., Marquina, D., Santos, A., Calderon, F., Benito, S. 2015. Dynamic analysis of physiological properties of *Torulaspora delbrueckii* in wine fermentations and its incidence on wine quality. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (2015), 99:1911–1922.
- Bely, M., Stoeckle, P., Masneuf-Pomarède, I., Dubourdieu, D. 2008. Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*–*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation. *International Journal of Food Microbiology* Volume 122, Issue 3, 20 March 2008, Pages 312–320.
- Blanch, G.P., Reglero, G., Baumes, R.L., Cordonnier, R.E., 1985. A Comparison of Different Extraction Methods For Volatile Components of Grape Juice. *J. Chromatographic Sci.*, 29, 11-15.
- Blanco, P., Miras-Avalos, J.M., Suarez, V., And Orriols, I. 2012. Inoculation of Treixadura musts with autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains: Fermentative performance and influence on the wine characteristics. *Food Science and Technology International* 19(2), 177–186.
- Cabaroğlu, T. 2003. Üzümlerde aroma maddeleri ve şarapçılık açısından önemi. *Gıda*, 28(6), 599-605.
- Cabaroğlu, T., Canbaş, A., Günata, Z., Bayonove, C. 1999. Emir üzümünün şaraba işlenmesinde saf maya (*Saccharomyces cerevisiae*-K1) kullanımının aroma maddelerine etkisi. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 23, Ek Sayı 1, 137-143.
- Canatar, M., 2017. Küpte şarap: Ketengömlek üzümünden antik dönem yöntemiyle organik beyaz şarap üretimi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 77s., Adana.

- Canbaş, A., Cabaroğlu, T., 2000. Kabuk maserasyonunun İskenderiye Misketi üzüminden elde edilen şıradaki aroma maddeleri üzerine etkisi, Gıda Dergisi, 25(1), 61-68. Ziraat Fakültesi, Adana, (163)s.
- Castelli, T., 1955. Yeasts of wine fermentations from various regions of Italy. Am. J. Enol. Vitic. 6, 18-20.
- Ciani, M., Maccarelli, F., 1998. Oenological properties of non-Saccharomyces yeasts associated with wine-making. World Journal of Microbiology & Biotechnology 14, 199-203.
- Ciani, M., Beco, L., Comitini, F., 2006. Fermentation behaviour and metabolic interactions of multistarter wine yeast fermentations. International Journal of Food Microbiology 108, 239–245.
- Clemente-Jimenez, J.M., Mingorance-Cazorla, L., Martı'Nez-Rodrı'Guez, S., Las Heras-Va'Zquez, F.J., Rodrı'Guez-Vico, F., 2005. Influence of sequential yeast mixtures on wine fermentation. International Journal of Food Microbiology 98, 301– 308.
- Comitini, F., Gobbi , M., Domizio , P., Romani, C., Lencioni, L., Mannazzu , I., Ciani, M., 2011. Selected *non-Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. Food Microbiology 28, 873-882.
- Çelik, Z.D., 2012. Malolaktik fermantasyonun ve iki farklı malolaktik bakteri kültürünün (*oenococcus oeni* vp41, *oenococcus oeni* pn4) Kalecik karası şarabının aroma bileşikleri üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 63s., Adana.
- Darıcı, M., 2011. Denizli ilinin değişik rakımlı alt bölgelerinden sağlanan Çalkarası üzümlerinin ve bu üzümlerden elde edilen pembe şarapların aroma maddelerinin belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 85s., Adana

