

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEYAZ ŞARAP ÜRETİMİNDE SICAKLIK KONTROLÜ

M. DENİZ BOZOĞLU

Danışman Öğretim Üyesi
Prof. Dr. Mustafa ALPBAZ

ANKARA
2006

Beyaz Şarap Üretiminde Sıcaklık Kontrolü

ÖZET

Şarap üretiminde, şarap kalitesini belirleyen bir çok özellik vardır. Yapılan çalışmada, beyaz üzüm şarabı ve beyaz elma şarabında önemli olan parametrelerden sıcaklık, pH ve SO₂ derişiminin etkileri incelenmiştir. Bu amaçla tam iki seviyeli deneysel tasarım yöntemi kullanılarak seçilen bu 3 bağımsız değişken ile bağımlı değişken olarak belirlenen etil alkol derişimi arasındaki ilişki modellenmiştir. Aynı zamanda sıcaklığın üretimde en etkili parametre olduğu gözlemlenmiştir. Narince üzümünden elde edilen üzüm suyundan *Saccharomyces cerevisiae* Narince 3 kullanılarak beyaz şarap üretilmiş ve 8 günlük fermentasyon boyunca sıcaklık 18 °C'de Proportional Integral Derrivative (PID) yöntemi kullanılarak kontrol edilmiştir. Ayrıca kuramsal ve deneysel çalışmalar göz önünde bulundurularak Vişne, Nar, Mandalina, Kalecik karası şarapları üretilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Beyaz şarap, Fermentasyon, Sıcaklık kontrolü, Optimizasyon

Temperature Control of White Wine Production

ABSTRACT

There are many affecting parameters which effect quality and which are important for wine production. In the present work, the affect of temperature, pH and SO₂ concentration which are some of the importance parameters of white grape and white apple wine productions are investigated. For this purpose these three variables mentioned are chosen as independent variables by using two level factorial experimental design method, and than the model between these three independent variables and ethiyl alcohol concentration which is a dependent variable is obtained. In addition, it is noted that temperature is the most effective parameter of the production. The production temperature white wine is controlled at 18 °C during 8 days by using Proportional Integral Derivative (PID) control algorithm. Cherry, pomegranate, tangerine, Kalecik Karası grape wines are also produced in the light of experimental and theoretical studies mentioned above.

Key Words: white wine, fermentation, tempreture control, optimization

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca destek ve yardımlarını almaktan mutluluk ve onur duyduğum danışmanım Prof. Dr. Mustafa ALPBAZ ve değerli hocam Prof. Dr. Hale HAPOĞLU'na teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince benden yardımlarını ve bilgilerini esirgmeden bana destek olan sevgili hocalarım Doç.Dr. Bülent AKAY, Arş.Gör.Dr. Suna ERTUNÇ, Gıda Yüksek Mühendisi Safiye KARAAĞAÇ ve Kimya Yüksek Mühendisi Havva BOYACIOĞLU'na teşekkür ederim. Ayrıca elim yandığında deneylerimin bir kısmına yardım eden sevgili arkadaşım Biyolog Dimitrius ANASTASIOU'ya teşekkür ederim.

Proses Kontrol Laboratuvarı grup arkadaşlarım, Suna AHİOĞLU, İsmail ÇELİK, Funda KILIÇ, Mirac DEMİRBAŞ'a şarap üretimi sırasında her türlü desteklerini benden esirgemedikleri ve benimle gece gündüz laboratuvarında çalıştıkları için teşekkür ederim.

Şimdiye kadar eğitimim için maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme, en çok da ablam Sevim BOZOĞLU'na, ağabeylerim Salman BOZOĞLU'na ve Sami BOZOĞLU'na teşekkür ederim. Son olarak tez çalışmalarım süresince sevgileri ile sürekli yanımda olan canım yeğenlerim Başar BOZOĞLU'na, Başak BOZOĞLU'na ve anneleri sevgili yengem İlkay BOZOĞLU'na teşekkür ederim.

M.Deniz BOZOĞLU
Ankara, Nisan 2006

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
3. KURAMSAL TEMELLER.....	5
3.1. Şarap Üretimi	5
3.1.1. Fermentasyon	8
3.2. Şarap Fermentasyonunda Önemli Olan Faktörler	10
3.2.1. Üzüm kalitesi ve bileşenleri	10
3.2.2.Kükürtdioksit miktarı	10
3.2.3. pH değeri	11
3.2.3.1.Asidin toplam miktarı	12
3.2.3.2.Malik asitin tartarik asite oranı	12
3.2.3.3.Potasyum iyonu	12
3.2.4. Fermentasyon için kullanılan maya	13
3.2.4.1. Maya hücre yapısı.....	13
3.2.4.1.1. Hücre duvarı	13
3.2.4.1.2. Periplazmik bölge	13
3.2.4.1.3. Plazma membranı	13
3.2.4.1.4. Stoplazma ve organeller	14
3.2.4.1.5. Çekirdek (Nükleus)	14
3.2.4.2. Mayanın üremesi	14
3.2.4.2.1. Aseksüel üreme	14
3.2.4.2.2. Seksüel üreme	15
3.2.5. Sıcaklık	17
3.3. Şarabın Kimyasal Bileşimi	17
3.3.1. Su	18
3.3.2.Şeker.....	18
3.3.3.Etanol	18
3.3.4. Organik asitler	18
3.3.5. Gliserol	18
3.4. Şarap Üretiminde Sıcaklık Kontrolünün Önemi	19
3.5.Proses Modelleme	20
3.6.Proses Dinamiği	20
3.7.Kontrol Diyagramları ve Kontrol Elemanları	20
3.7.1.Geri beslemeli kontrol edici ve blok diyagramı	20
3.8. PID Kontrol Yöntemi	21
3.8.1. PID kontrol	21
3.8.2.PID kontrol parametrelerinin belirlenmesi	23
3.9. Tam İki Seviyeli Faktöriyel Deneysel Tasarım.....	23
4.MATERYAL VE YÖNTEM	25
4.1. Fermentasyon İçin Kullanılan Maya	25
4.1.2. Mayada tek koloni ekimi	25
4.1.3. Mayada canlı hücre sayımı	25
4.2. Fermentasyon Öncesi Yapılan Çalışmalar	26
4.3. Optimizasyon Deneyleri	28
4.3.1. Beyaz elma şarabı için yapılan optimizasyon.....	28
4.3.2. Beyaz üzüm şarabı için yapılan optimizasyon	29
4.4. Narince Üzümü Kullanılarak Yapılan Sıcaklık Kontrolü	29
4.5. On-line Sıcaklık Kontrolü	30
4.6. VISIDAQ Paket Programı	30
4.7. Meyve Suyu ve Şarap İçin Yapılan Ölçümler ve Analizler	30

5. ARAŞTIRMA BULGULARI	31
5.1. Amasya Elması Kullanılarak Yapılan Şarap Deneyi	31
5.2. İznik Üzümü Kullanılarak Yapılan Şarap Deneyi	32
5.3. Beyaz Elma Şarabı Üretiminin Optimizasyonu	36
5.3.1. Birinci grup deneyler	37
5.3.2. İkinci grup deneyler	39
5.3.3. Merkez nokta deneyleri.....	44
5.4. Beyaz Üzüm(Hasandede) Şarabı İçin Yapılan Optimizasyon Deneyi.....	48
5.4.1. Narince üzümü kullanılarak yapılan fermentasyon	52
5.5. Beyaz Üzüm Şarabında Dinamik Deneyi	54
5.6. Beyaz Üzüm Şarap Fermentasyonunda PID Yöntemi ile Sıcaklık Kontrolü	57
5.6.1. PID parametrelerinin bulunması	57
5.6.2. PID yöntemi ile sıcaklık kontrolü	57
5.7. Meyve Şarapları	64
6.TARTIŞMA VE SONUÇLAR	65
KAYNAKLAR	67
EKLER	69
Ek 1. Amasya Elması ve İznik Üzümü ile Yapılan Şarap Çalışması.....	70
Ek 1.1. Elma şarabı için deney başlangıcı ve sonunda yapılan hesaplar.....	71
Ek 1.2. İznik üzümü kullanılarak yapılan şarapta hesaplamalar (1 nolu deney).....	72
Ek 1.3. İznik üzümü kullanılarak yapılan şarapta hesaplamalar (2 nolu deney).....	73
Ek 2. Beyaz Elma Şarabı ile Yapılan Optimizasyon Deneyi.....	74
Ek 2.1. Birinci grup deneyler için hesaplamalar.....	85
Ek 2.2. İkinci grup deneyler için hesaplamalar.....	87
Ek 2.3. Merkez nokta deneyleri için yapılan hesaplamalar.....	89
Ek 2.4. Beyaz elma şarabından elde edilen grafikler.....	90
Ek 3. Hasandede Üzümü ile Yapılan Optimizasyona Ait Ölçümler.....	93
Ek 4. Narince Üzümü ile Yapılan Deneylerin Ölçümleri	96
Ek 4.1. Hasandede üzümü ve Narince üzümü ile yapılan hesaplamalar.....	96
Ek 5. GC-MS Analiz Sonuçları.....	98
Ek 5.1. Laboratuvar ölçekli kontrol çalışmasında günlük alkol oluşumunun GC/MS ile analiz sonuçları.....	98
Ek 5.2. Pilot ölçekte yapılan dinamik deneyinde günlük etil alkol oluşumunun GC/MS ile analiz sonuçları.....	102
Ek 5.3. Hasan Dede üzümü ile yapılan şarabın GC/MS ile analiz sonuçları.....	106
Ek 5.4. Beyaz elma şarabında yapılan optimizasyon deneyinin GC/MS ile analiz sonuçları.....	111
ÖZGEÇMİŞ	119

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1a. Beyaz üzüm şarabı üretim şeması.....	6
Şekil 3.1b. Kırmızı şarap üretim şeması.....	7
Şekil 3.2. Fermentasyon yol izi.....	9
Şekil.3.3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> türüne ait hücre yapısı	14
Şekil 3.4. <i>S.cerevisiae</i> türünde tomurcuklanma ile üreme.....	15
Şekil 3.5. <i>S. cerevisiae</i> türüne ait olan seksüel üreme	16
Şekil 3.6. <i>Sacharomyces cerevisiae</i>	16
Şekil 3.7. Kapalı devre blok diyagramı.....	21
Şekil 3.8. PID kontrol sisteminin blok diyagramı	22
Şekil 3.9. Proses reaksiyon eğrisi.....	23
Şekil 4.1. Thoma lamı.....	26
Şekil 4.2. Beyaz şarap üretiminde genel olarak izlenen proses.....	27
Şekil 5.1. Elma şarabında pH değişimi	31
Şekil 5.2. Farklı iki sıcaklıkta İznik üzümü fermentasyonunda günlük ağırlık değişimi	34
Şekil 5.3. Farklı iki sıcaklıkta İznik üzümü fermentasyonunda toplam ağırlık değişimi	35
Şekil 5.4. Yüksek sıcaklık İznik üzümü fermentasyonunda (25°C) pH değişimi.....	35
Şekil 5.5. Düşük sıcaklık İznik üzümü fermentasyonunda (20°C) pH değişimi	36
Şekil 5.6. Beyaz elma şarabı optimizasyon deneylerinde günlük toplam ağırlık değişimi.....	41
Şekil 5.7. Beyaz elma şarabı optimizasyon deneylerinde fermentasyon süresince ağırlık azalması	42
Şekil 5.8. Beyaz elma şarabı 1 nolu optimizasyon deneyinde pH değişimi	42
Şekil 5.9. Beyaz elma şarabı 2 nolu optimizasyon deneyinde pH değişimi	43
Şekil 5.10. Beyaz elma şarabı 5 nolu optimizasyon deneyinde pH değişimi	43
Şekil 5.11. Beyaz elma şarabı 6 nolu optimizasyon deneyinde pH değişimi.....	44
Şekil 5.12. Sıralandırılmış veri grafiği	46
Şekil 5.13. Veri dağılımı grafiği	47
Şekil 5.14. Dex ortalama grafiği	48
Şekil 5.15. Hasandede üzümü optimizasyon deneylerinde fermentasyon süresince günlük ve toplam ağırlık değişimi.....	50
Şekil 5.16. Hasandede üzümü optimizasyon deneylerinde fermentasyon süresince oluşan ağırlık değişimi.....	51
Şekil 5.17. Narince üzümü fermentasyonunda günlük ağırlık değişimi	53
Şekil 5.18. Narince üzümü fermentasyonunda günlük toplam ağırlık değişimi	53
Şekil 5.19. Narince Üzümü pilot ölçekli fermentasyonda dinamik deney.....	55
Şekil 5.20. Narince Üzümü pilot ölçekli fermentasyonda etil alkol oluşumu	56
Şekil 5.21. Narince Üzümü pilot ölçekli fermentasyonda mayanın gelişimi	57
Şekil 5.22. Beyaz şarap fermentasyonunda PID kontrolü	58
Şekil 5.23. PID kontrolde soğutma suyu akış hızı değişimi.....	59
Şekil 5.24. Beyaz şarap fermentasyonunda soğutma suyu sıcaklığına verilen pozitif etki altında PID kontrolü.....	60
Şekil 5.25. Beyaz şarap fermentasyonunda soğutma suyu sıcaklığına verilen pozitif etki altında PID kontrolünde soğutma suyu akış hızı değişimi	60
Şekil 5.26. Soğutma suyu sıcaklığına verilen pozitif etki	60
Şekil 5.27. Beyaz şarap fermentasyonunda set noktasına verilen negatif etki altında PID kontrolü.....	61
Şekil 5.28. Beyaz şarap fermentasyonunda set noktasına verilen negatif etki altında PID kontrolünde soğutma suyu akış hızı değişimi.....	61
Şekil 5.29. Beyaz şarap fermentasyonunda set noktasına verilen pozitif etki altında PID kontrolü.....	62
Şekil 5.30. Beyaz şarap fermentasyonunda set noktasına verilen pozitif etki altında PID kontrolünde soğutma suyu akış hızı.....	62
Şekil 5.31. PID kontrolü ile üretilen beyaz şarapta etil alkol oluşumu	63
Şekil 5.32. PID sıcaklık kontrolünde maya gelişimi.....	64
Şekil Ek. 2.1. 3 nolu deneyde pH değişimi.....	90
Şekil Ek. 2.2. 4 nolu deneyde pH değişimi.....	90
Şekil Ek. 2.3. 7 nolu deneyde pH değişimi.....	91
Şekil Ek. 2.4. 8 nolu deneyde pH değişimi.....	91
Şekil Ek. 2.5. Glikoz derişimi kalibrasyon grafiği.....	92

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Olgun üzüm için şeker, asit ve pH değerleri	10
Çizelge 3.2. Şarap içinde yer alan bazı önemli bileşikler (% w/w şarap)	19
Çizelge 3.3. 2 ⁿ faktöriyel deney için tasarım matrisi	24
Çizelge 4.1. Parametrelerin seviyeleri	28
Çizelge 4.2. Tam iki faktöriyel deneysel tasarım matrisi	28
Çizelge 4.3. Elma şarabı optimizasyonu için deneysel tasarım matrisi	29
Çizelge 4.4. Beyaz üzüm şarabı optimizasyonu için deney tasarım matrisi	29
Çizelge 5.1.1. Amasya elması fermentasyonunda viskozite ve yoğunluk değerleri	32
Çizelge 5.2.1. İznik üzümü fermentasyonunda (25°C) yoğunluk, viskozite, absorban değerleri	32
Çizelge 5.2.2. İznik üzümü fermentasyonunda (20°C) yoğunluk, viskozite, absorban değerleri	33
Çizelge 5.3.1. Parametrelerin seviyeleri	36
Çizelge 5.3.2. İki seviyeli tam deneysel tasarım yöntemi için optimum tasarım matrisi	37
Çizelge 5.3.3. Deneysel tasarım matrisi	37
Çizelge 5.3.4. Beyaz elma şarabı 1.grup optimizasyon deneylerinde yoğunluk, viskozite ve absorban için fermentasyon öncesi ve sonrası değerleri	38
Çizelge 5.3.5. Beyaz elma şarabı birinci grup optimizasyon deneyleri için GC-MS sonuçları	38
Çizelge 5.3.6. Beyaz elma şarabı 2.grup optimizasyon deneylerinde yoğunluk, viskozite ve absorban için fermentasyon öncesi ve sonrası değerleri	39
Çizelge 5.3.7. Beyaz elma şarabı İkinci grup deneyler için GC/MS sonuçları	40
Çizelge 5.3.8. Merkez nokta optimizasyon deneylerinde yoğunluk, viskozite, absorban için fermentasyon öncesi ve sonrası değerleri	44
Çizelge 5.3.9. Beyaz elma şarabı optimizasyon deneylerinde GC/MS sonuçları	45
Çizelge 5.3.10. Optimum tasarım matrisi	45
Çizelge 5.4.1. Deney tasarım matrisi	48
Çizelge 5.4.2. Canlı hücre sayısı	49
Çizelge 5.4.3. Hasanedede üzümü fermentasyonunda GC/MS sonuçları	52
Çizelge 5.4.4. Narince üzümü fermentasyonu GC/MS sonuçları	54
Çizelge Ek 1.1. Elma şarabı için alınan ölçümler	70
Çizelge Ek 1.2. İznik üzümü şarap ölçümü(1 nolu deney)	72
Çizelge Ek 1.3. İznik üzümü şarap ölçümü(2 nolu deney)	73
Çizelge Ek 2.1. Elma şarabı-1	74
Çizelge Ek 2.2. Elma şarabı-2	75
Çizelge Ek 2.3. Elma şarabı-3	76
Çizelge Ek 2.4. Elma şarabı-4	77
Çizelge Ek 2.5. Elma şarabı-5	78
Çizelge Ek 2.6. Elma şarabı-6	79
Çizelge Ek 2.7. Elma şarabı-7	80
Çizelge Ek 2.8. Elma şarabı-8	81
Çizelge Ek 2.9. Elma şarabı-9	82
Çizelge Ek 2.10. Elma şarabı-10	83
Çizelge Ek 2.11. Elma şarabı-11	84
Çizelge Ek 3.1. Deney no-1	93
Çizelge Ek 3.2. Deney no-2	93
Çizelge Ek 3.3. Deney no-3	93
Çizelge Ek 3.4. Deney no-4	94
Çizelge Ek 3.5. Deney no-5	94
Çizelge Ek 3.6. Deney no-6	94
Çizelge Ek 3.7. Deney no-7	95
Çizelge Ek 3.8. Deney no-8	95
Çizelge Ek 4.1. Deney no 1N	96
Çizelge Ek 4.2. Deney no 2N	96

SİMGELER DİZİNİ

$e(t)$	Gürültü
K	Yatışkın hal kazancı
K_c	Oransal sabit
N	PRBS girdi sinyali periyodu
Q_e	Hata sinyali
Q_o	Kontrol çıkış sinyali
r	Set noktası
$s(t)$	t anında sisteme etki eden sinyal
t	Zaman (s, dk veya st)
t_d	Kesikli zaman
T	Sıcaklık
$u(t)$	Ayarlanabilen değişken
$x(t)$	Ara değişken
$y(t)$	Çıktı değişkeni (etil alkol derişimi %v/v)
$\hat{y}(t)$	Modelden elde edilen çıkış değişkeni

Yunan Alfabesi

$\mathcal{E}(t)$	Gerçek çıkış değişkeni ile model çıkış değişkeni arasındaki fark
τ	Zaman sabiti
τ_D	Türevsel zaman sabiti
τ_I	İntegral zaman sabiti
μ	Viskozite
ρ	Yoğunluk

Kısaltmalar

ATP	Adenozin Tri Fosfat
Cfu	Colony forming unit
GC/MS	Gaz Kromatografi/Kütle spektrometri
Hsp	Heat shock protein
PID	Portional Integral Derivative

Temperature Control of White Wine Production

ABSTRACT

There are many affecting parameters which effect quality and which are important for wine production. In the present work, the affect of temperature, pH and SO₂ concentration which are some of the importance parameters of white grape and white apple wine productions are investigated. For this purpose these three variables mentioned are chosen as independent variables by using two level factorial experimental design method, and than the model between these three independent variables and ethiyl alcohol concentration which is a dependent variable is obtained. In addition, it is noted that temperature is the most effective parameter of the production. The production temperature white wine is controlled at 18 °C during 8 days by using Proportional Integral Derivative (PID) control algorithm. Cherry, pomegranate, tangerine, Kalecik Karası grape wines are also produced in the light of experimental and theorical studies mentioned above.