- De Andrés-De Prado, R., Yuste-Rojas, M., Sort, X., Andrés-Lacueva, C., Torres, M., Lamuela-Raventós, R.M., 2007. Effect of soil type on wines produced from *Vitis Vinifera* L. Cv. Grenache in commercial vineyards. *J. Agric. Food Chem.* 55, 779–786.
- Ergül, Ş. Ş., Özbaş Z. Y., 2009. Şarap fermantasyonlarında endojen çoklu starter kültürlerin kullanılma olanakları. *GIDA* , 34 (3): 183-191.
- Erten, H., 2002. Relations between elevated temperatures and fermentation behaviour of *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae* associated with wine making in mixed culture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18:373-378.
- Esteve-Zarzoso, B., Manzanares, P., Ramón, D., Querol, A., 1998 .The role of *non-Saccharomyces* yeasts in industrial winemaking. *Int Microbiol.*,1(2):143-8.
- Etievant, P.X., 1991. Wine. In *Volatile Compounds In Food And Beverages*, H., Maarse (Ed.), 483-546. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Ferreira V, Lopez R, Cacho F.J., 2000. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *J Sci Food Agric* 80:1659–1667.
- Fleet, G. H., 2008. “Wine yeasts for the future. *Federation of European Microbiological Societies. Yeast Research*, 8, 979-995.
- Gobbi, M., Comitini F., Domizio P., Romani C., Lencioni L., Mannazzu I., Ciani, M., 2013. *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: A strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine. *Food Microbiology* 33, 271-281
- Güven, S., 2008. Şarap üretimi ve kalite kontrolü. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Yayın no: 003.

- Herjavec, S., Jeromel, A., Prusina, T., Maslov, L., 2008. Effect of cold maceration time on Žilavka wines composition. Journal Of Central European Agriculture, 9(3).
- Jolly, N. P., Augustyn, O. P. H., Pretorius, I. S., 2006. The Role and Use of Non-*Saccharomyces* Yeasts in Wine Production. S. Afr. J. Enol. Vitic., Vol. 27, No. 1.
- Jolly, N.P., Augustyn, O.P.R., Pretorius, L.S., 2003. The Effect of non-*Saccharomyces* yeasts on fermentation and wine quality. S. Afr. J. Enol. Vitie., Vol. 24, No.2.
- Kalkan, H., Ve Aktan, N., 1999. Bornova misketi üzüm çeşidinden Dömisek ve Carignane üzüm çeşidinden sek şarap üretiminde farklı mayaların kaliteye etkisi üzerine bir araştırma. Gıda, 24(4):225-235.
- Kayalar, M., 2015. Tokat İlinde Farklı Yörelerde Yetiştirilen Narince Üzüm Çeşidinden Üretilen Şarapların Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 72 s., Tokat
- Loira, I. , Vejarano, R., Banuelos M.A., Morata, A., Tesfaye, W., Uthurry , C., Villa,A. , I. Cintora , Suarez-Lepe, J.A. 2014. Influence of sequential fermentation with *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on wine quality. Food Science and Technology 59 , 915-922.
- Moreno, J. J., Millán, C., Ortega, J. M., Medina, M. 1991. Analytical differentiation of wine fermentations using pure and mixed yeast cultures. Journal of Industrial Microbiology, Volume 7, Issue 3, 181-189.
- Nurgel, C., 2000. Emir ve Kalecik karası üzümünün saraba islenmesinde maya florasındaki gelişmeler ve fermantasyonda kullanılan mayaların kalite üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 161 s., Adana.

- Nurgel C., Erten H., Canbaş A., Cabaroglu T., Selli S., 2006. Yeast flora during the fermentation of wine made from *Vitis vinifera* L.cv Emir and Kalecik Karası grown in Anatolia, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 21 : 1187-1194.
- Ough, C.S. And Amerine, M.A., 1988. *Methods for analysis of must and wines*. John Wiley and Sons. New York.
- Özçelik, F., Denli, Y. 1999. şarap mayalarının teknolojik özellikleri. *GIDA*, 24(6),385-389.
- Rojas, V., Gil, J. V., Pinaga, F., Manzanares, P., 2003.Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. *International Journal of Food Microbiology* 86, 181– 188.
- Pisarnitskii A. F., 2001. Formation of wine aroma: tones and imperfections caused by minor components. *App. Biochem. Microbio.*, 37(6), 552-560.
- Priser, C., Etievant, P.X., Niclaus, S., Brun, O., 1997. Representative Champagne Wine Extract for Gas Chromotography Olfactometry Analysis. *J. Argic. Food Chem.*, 45, 3511-3514. 535s.
- Rencher, A.C., 2002. *Methods of Multivariate Analysis, Second Edition*.Wiley Online Library.
- Ribéreau-Gayon P, Gloires, Y.,Maujean, A., Dubourdieu, D., 2000. *Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments*, John Wiley and Sons, Ltd., England.
- Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu, D., Doneche, B., Lonvaud, A., 2006. *Handbook of Enology Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinivication*. John Wiley and Sons, Ltd., England.