Key Words: white wine, fermentation, tempreture control, optimization

Beyaz Şarap Üretiminde Sıcaklık Kontrolü

ÖZET

Şarap üretiminde, şarap kalitesini belirleyen bir çok özellik vardır. Yapılan çalışmada, beyaz üzüm şarabı ve beyaz elma şarabında önemli olan parametrelerden sıcaklık, pH ve SO₂ derişiminin etkileri incelenmiştir. Bu amaçla tam iki seviyeli deneysel tasarım yöntemi kullanılarak seçilen bu 3 bağımsız değişken ile bağımlı değişken olarak belirlenen etil alkol derişimi arasındaki ilişki modellenmiştir. Aynı zamanda sıcaklığın üretimde en etkili parametre olduğu gözlemlenmiştir. Narince üzümünden elde edilen üzüm suyundan *Saccharomyces cerevisiae* Narince 3 kullanılarak beyaz şarap üretilmiş ve 8 günlük fermentasyon boyunca sıcaklık 18 °C'de Proportional Integral Derrivative (PID) yöntemi kullanılarak kontrol edilmiştir. Ayrıca kuramsal ve deneysel çalışmalar göz önünde bulundurularak Vişne, Nar, Mandalina, Kalecik karası şarapları üretilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Beyaz şarap, Fermentasyon, Sıcaklık kontrolü, Optimizasyon

1. GİRİŞ

Şarap, üzümde bulunan şekerin oksijensiz koşullarda *Saccharomyces cerevisiae* mayası tarafından enerji elde etmek amacıyla fermente edilmesi sonucu üretilen bir üründür. Ülkemizde, şarapta sıcaklık kontrolü üzerine yapılan akademik çalışmalara rastlanılmamıştır. Yurt dışı yapılan araştırmalarda ise şarap ile ilgili çalışmaların daha özelleştiği “Enology” (Oenology=Şarap Bilimi) fakültelerinin bulunduğu görülmüştür. Bu nedenle yapılan çalışma konu olarak ülkemizde bir ilki teşkil edecektir.

Tez kapsamında yapılan bu çalışmada sadece şarabın üretimi değil aynı zamanda kaliteyi etkileyen parametrelerin belirlenmesi, bu parametrelerin optimum değerlerinin bulunması ve fermentasyonu etkileyen önemli parametrelerden biri olan sıcaklığın kontrolünün yapılması amaçlanmıştır. Şarap üretimi, şarap mikrobiyolojisi, fermentasyon, şarap kimyası ve şarap üretiminde uygulanabilecek kontrol yöntemleri literatür çalışması yapılarak ayrı ayrı incelenmiştir.

Yapılan literatür çalışmalardan sonra şarap üretimi sırasında etkili olan parametreler ve bu parametrelerin minimum ve maksimum seviyeleri belirlenerek teorik bilgiler doğrultusunda beyaz elma şarabı ve beyaz üzüm şarabı üretilmiştir. Üretimde en çok etkili olan parametrelerden kükürt derişimi, pH ve sıcaklık bağımsız değişken, etil alkol derişimi bağımlı değişken olarak seçilmiş, tam iki seviyeli faktoriyel deneysel tasarım yöntemi uygulanmıştır. Doğrusal bir regresyon eşitliği ile bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki matematiksel olarak ifade edilmiştir.

Kükürt dioksit şaraba çok az miktarda eklendiğinde şarap için olumlu sonuçlar doğurmaktadır. Oksidasyonu engelleyen en uygun metodlardan biridir ve şarap üreticileri tarafından çoğunlukla tercih edilmektedir. Üzüm parçalanma-sıkılma aşamasında oksijen ile temas ederek oksitlenir ve üzüm suyunun rengi kararır. Renk koyulaşmasına sebep olan enzim polifenoloksidazdır. Enzim serbest kükürt dioksite oldukça duyarlıdır ve üzüm suyu sıkıldıktan sonra kullanılan kükürt enzimi deaktive ederek kararmayı engellemektedir (Eisenman 1999). Kükürtleme aynı zamanda fermentasyon sırasında yabancı mikroorganizmaların üzüm suyunda gelişmelerini engellemektedir. Fermantasyondan sonra oluşan şaraba eklenen çok az SO₂ (10-30 ppm) oluşan alkolün ve diğer bileşiklerin oksitlenerek yapısının bozulmasını engellemektedir (<http://www.vinovation.com/ArticleWinepH2.htm>).

Şarap pH'ı, şarabın kimyasal ve biyolojik yapısının bozunmadan korunması için önemli bir faktördür. Ayrıca pH şarabın asitlik değerini de etkileyebilmektedir. Şarap üreticileri şarap pH'ı için 3-3.5 aralığını önermektedirler. Düşük pH aralığında şarap bozunmadan korunmakta, kalite artmaktadır. Aynı zamanda düşük pH'da şarap üretimi, yabancı bakterilerin şarap içinde çoğalmasını engellemektedir. Diğer taraftan kullanılan başlatıcı (starter) kültür düşük pH aralığına tolerans göstermektedir.

Sıcaklık, fermentasyon hızını, şarap kalitesini ve oluşan ikincil metabolitlerin derişimini etkilediğinden dolayı alkolik fermentasyonun gelişmesinde en önemli parametrelerden biridir. Yüksek sıcaklıkta fermentasyon hızlı başlamasına rağmen, fazla olan hücre ölümünden dolayı şeker kullanımını azaltır. Düşük sıcaklıkta yapılan fermentasyonda ise, fermentasyon yavaş başlar fakat bütün şeker hızlı bir şekilde tüketilir. Çünkü proses boyunca canlı hücre sayısı yüksektir. Yüksek sıcaklıkta fermentasyon, kırmızı şarap üretimi için uygundur. Beyaz şarap üretimi için düşük sıcaklıkta fermentasyon tercih edilmektedir (Torija et al. 2003b). Yapılan çalışmalarda 15-40 °C aralığında fermentasyon gerçekleştirilmiş ve yüksek sıcaklıkta maya gelişiminin hızlı olduğu fakat, son maya derişiminin düşük olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak da yüksek sıcaklıkta gerçekleşen fermentasyonda ortamda biriken alkolün mayanın büyüme hızını engellediği açıklaması yapılmıştır. Düşük sıcaklıkta gerçekleşen fermentasyonda ise alkol oluşumu hızlı bir şekilde gerçekleşmediği için mayanın son derişimi ve canlılığı daha yüksek bulunmuştur (Nanba et al 1987).

Fermentasyon sırasında sıcaklık artışı hem dış çevreden hem de mayanın gelişimi sırasında açığa çıkan ısıdan kaynaklanmaktadır. Mikrobiyal büyüme, substrat kullanımı, etanol üretimi ve sıcaklık artışı şarap fermentasyonu sırasındaki maya metabolizmasındaki değişim ile ilgilidir. Substrat, enerji metabolizması ile

tüketilerek alkol oluşturulur. Isı ise bu enerji metabolizması sonucu açığa çıkmaktadır ve enerjinin bir kısmı da yeni hücreler oluşturmak için kullanılmaktadır (Özilgen et al.1991).

Şarapta karşımıza çıkan ve temel fermentasyon ürünü olan en önemli alkol bileşiği etanoldür. Etanol oluşumunu etkileyen birincil faktörler, üzümün şeker miktarı, fermentasyon sıcaklığı ve fermentasyon için kullanılan maya türüdür. Etanol şarabın kararlı olarak saklanması ve yaşlanması önemli bir bileşiktir. Fermentasyon sırasında oluşmaya başlaması ile yabancı mikroorganizmaların şarap içinde gelişmesini sınırlar ve *S. cerevisiae* türüne ait olan maya şarap içinde dominant hale gelir. Bu da şarap içinde istenmeyen ürünlerin oluşmasını engeller. Etanol, fermentasyon ve yaşlanma sırasında şarapta uçucu bileşiklerin oluşması içinde önemli bir bileşiktir. Etanolün çözücü özelliği, fermentasyon sırasında aromatik bileşiklerin CO₂ ile birlikte buharlaşmasına engel olur. Şarap içinde bulunan diğer alkoller ile birlikte organik asitler ile tepkimeye girerek esterlerin oluşmasını sağlar (Soleas et al. 1997). Bu nedenle şarap kalitesini nicel olarak belirleyen parametre olarak etil alkol derişimi seçilmiştir.

Golden tipi beyaz elma kullanılarak yapılan çalışmada sıcaklığın etil alkol derişimini etkileyen en önemli parametre olduğu gözlenmiştir. Tam iki seviyeli faktöriyel deneysel tasarım yöntemi kullanılarak, seçilen üç bağımsız değişkenin bağımlı değişken olan fermentasyon sonunda şaraptaki etil alkol derişimi arasındaki ilişki modellenmiştir. Üretilen şarapların analizi için GC/MS kullanılmıştır. Kükürt konsantrasyonu ve pH için en uygun değerler belirlenmiştir. Literatür çalışmaları ve deneysel olarak elde edilen veriler doğrultusunda fermentasyon sıcaklığı olarak 18 °C seçilmiştir. Elma şarabı ile yapılan bu çalışmalar beyaz üzüm kullanılarak da tekrar edilmiş ve sıcaklığın 18 °C'de sabit tutulduğunda etil alkol derişiminde artış olduğu görülmüştür. Aynı zamanda şarap analizlerinden safsızlık da incelenerek fermentasyon için seçilen sıcaklığın uygunluğu desteklenmiştir.

Yapılan çalışmada beyaz şarap, kesikli bir işletimde PID sıcaklık kontrolü yapılarak üretilmiştir. Sıcaklık kontrolü için sistem giriş değişkeni olarak soğutma suyu akış hızı seçilmiştir. Yaklaşık olarak 8 gün boyunca sistem kontrol edilmiş ve bu süre sırasında sisteme etki verilerek PID kontrol performansı incelenmiştir.

Fermentasyon sonucu oluşan şarabın kalitesini belirleyen bir çok nitel ve nicel parametreler vardır. Tez için yapılan bu çalışmada bu parametrelerden biri olan etil alkol konsantrasyonu seçilmiş, düşük sıcaklıkta beyaz şarap fermentasyonunda sıcaklık PID kontrol yöntemi kullanılarak kontrol edilmiş, etil alkol artışı baz alınarak kaliteli ve sağlıklı şarap üretimi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Leão ve Uden (1985), yaptıkları çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile gerçekleştirilen fermentasyonda, glikoz taşınımının sıcaklıkla olan ilişkisinde etanol ve diğer alkanollerin etkisini araştırmışlardır. Etanol, izopropanol, propanol ve butanol *S.cerevisiae* da glikoz transfer hızını inhibe etmektedir. Ayrıca sıcaklığın, etanollü ve etanolsüz ortamda glikoz transferine olan etkisi 15-35 °C aralığında incelenmiş ve etanol varlığında oluşan etki araştırılmıştır.

Nanba et al. (1987), yaptıkları çalışmada *Saccharomyces cerevisiae*'nin kesikli etanol fermentasyonu için kinetik analizini yapmışlardır. Etanol fermentasyonunda, düşük fermentasyon sıcaklığı mayanın yavaş gelişmesine sebep olmaktadır. Fakat, fermentasyon sonunda yüksek sıcaklık fermentasyonuna göre etanol derişimi ve canlı hücre sayısı daha fazla olmaktadır. Sıcaklığın mayanın gelişmesi ve etanol üretimi üzerine olan etkisi matematiksel olarak ifade edilmiştir. Elde edilen modelin, kültür sıcaklığının kontrol edilmesi yoluyla etanolün kesikli üretiminin optimizasyonu için uygun olabileceği önerilmiştir.

Özilgen et al. (1991), yaptıkları çalışmada, kendiliğinden gerçekleşen fermentasyon kinetiğini incelemişlerdir. Substrat tüketimi, etanol üretimi, mikroorganizma gelişmesi ve sıcaklık artışı fermentasyon sırasında gerçekleşen biyolojik olaylar ile ilgilidir. Kendiliğinden gerçekleşen fermentasyonda, fermentasyon tepkimesini farklı türdeki mikroorganizmalar gerçekleştirmektedir. Böyle bir fermentasyonda etanol üretimi ile biyokütle oluşumu ilişkilendirilip Luedeking-Piret eşitliği modifiye edilerek modellenmiştir. Prosesin etanol üretim fazında, toplam mikrobiyal büyüme, etanol birikimi ile azalmamaktadır. Bu olayın sıcaklık artışına etkisinin olduğu düşünülmektedir. Ayrıca etanol oluşumu ile birlikte alkol tolerans gösteremeyen mikroorganizmaların elimine edildiği gözlenmiştir.

López ve Secanell (1992), yaptıkları çalışmada, beyaz şarap fermentasyonu sırasında ısı oluşum hızının hesaplanabilmesi için bir matematiksel model oluşturmuşlardır. Deneyler sırasında Chardonnay ve Macobeo (Barcelona ve Lérida, İspanya) cinsi üzümler ile farklı sıcaklıklarda çalışılmıştır. Fermentasyon için 75 L'lik paslanmaz çelikten fermentör kullanılmış ve sıcaklık kontrolü 14, 18, ve 23°C sıcaklıklarda yapılmıştır.

Sablayrolles ve Barre (1993), tarafından yapılan çalışmada, izotermal ve izotermal olmayan koşullarda gerçekleşen fermentasyonda kinetik farklılıklar açıklanmıştır. Her iki koşulda yapılan fermentasyonlarda, son fermentasyon sıcaklıkları aynı tutulmuştur. Fermentasyon sonunda izotermal koşullarda gerçekleşen fermentasyon hızının izotermal olmayan koşullardakine göre daha hızlı olduğu gözlenmiştir.

Matínez et al. (1999), yaptıkları çalışmada, beyaz şarap üretimi için fuzzy kontrol sistemi uygulamışlardır. Beyaz şarap üretimi, izotermal fermentasyon çeşididir. Reaksiyon kinetiği, fermentasyonun sıcaklığına, şeker içeriğine ve kültürün toplam asitliğine bağlıdır. Fermentasyon kontrolü, soğutma suyuyla enerji tüketimini minimize eden bir temele dayanmaktadır. Sıcaklık kontrolü genellikle kolay olduğu için seçilmiştir. Fakat sıcaklık ile ilgili bilgiler fermentasyon gelişimi ile ilgili bir bilgi içermemektedir. Bu fermentasyonun güvenli koşullarda olup olmadığını gösterir. Fermentasyonun durumu, yoğunluk, pH, değişen basınç ya da oluşan CO₂ gibi parametreler ile belirlenebilir. Kontrolde fermentasyon hızı temel olarak alınmış ve fuzzy kontrol içeren çok değişkenli kontrol yöntemi uygulanmıştır.

Chiristaki ve Tzia (2002), şarap yapımında önemli olan parametreleri, üretim sonrası kalitenin nasıl korunması gerektiğini araştırmışlardır. Kırmızı ve beyaz şarap üretimindeki bütün basamakları inceleyerek üretimde etkili olan parametrelerin sınırlarını açıklamış, ayrıca şarabın insan sağlığı açısından da sağlıklı olarak üretilmesi gerektiğini savunmuşlardır.

Herrero et al. (2003), yaptıkları çalışmada, SO₂'in elma şarabı fermentasyonu sırasında oluşan etanol, asetaldehit, organik asit ve uçucu bileşiklerine olan etkisini araştırmışlardır. SO₂ şarap fermentasyonu sırasında kontaminasyonu engellemek amacıyla ve oksidize enzim inhibitörü olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Yasal sınırı <200 ppm olarak belirlenmiştir.

Torija et al. (2003a), yaptıkları çalışmada, fermentasyon sıcaklığının *Saccharomyces*'in hücre yağ asidi kompozisyonuna ve uçucu bileşikler üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Sıcaklık, fermentasyon kinetiği ve şarap içerisinde oluşan bileşiklerin konsantrasyonunu etkileyen çok önemli bir parametredir. Aynı zamanda farklı fermentasyon sıcaklıklarında maya lipid kompozisyonu değişmektedir. Bunun da mayanın metabolizmasında değişikliğe sebep olarak, büyüme hızını etkilediği savunulmuştur.

Torija et al. (2003b), yaptıkları çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* popülasyonu üzerine fermentasyon sıcaklığının etkisini araştırmışlardır. Bazı faktörler alkol fermentasyonunu önemli ölçüde etkilememektedir. Bu da direkt olarak şarap kalitesinin bozulması anlamına gelmektedir. Bunlardan en önemli olanlar üzüm suyunun (şıra) bileşenleri, seçilen maya ve bu mayaların diğer mikroorganizmalar ile etkileşimidir. Bu faktörlerden biri olan sıcaklık mayanın biyokimyasal reaksiyonunu direkt olarak etkileyerek fermentasyonda oluşan ikincil metabolitlerin konsantrasyonunda değişimine sebep olmaktadır.

Polychroniadou (2003), tarafından yapılan çalışmada, üzüm ve elma şarabı fermentasyonu sırasında oluşan bileşikler ve şarapta bozunmaya sebep olan faktörler incelenmiştir. Şarapta bozulma yetersiz SO₂ ve yabancı mikroorganizmaların şarapta üremesi, düşük konsantrasyonda oluşan alkol, şaraptaki yüksek şeker, sıcaklığın yüksek olması gibi sebeplerden kaynaklanmaktadır. Elma şarabı (cider) genellikle üzüm şarabına göre daha zor bozulmaktadır ve bunun sebebi olarak elmanın kimyasal bileşimi gösterilmektedir.