- Rodríguez-Bencomo, J. J., Selli, S., Muñoz-González, C., Martín-Álvarez, P. J., Pozo-Bayón, M. A., 2013. Application Of Glycosidic Aroma Precursors To Enhance The Aroma And Sensory Profile Of Dealcoholised Wines. *Food Research International*, 51(2), 450-457.
- Schneider, R., Baumes, R., Bayanove, C., Razungles, A., 1998. Volatile compounds involved in the aroma of sweet fortified wines (Vins Doux Naturels) from Grenache Noir. *J. Agric. Food. Chem.* 46: 3230-3237.
- Schneider, R., Razungles, A., Augier, C., Baumes, R., 2001. Monoterpenic and Norisoprenoidic Glycoconjugates of *Vitis vinifera* L. cv. Melon B. As Precursors of Odorants in Muscadet Wines, *J. Chrom. A*, 936, 145-157.
- Segura-García, L. E., Taillandier, P., Brandam, C., Gschaedler, A. 2014. Fermentative capacity of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* in agave juice and semi-synthetic medium. *Food Science and Technology*, 1-8.
- Swiegers, J.H., Bartowsky, E.J., Henschke, P.A., Pretorius, I.S., 2005. Yeast and Bacterial Modulation of Wine Aroma and Flavor. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2), 139-173.
- Tadaridis, P., Kanellis, A., Logothetis, S., Nerantzis, E., 2013. Use of non-*Saccharomyces Torulaspora delbrueckii* yeast strains in winemaking and brewing. *Зборник Матице српске за природне науке / Jour. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad, No 124, 415-426.*
- Teixeira, A., Caldeira, I., And Duarte, F.L., 2014 Molecular and oenological characterization of Touriga Nacional non-*Saccharomyces* yeasts. *Journal of Applied Microbiology* 118, 658-671.
- Toro, M.E., And Vazquez, F., 2002. Fermentation behaviour of controlled mixed and sequential cultures of *Candida cantarellii* and *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts.

- Viana, F., Gil, J. V., Genoves, S., Valles, S., Manzanares P., 2008. Rational selection of non-Saccharomyces wine yeasts for mixed starters based on ester formation and enological traits. *Food Microbiology* 25 , 778– 785
- Vilanova, M., Genisheva, Z., Graña, M. And Oliveira J.M., 2013. Determination of Odorants in Varietal Wines from International Grape Cultivars (*Vitis vinífera*) Grown in NW Spain.
- Zöhre, D.E., Erten, H., 2002. The influence of *Kloeckera apiculata* and *Candida pulcherrima* yeasts on wine fermentation. *Process Biochemistry* Volume 38, Issue 3, 319–324.

## ÖZGEÇMİŞ

27/02/1991 yılında Adıyaman'da doğdu. 2009 yılında Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde okumaya başladı ve 2014 yılında mezun oldu. 2015 yılında Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. 2017 yılında Şarköy Kayra Şarap Fabrikasında 4 ay stajyer mühendis olarak çalıştı. Halen Göklin İçecek Tütün Gıda San. ve Tic. Ltd. Şti.'de Gıda Mühendisi olarak çalışmakta.