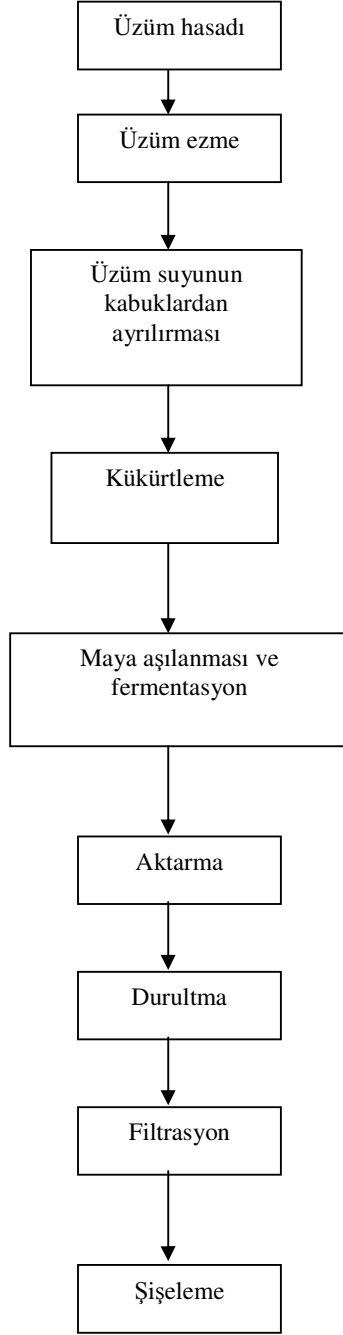
3. KURAMSAL TEMELLER

3.1. Şarap Üretimi

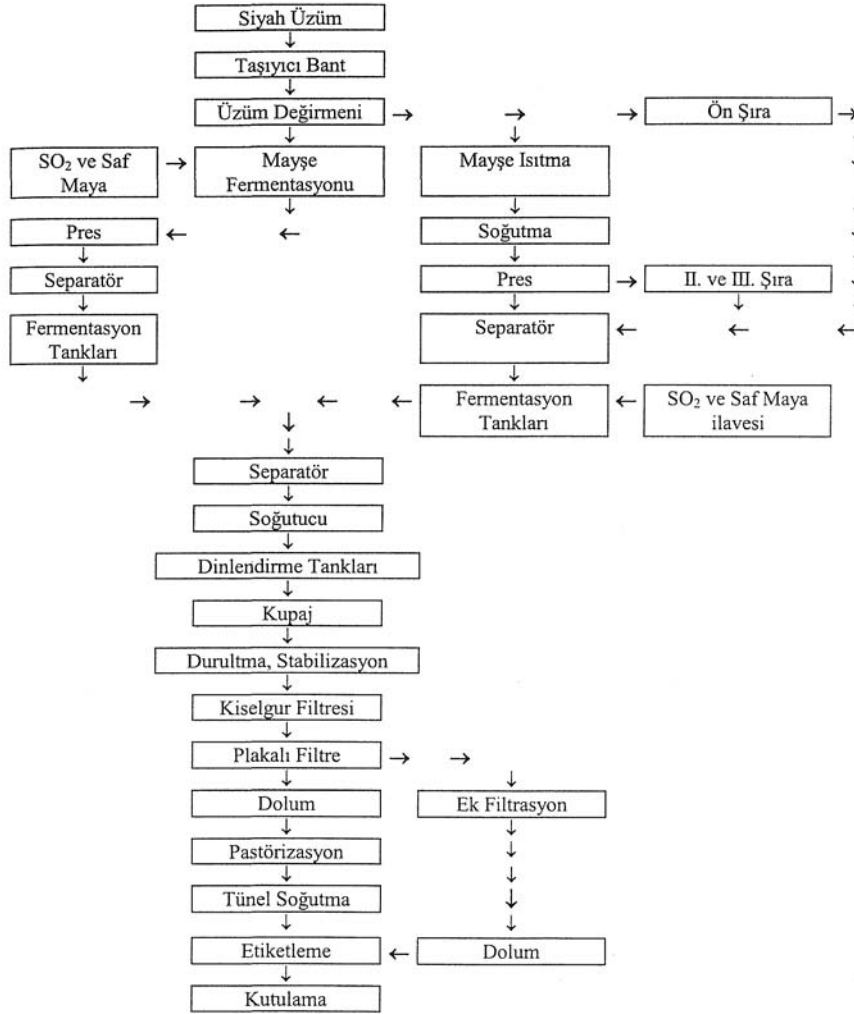
Bütün şarap çeşitleri üretim tipine bağlı olarak genel bir proses ile üretilmektedir. Üzüm hasadı yapılır yapılmaz şarap üretim yerine taşınarak saplarından ayrıştırılıp, temizlenerek ezilmektedir. Şarap çeşidine bağlı olarak üzüm posası suyundan ayrılmaktadır ve üzüm suyu oksidasyonu , kontaminasyonu engellemek amacıyla kükürtlenmektedir. Şekil 3.1a'da genel olarak beyaz üzüm şarabı üretim şeması gösterilmiştir (Christaki ve Tzia 2002). Şekil 3.1b'de kırmızı üzüm şarabı üretim şeması verilmiştir (Özçelik 1998).

Beyaz şarap ve kırmızı şarap farklı fermentasyon yöntemleri ile üretilmektedir. İki şarap arasındaki temel fark, beyaz şarap üretiminde üzüm kabuğunun şıradan erken uzaklaştırılmasıdır (<http://www.fao.org/docrep/x0560e/x0560e09.htm>).

Fermentasyon, şarap üretiminde çok önemli bir aşamadır ve 10 - 30 gün arasında süren uzun bir prosestir. Fermentasyondan sonra şarap başka bir kaba aktarmak suretiyle ölü maya hücrelerinden ayrılır. Şarap içinde bulunan partiküller durultma yardımıyla uzaklaştırılır (Christaki ve Tzia 2002).



Şekil 3.1a. Beyaz üzüm şarabı üretim şeması (Christtaki ve Tzia'dan 2002'den değiştirilerek alınmıştır.)



Şekil 3.1b. Kırmızı şarap üretim şeması (Özçelik 1998)

Hasadı yapılan üzüm, şarap üretimi için ezildikten sonra kırmızı ve beyaz şarap için farklı aşamalardan geçmektedir. Beyaz şarapta üzüm kabuğu şıradan hemen uzaklaştırılırken, kırmızı şarapta üzüm suyu kabuk ile bir süre bekletilerek kabukta yer alan renk maddelerinin şıraya geçmesi sağlanır. Beyaz şarap üretiminde üzüm kabuğu şıradan uzaklaştırılarak kabukta yer alan normal mikrofloranın şıraya geçmesi ve fenol ekstraksiyonunun aşırı olması en aza indirilmiş olur. Kırmızı şarapta ise şıra ve üzüm kabuğunun bir arada bulunması üzüm kabuğunda yer alan fenolik bileşiklerin şıraya ekstraksiyonu için önemlidir. Bu durumda kırmızı şarabın kendine has olan renginin oluşmasını ve daha lezzetli olmasını sağlar (Christaki ve Tzia 2002).

Şıra bileşenlerinin miktarlarının fermentasyondan önce ayarlanması önemlidir. Bu işlem, ek besin eklemek, kükürt eklemek, asitliğin ayarlanması, enzim eklenmesi yoluyla yapılır. Şıra içindeki bileşenler ayarlandıktan hemen sonra şıra fermentöre alınarak yeteri kadar kükürtleme yapılır ve maya eklenir. Şıraya eklenen kükürt miktarı, litrede şıra başına 200 ppm 'den (ppm:parts per million, 200 ppm=200 mg/L) fazla olmamalıdır. Fazla miktarda kükürt kullanımı maya inhibisyonuna ve oluşan son üründe kötü kokuya sebep olur. Şarap fermentasyonu için kullanılan maya türü *Saccharomyces* cinsine ait olan ticari kültürlerdir. Fermentasyon için üzüm mikroflorasında bulunan mayalar ile kendiliğinden fermentasyon yerine *Saccharomyces* cinsine ait olan ticari kültürlerin kullanılması tercih edilmektedir. Maya hücreleri şıraya eklenmeden önce mikroskop ile kontrol edilmelidir. Oksidatif maya ve bakterilerin kültürde olmaması ve yeterli miktarda sağlıklı maya hücrelerinin kültürde bulunması gerekmektedir (Christaki ve Tzia 2002).

Fermentasyon sırasında sıcaklığın yüksek olması (30°C) şıraya eklenen mayanın ölmesine sebep olabilir ya da fermentasyonu yüksek sıcaklığa dayanıklı olan mikroorganizmalar tamamlar ve oluşan şarapta istenmeyen ürünler oluşabilir. Etil karbomet fermentasyon sırasında sıcaklığın yüksek olması sonucu oluşan bir bileşiktir. Etil karbomatın varlığı (<30ppb) karsinojenik olması açısından kimyasal bir tehlikedir (Christaki ve Tzia 2002). Fermentasyon sırasında ve sonrasında düşük sıcaklık kullanılarak ve arjinin amino asit miktarı azaltılarak etil karbomet oluşumu en aza indirilebilir (Gu et al. 2002).

Alkolik fermentasyondan sonra yaklaşık olarak 2-4 hafta süre ile malolaktik fermentasyon (MLF) başlatılır. Bu fermentasyon, malik asitin laktik aside dönüştüğü bir tepkimedir. Malolaktik fermentasyon şarap asitliğini düşürürken şarap pH'ını 0.3-0.5 birim artırır. MLF bütün şarap çeşitleri için uygun değildir. İsteğe bağlı olarak MLF başlatılabilir ya da engellenebilir. Malolaktik fermentasyon sırasında oluşan kimyasal tepkime (1) nolu eşitlikte verilmiştir (Christaki ve Tzia 2002, Dharmadhikari 1999).



Fermentasyon sırasında çıkan CO₂ gazı azalmaya başladığında yeni oluşan şarap temiz başka bir kaba alınır (Christaki ve Tzia 2002). Şarap oluştuktan sonra üst kısımdaki temiz şarabı alt kısımdaki ölü mayalardan ayırmak suretiyle başka bir kaba alma işlemine aktarma (raching) denilmektedir (Dharmadhikari 1999).

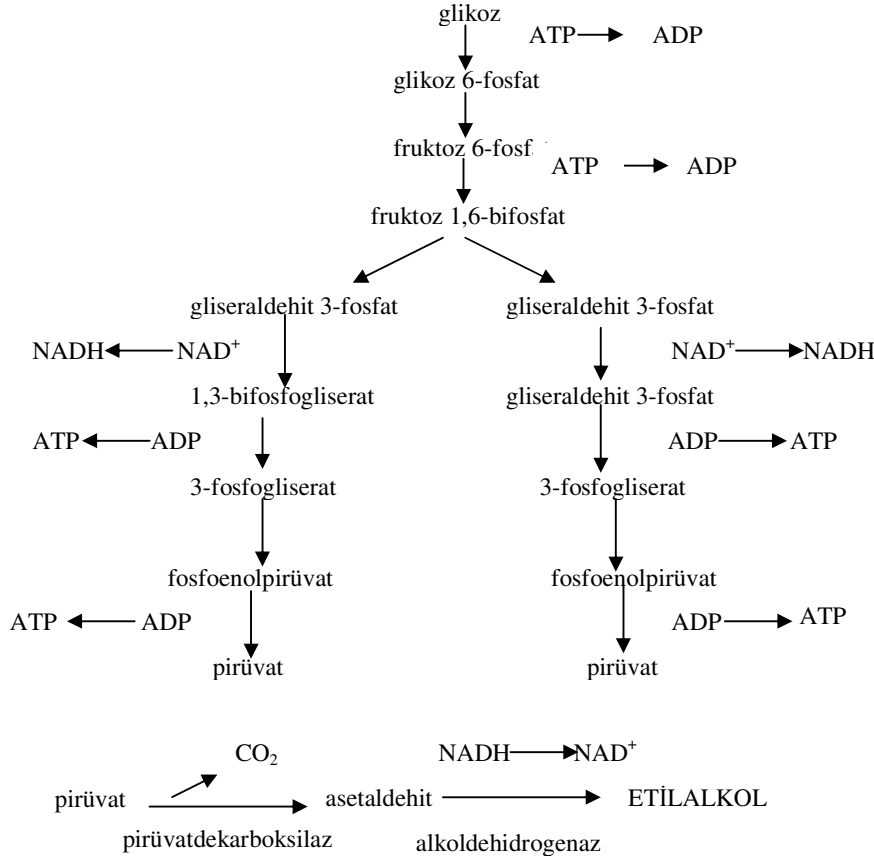
Birkaç aktarma sonucu elde edilen temiz şarap şişelemeden önce bentonit, albumin, jelatin gibi maddeler ya da santrifüjleme, pet filtrasyon ve membran filtrasyon kullanılarak berraklaştırılır. Bu yöntemler ile şarap içinde yer alan küçük partiküllerin çöktürülmesi sağlanır.

Maya, fermentasyonu bitirir bitirmez beyaz şarap yıllanmaya başlar. Stabilize ve saflaştırma işlemi bittiğinde beyaz şarap içmek için uygundur. Fakat kırmızı şarap için yıllanma işlemi beyaza göre daha uzundur ve hemen içilmez. Şarapların saklandığı kapların oksijen ile teması kesilmelidir. Aksi takdirde aerobik mikroorganizmalar şarapta üreyerek şarapta istenmeyen ürünlerin oluşmasına sebep olur.

Şarap, yiyeceklerde üreyen patojen mikroorganizmalar için asidik bir özellik göstermektedir. Bu nedenle bu tür mikroorganizmalar şarabın düşük pH değerinde çoğalamamaktadır. Şarabın bozulmasına neden olan mayalar *Candida*, *Pichia* ve *Saccharomyces* cinsine ait olan oksidatif türlerdir. Şarap yüzeyinde üreyerek ince bir film oluştururlar. Şarap bozulmasına neden olan bakteriler ise Laktik asit bakterileri ve Asetobakterlerdir (Christaki ve Tzia 2002).

3.1.1. Fermentasyon

Maya hücrelerinde pirüvik asit önce dekarboksile (CO₂ çıkarılarak) edilerek asetaldehite dönüştürülür. Daha sonra asetaldehit etil alkolle indirgenir. Alkol miktarı hacimce %18'i aşarsa mikroorganizmalar için toksik etkisi yapar. Bu tip oksijensiz solunuma "Fermentasyon" denir. Maya hücreleri oksijensiz solunum yaptıkları için, pirüvik asit kademesinden ancak biraz daha ileri bir parçalanmayı gerçekleştirebilirler. Fermentasyonda son elektron alıcısı oksijenin yerine hayvanlarda laktik asit, mayalarda etanol, bazı bakterilerde gliserol ya da sirke bakterilerinde asetik asittir. Glikozdan alkol oluşuncaya kadar gerçekleşen bu tepkimeler sitoplazmada olur çünkü gerekli tüm enzimler sitoplazmada bulunur. Enerji düzeyi yüksek olan etanol hücre dışına atılır. Glikozun parçalanarak oksijensiz ortamda alkol oluşuncaya kadar gerçekleşen yol izi Şekil 3.2'de verilmiştir (Demirsoy 1999).



Şekil.3.2. Fermentasyon yol izi (Demirsoy, A. 1999).

Glikozun pirüvik aside; pirüvik asidin pirüvik dekarboksilaz ile asetaldehite; asetaldehitin ise alkoldehidrogenaz enzimi ile etanole dönüşmesinden açığa çıkan serbest enerji 52 kcal'dir. 52 kcal'nin yalnızca 14 kcal'si enerjice zengin fosfat bağı (ATP) halinde tutulduğundan mayalanmada gerçek verim %26.9 dur. Geri kalan 38 kcal'lik ısı ortama verilir. Fermentasyonda verimin düşük olması meydana gelen artık maddelerin de enerji bağlarını içermesinden ileri gelmektedir (Demirsoy 1999).

Fermentasyon diğer enerji üretim mekanizmaları gibi biyokimyasal temelde bir oksido-redüksiyon tepkimeler bütünüdür (Bevorič et al. 2003). Fermentasyonda son elektron alıcısını organik moleküller oluşturur. Oksidasyon sonucu ortaya çıkan elektronları alan organik molekül oksido-redüksiyon tepkimeler dizisi içinde ortaya çıkan ara bileşiklerden biridir. Oksidatif-fosforilasyona bağlı ATP sentezi fermentasyonda gerçekleşmez. Fermentasyonda sadece substrat-düzeyinde ATP sentezi yapılır ve net ATP kazancı 2'dir (Kolonkaya 1996).

Alkolic fermentasyon mayanın şarap oluşturmasında önemli bir aktivitedir. Mayalar bu olayı bir çok mekanizmayı aynı anda kullanarak gerçekleştirir. Bu mekanizmalar kısaca şöyledir: (i) üzüm suyu bileşenlerinin kullanılması, (ii) etanol ile birlikte üzüm suyu içinde yer alan katı maddelerden, şarap tadını oluşturan bileşiklerin ekstrakte edilmesini sağlayan çözücülerin üretilmesi, (iii) şarap içinde yer alan üzüm suyu bileşiklerinin şarabın içeriğini oluşturan bileşiklere dönüşmesini sağlayan enzimlerin üretilmesi, (iv) şarap tadını oluşturan bir çok sekonder bileşiklerin (asitler, alkoller, esterler, aldehitler, ketonlar vs.) üretilmesi ve (v) fermentasyon sonunda ölmüş olan maya hücrelerinin otolitik sindirimi.

Alkol fermentasyonu maya hücrelerinin gerçekleştirdiği kompleks bir biyokimyasal aktivitedir. Alkolik fermentasyon sırasında mayanın gelişmesini bir çok faktör etkileyebilir. Bu faktörleri şu şekilde sıralanabilir; fermentasyon için başlangıç maya popülasyonu, üzüm suyu (şıra) içinde bulunan yabancı türler, üzüm suyunun aşılmasında seçilen ticari kültür, üzüm suyunun kimyasal bileşimi, sıcaklık, kükürt miktarı, farklı maya türleri arasındaki etkileşimdir (Fleet 2003).

3.2. Şarap Fermentasyonunda Önemli Olan Faktörler

3.2.1. Üzüm kalitesi ve bileşenleri

Bir çok önemli faktör şarap kalitesini etkilemektedir. Bunlardan en önemlisi de üzümün kalitesidir. Çünkü iyi şarap kaliteli üzümlerden elde edilmektedir. Üzüm kalitesi ise direkt olarak iklim ve toprak ile ilişkilidir. En kaliteli şarap üzümü çeşitleri, Chardonnay White Reisling, Gewürztraminer, Pinot noir ve Cabernet Sauvignon serin iklimli olan kuzey , merkez ve güneyde yer alan Kalifornia'nın sahil şehirlerinden elde edilmektedir. Yapılan detaylı araştırmalar iklimin üzüm kalitesini etkileyen en önemli ve birincil etken olduğunu göstermektedir. Üzüm kalitesi ise direkt olarak şarap kalitesini etkilemektedir. Özellikle de serin iklimler üzüm bileşiminin daha asidik olmasını, çeşitli üzüm aromasının ve tat bileşiklerinin daha iyi gelişmesini sağlar. Bu bileşikler de şarap kalitesinin oluşmasında önemlidir.

Şarap üreticileri üzüm bileşenlerinden en çok önemli olan şu parametreleri incelemişlerdir: üzüm şekeri, organik asitler, aroma ve tat bileşenleri, fenolik bileşenler ve tanenler, amino asitler, potasyum gibi metalik iyonlar. Tam olarak olgunlaşmış üzümde glikoz ve fruktoz hemen hemen aynı konsantrasyonda bulunmaktadır. Bu şekerler maya tarafından kullanılır ve CO₂ çıkışı ile birlikte alkol oluşturulur. Olgun üzümün ağırlığının %70-80'i ise sudur. Olgun üzüm için şeker, asit ve pH değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Olgun üzüm için şeker, asit ve pH değerleri
(<http://wineserver.ucdavis.edu/WineGrape/Homewine/index.htm>).

Şarap tipi	Optimum şeker*, °Brix	Titre edilebilir asit**, g/L	pH ⁺
Beyaz şarap	20.5-22	8-10	3.2-3.4
Kırmızı şarap	22.5-24.5	6-8	3.3-3.5

* Çözünabilir katıların ölçümü, yüzde şeker içeriğine kabaca eşittir.

** Değerler litrede gram tartarik asit olarak verilmiştir.

+ Çözeltilde ölçülen serbest hidrojen iyonlarıdır.

Üzümde baskın olan asitler malik asit ve tartarik asittir. Tartarik asit şarap içeriğinin stabil olmasını sağlarken malik asit ise malolaktik fermentasyon için gereklidir. Üzümde ve şarapta 400'den fazla aroma ve bileşen izole edilmiştir. Tanenler gibi bazı polifenolik bileşikler kırmızı şarapta tat, stabilite ve şarabın yıllanması için önemlidir. Amino asitler de şarabın kalitesi için önemlidir fakat daha çok maya metabolizması için azot kaynağı olarak önemlidir. Sonuç olarak tek tek ya da birden fazla etkileşimler şarap kalitesini etkilemektedir (<http://wineserver.ucdavis.edu/WineGrape/Homewine/index.htm>).

3.2.2. Kükürtdioksit miktarı

Kükürtdioksit şaraba çok az miktarda eklendiğinde şarap için olumlu sonuçlar doğurur, oksidasyonu engelleyen en uygun metotlardan biridir ve şarap üreticileri tarafından çoğunlukla tercih edilir. SO₂ şarapta serbest ya da bağlı (fiske) formda bulunur. Serbest SO₂ bisülfid şeklindedir ve şarapta etkili olan formdur.

Üzüm parçalanma-sıkılma aşamasında oksijen ile temas ederek oksitlenir. Oksidasyon üzüm suyunun renginin kararmasına sebep olur. Renk koyulaşmasına sebep olan enzim polifenoloksidazdır. Oksijen ile temasa geçtiğinde meyve suyunda koyulaşmaya sebebiyet verir. Enzim, serbest kükürt dioksite oldukça duyarlıdır ve üzüm suyu sıkıldıktan sonra kullanılan kükürt, enzimi deaktif ederek kararmayı engeller (Eisenman 1999). Aynı zamanda fermentasyon sırasında yabancı mikroorganizmaların üzüm suyunda gelişmelerini engeller. Fermentasyondan sonra oluşan şaraba eklenen çok az SO₂ (10-30 ppm) oluşan alkolün ve diğer bileşiklerin oksitlenerek yapısının bozulmasını engeller (<http://www.vinovation.com/Article/WinepH2.htm>).

Şarap fermentasyonu için geliştirilen ticari kültürler SO₂'ye tolerans gösterirler. Böylelikle fermentasyon başlamadan önce yapılan kükürtleme, kullanılan mayanın gelişmesini engellemezken fermentasyon ortamında bulunan yabancı mayaların ve bakterilerin gelişmesini inhibe eder. Kükürt mikroorganizmalarda tiamin vitaminine (B1 vitamini) bağlanarak mikro organizmada bu vitaminin azalmasına sebep olmaktadır (Herrero 2003) Tiamin vitamini TPP (Tiamin Piro Phosphate) formunda mikroorganizmalarda kofaktör olarak görev yapmaktadır (Gözükara 1997b). İnhibisyon, fermentasyonun sağlıklı devam etmesini ve istenmeyen ürünlerin şarap içinde oluşmamasını sağlar. Aynı zamanda malolaktik fermentasyonu da inhibe eder. Malolaktik fermentasyon bazı şaraplar için tercih edilmemektedir (<http://wineserver.ucdavis.edu/WineGrape/Homewine/index.htm>).

SO₂ şarap üretimi için uygun miktarda kullanılmalıdır, çünkü fazla miktarı toksiktir. Bu nedenle de alternatif seçenek olarak şarap üretiminde sorbik ve askorbik asit kullanılabilir. Diğer ürünler, örneğin dimetil pirokarbonat, pimarisin ve nisin şarapta kullanımları için test edilmiştir ve toksik özellikleri azaltılmıştır (Polychroniadou et al.2003).

SO₂ suda çözüldüğünde moleküler SO₂, bisülfid (HSO₃⁻) ve sulfid (SO₃⁻²) iyonları oluşur. Bu formlar miktara, pH ve sıcaklığa bağlı olarak denge halindedir. Oluşan tepkimeler (2) ve (3) nolu tepkimeler olarak verilmiştir.



Bu tepkimelerde de görüldüğü gibi tepkime tersinirdir ve kullanılan SO₂ ile birlikte şarapta H⁺ iyonu artmakta ve şarap daha asidik hale gelmektedir ya da fermentasyon başlangıç pH'ı düşük ise tepkime sol tarafa kayarak bisülfid (3 nolu tepkime) veya iyonize formda olmayan SO₂ (2 nolu tepkime) oluşacaktır. Antimikrobiyal aktivite kükürdün iyonize olmayan formu için maksimumdur. Bu da fermentasyon başlangıç pH'ının düşük olması gerektiğinin sebeplerinden biridir. Bisülfid reaksiyon ürünlerinin hepsi serbest SO₂ ile dengededir ve hepsine birden toplam SO₂ denir (<http://wineserver.ucdavis.edu/WineGrape/Homewine/index.htm>).

3.2.3. pH değeri

Şarap üreticileri, şarapta titrasyon asitliği (TA) ve pH parametreleri üzerinde çalışmışlardır. Çünkü bu iki parametre şarap kalitesi ile ilgilidir. TA şarabın tadını etkilemektedir. pH ise renk, oksidasyon, şarabın biyolojik ve kimyasal stabilizasyonu ile ilgili bir parametredir.

pH direkt olarak TA ile ilişkili değildir, şaraptaki hidrojen iyonlarının ölçülmesi ile bulunur. Şarap pH'ını etkileyen faktörleri üç temel başlık altında toplayabiliriz. Bunlar:

3.2.3.1. Asidin toplam miktarı

TA yüksek olduğunda şarap pH'ı düşük olabilir. Fakat, yüksek TA değeri daima düşük pH oluşmasına sebep olmaz. Potasyum ve diğer faktörlerin varlığı şarap pH'ını değiştirir. Malik asit tartarik asitten daha zayıftır, öyle ki şaraplarda malik asit değeri yüksek olduğunda TA ve pH değerleri yüksek olabilir (Eisenman 1999).

3.2.3.2. Malik asitin tartarik asite oranı

Tartarik asit malik asite göre üç kat daha fazla hidrojen iyonu oluşturur, bu nedenle tartarik asitin şarapta fazla olması pH değerinin düşük olmasına sebep olur. Toplam asit sabitlendiğinde pH şarap ya da üzüm suyundaki (şıradaki) malik asit ve tartarik asit miktarına bağlı olur. (Eisenman 1999).

3.2.3.3. Potasyum iyonu

Potasyum, meyve gelişmesinde önemli bir mineraldir ve meyveye kökler aracılığı ile geçer. Üzüm suyunda fazla olarak bulunduğu koşullarda potasyum bitartarat oluşmaktadır. Bu da üzüm suyu pH'ını etkilemektedir.

Şarap pH'ı şarabın kimyasal ve biyolojik yapısının bozunmadan korunması için önemli bir faktördür. Ayrıca şarap asitlik değerini de etkileyebilmektedir. Şarap üreticileri şarap pH'ı için 3-3.5 aralığını önermektedirler. Düşük pH aralığında şarap bozunmadan korunmakta kalite artmaktadır. Aynı zamanda düşük pH'da şarap üretimi, yabancı bakterilerin şarap içinde üremesini engellemektedir. Fakat kullanılan starter kültür düşük pH aralığına tolerans göstermektedir.

Üretilen şaraplar şişelendikten sonra saklanırken protein çökmesi olur. Bu nedenle beyaz şaraplarda üretim sonunda şarap bentonit ile muamele edilerek fazla protein şaraptan uzaklaştırılır. Bu olay için düşük pH değeri önemlidir çünkü bentonitin fazla olan proteinleri çöktürmesi için şarap pH'ının düşük olması gerekmektedir. Şarap pH'ı yüksek olduğunda bentonit etkinliği azalır ve de fazla miktarda kullanmak gerekir. Bu şarap tadında ve aromasında olumsuz sonuçlara sebep olur (Eisenman 1999).

Şarap içinde baskın olarak bulunan organik asitler malik ve tartarik asittir. Bunların yanında az miktarda sitrik, laktik, suksinik ve fosforik asitler bulunur. Bunlar zayıf asittir ve sulu çözeltilerde tam olarak ayrışmaz. Zayıf asitler için kullanılan tepkime (4) nolu eşitlikte verilmiştir.



Zayıf asitlerin ayrışma sabiti (K) ise (5) numaralı eşitlikten hesaplanmaktadır.

$$K = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (5)$$

[HA] şarapta [H⁺] derişiminden bin kez daha büyüktür. Şarap içinde bulunan zayıf asitler şarabın tadının ekşi olmasının başlıca sebebidir. Bu basit olarak asit tat indeksi (I_a) oluşturulmasında kullanılır. Asit tat indeksi (6) numaralı eşitlikte verilmiştir.

$$I_a = \text{Titre edilebilir asitlik (g tartarikasit/L)} - \text{pH} \quad (6)$$

Şarap asitliği ve pH üzerinde etkili olan başka bir olay da potasyum bikarbonattır. Bu tepkimelerin nasıl gerçekleştiği (7) ve (8) nolu tepkimelerde verilmiştir (Mattick 1983).





Alkolik fermentasyon , oksido-redüksiyon tepkimelerinin olduğu bir reaksiyondur. Glikozdan pirüvik asit oluştuğundan sonra oksijensiz koşullarda gerçekleşen tepkimede son ürün etil alkoldür. Glikoliz reaksiyonu sırasında NAD (nikotin amid dinükleotit) fosfogliser aldehitten aldığı 2 elektronu fermentasyon sırasında ara ürün olarak oluşan asetaldehite vererek yükseltgenir. Bu sırada protanlar serbest kalır ve hücre stoplazmasında birikmeye başlar. Hücre dış ve iç ortamında oluşan proton gradiyentinden dolayı hücre dış ortama proton pompalamaya başlar. Bu işlem sonunda maya hücrelerinin bulunduğu dış ortamda pH düşmeye başlar. Alkolik fermentasyon sırasında oluşan pH düşmesinin sebebi bu reaksiyonlara dayanmaktadır (Gözükara 1997b).

3.2.4. Fermentasyon için kullanılan maya

Maya, ekmek ve fermente içkilerin üretilmesinde kullanılmaktadır. 1860'larda Louis Pasteur üzüm kabuğu yüzeyinde bulunan mayaların kendiliğinden fermentasyon işlemini başlattığını göstermiştir. Daha sonra şarabı daha kaliteli şekilde üretmek için üzüm yüzeyinde bulunan çok sayıdaki mayadan en uygun olanını izole etmiştir.

Maya, tek hücreli, hücre zarı ve hücre duvarı olan elipsoidal yapıda, ökaryot bir canlıdır. Maya yapısını şu kısımlarda inceleyebiliriz: Hücre duvarı, periplazmik bölge, plazma membranı, stoplazma ve organeller, çekirdek (Dharmadhikari 2001).

3.2.4.1. Maya hücre yapısı

3.2.4.1.1. Hücre duvarı

Mayanın hücre duvarı yarı-sert (semi-rigid) kılıf özelliğindedir. Çoğunlukla polisakkaritten oluşur. β -glukan, mannoprotein, az miktarda da kitin içerir. Duvarın dış tabakası mannoprotein ve amorf β -glukandan oluşur. β -glukan hücre duvarına elastiklik sağlar. İç tabaka β -1,3 glukandan oluşur ve sert özellik sağlar. Hücre duvarının görevi, hücrenin karakteristik özelliğini verir ve koruyucu özelliktedir. Ayrıca hücresel iletişimi sağlayan bölgedir. Hücre duvarı bileşenlerini etkileyen olaylar, hücrenin yaşı ve besi ortamının içeriğidir.

3.2.4.1.2. Periplazmik bölge

Hücre duvarı ve sitoplazma arasındaki bölgedir. Bu bölgede ya da hücre duvarında bir çok enzim bulunur. Bu enzimlerden biri de invertazdır.

3.2.4.1.3. Plazma membranı

Çift tabakalı lipit özelliğindedir. Lipit içerisinde dağınık olarak proteinler yer alır. Lipitler fosfolipit ve steroldür. Başlıca fosfolipitler; fosfotidil etanolamin, fosfotidil kolin ve fosfotidil inositoldür. Sterol, mitokondri tarafından üssel fazda üretilir ve ergosterol primer zarında bulunan birincil steroldür.

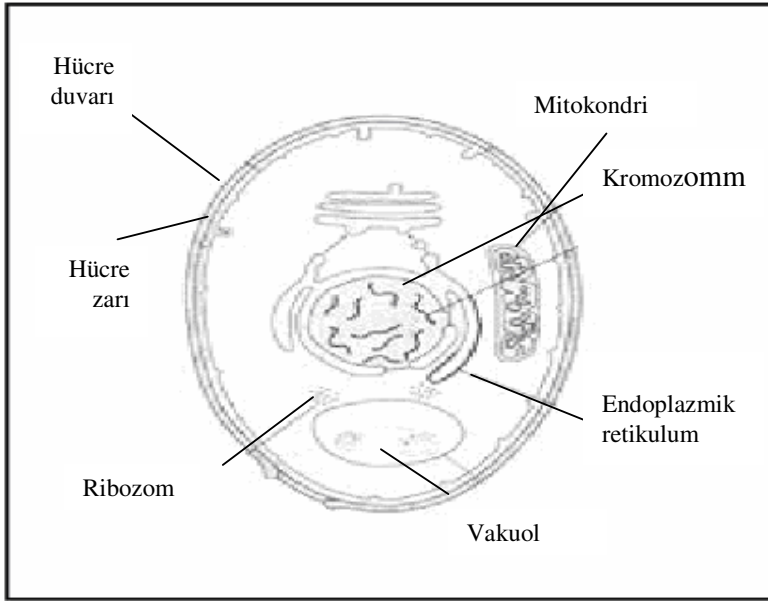
Hücre zarında yer alan proteinlerin bir kısmı glikoproteindir. Proteinler, şeker ve amino asitlerin geçişi için "transport" görevi yaparlar, bir kısmı ise ATPaz özelliğindedir. Enzim görevi yapan proteinler hücre duvarının yapımında glukan ve kitin üretir. Plazma membranın görevi, dış ortam ile iç ortam arasında giriş çıkışı sağlar ve seçici geçirgen olarak bu işlemi gerçekleştirir. Plazma membranda bulunan bazı proteinler hücreye özgü reseptör taşıyıcı ve seks hormonlarına cevap verir (Dharmadhikari 2001).

3.2.4.1.4. Sitoplazma ve organeller

Plazma membranı ve çekirdek arasında kalan boşluğa sitosol denir ve sitoplazma bu kısımda yer alır. Glikoliz ve fermentasyon için gerekli olan enzimleri içerir. Sitoplazmada yer alan organeller; ribozom, endoplazmik retikulum, vakuol (hücre metabolitleri, amino asitler, hidrolaz ve proteazenzimleri içerir) ve mitokondridir.

3.2.4.1.5. Çekirdek (Nucleus)

Kromozomlar bu kısımda bir zar ile çevrili olarak yer alır. *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait hücre ve çekirdek yapısı Şekil 3.3’de verilmiştir.

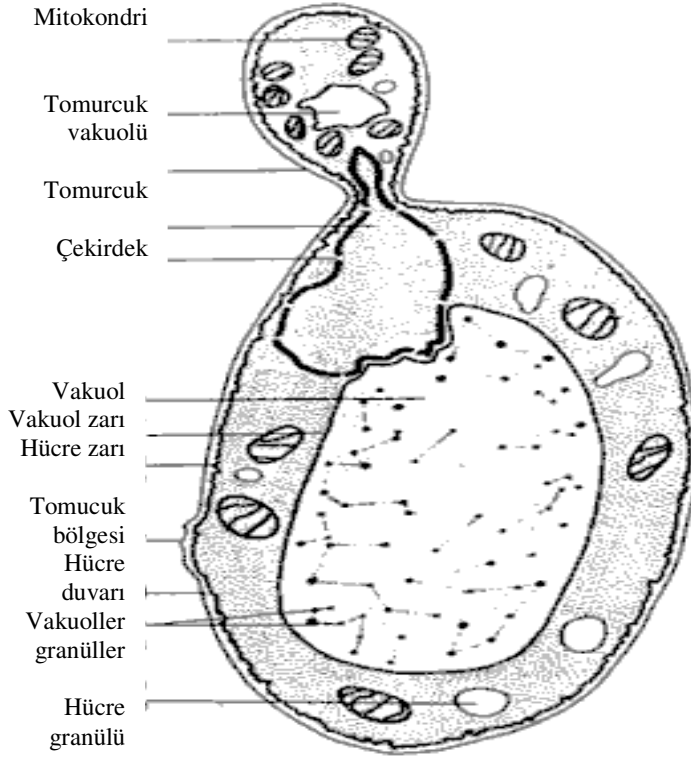


Şekil 3.3. *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait hücre yapısı (Dharmadhikari'den değiştirilerek alınmıştır 2001)

3.2.4.2. Mayanın üremesi

3.2.4.2.1. Aseksüel üreme

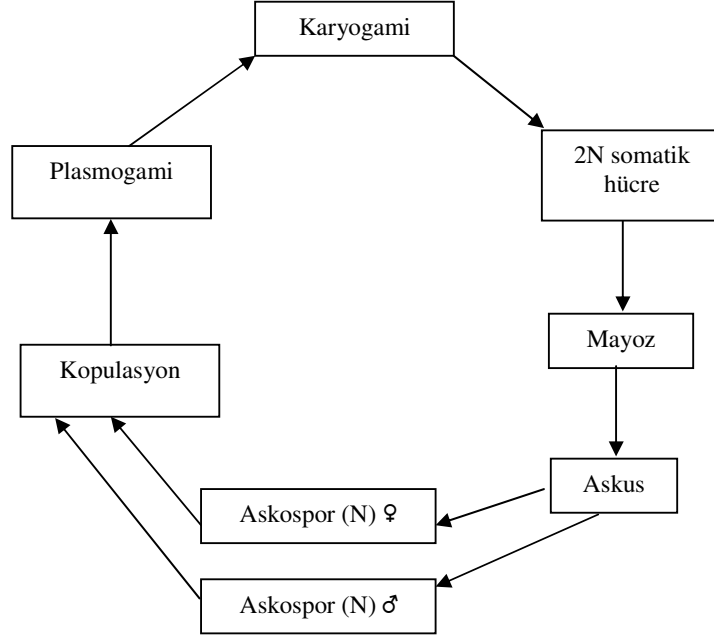
Bu tip üreme tomurcuklanarak gerçekleşir. DNA replike olduktan sonra çekirdek zarı boğumlanır ve bir kısmı sitoplazma zarına doğru ilerleyerek bu kısımda tomurcuk oluşturur. Daha sonra da çekirdek ve sitoplazma bölünmesi gerçekleşir ve iki hücre oluşur. *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait olan tomurcuklanarak üreme Şekil 3.4’te verilmiştir.



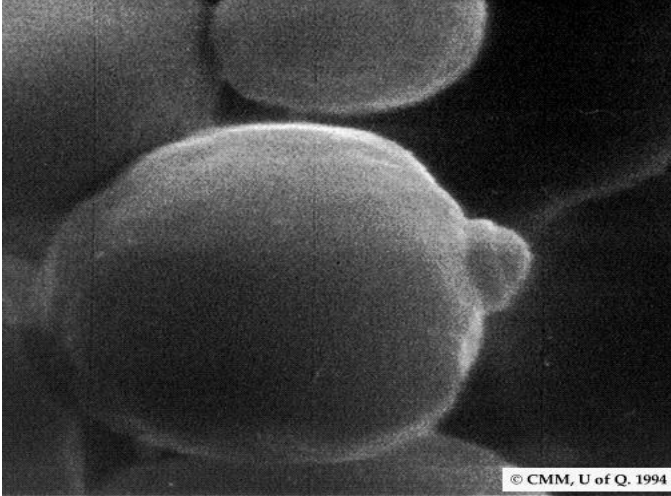
Şekil 3.4. *S.cerevisiae* türünde tomurcuklanma ile üreme
(www.herts.ac.uk/natsci/env/Fungi/html/ascspec.htm)

3.2.4.2.2. Seksüel üreme

Mayalarda seksüel üreme, aseksüel olarak üremeye göre daha az tercih edilen bir üreme şeklidir. Çekirdek mayoz bölünme geçirerek (N) sayıda kromozom içeren sporlar oluşturur. Bu sporlar aynı kese içinde 4 tanedir ve bu yapıya verilen isim "askus"tur. Oluşan sporlara ise "askospor" adı verilir. Daha sonra bu sporlardan ikisi bir araya gelerek birleşir ve (2N) sayıda kromozoma sahip olan maya hücrelerini oluşturur. Sporların birleşmesi önce "plasmogami" (iki hücrenin birleşmesi) daha sonra da bu olayı takiben "karyogami" (çekirdeklerin birleşmesi) şeklinde olur. *S. cerevisiae* türüne ait olan seksüel üreme Şekil 3.5'te verilmiştir. Mayanın hücre morfolojisi ve tomurcuklandıktan sonraki durumu Şekil 3.6'da verilmiştir (www.herts.ac.uk/natsci/env/Fungi/html/ascspec.htm).



Şekil 3.5. *S. cerevisiae* türüne ait olan seksüel üreme.
(www.herts.ac.uk/natsci/env/Fungi/html/ascspec.htm'den değiştirilerek alınmıştır.)



Şekil 3.6. *Saccharomyces cerevisiae* (www.uq.edu.au/nanowar/d/images_1.html)

Alkolic fermentasyon için kullanılan maya *Saccharomyces cerevisiae* türüdür ve endüstriyel olarak kullanım için özelleştirilmiştir. Alkolic fermentasyon sırasında farklı stres koşullarına adaptasyon göstermektedir. Alkolic fermentasyon ve biyokütle üretimi sırasında kullanılan maya bazı stres koşulları ile karşılaşır. Bunlar başlıca, şekerden dolayı oluşan osmotik stres, fermentasyon sırasında oluşan alkol, kükürt dioksit gibi antimikrobiyal bileşiklerdir. Stres cevabının düzenlenmesinde sensör sistem görev alır ve hücre dışındaki stres koşulları strese cevap verecek olan genlere iletilir. Bu mekanizmalardan bazıları laboratuvar koşullarında incelenmiştir. Stres durumunda “heat shock” proteinlerini (Hsp12p, Hsp82p, Hsp26p ya da Hsp140p) kodlayan HSP(Heat Shock Protein) stres genleri aktive edilir. Bu proteinlerden Hsp140p bir çok stres koşulunda sentezlenir. Hsp12 ise hücre membranını etanol ve kuruluğa karşı korur. Alkol, maya için önemli derecede toksiktir ve hücre zarına zarar vererek üremesini engellemektedir (Querol 2003). Ayrıca yapılan çalışmalarda fermentasyon sırasında oluşan alkollerin glikoz transportunu “non-competitive” olarak

engellediği görülmüştür (Leão 1985). *S.cerevisiae* nispeten küçük bir genoma sahiptir ve DNA da tekrar eden gen bölgesi, intronlar az sayıdadır. Şarap mayası anöloid, poliploid, diploid olabilir. Anoploid ve diploid olma özellikleri şarap yapımı sırasında dış koşullara adaptasyon için bir avantajdır. Çünkü fermentasyon için gerekli olan genlerin sayısı artırılabilir (Querol 2003).

Şarap fermentasyonu sırasında mayanın üremesi dört aşamayı içerir. Bunlar; gecikme (lag) fazı, üstel büyüme fazı (exponential), durağan faz (stationary) ve gerileme fazıdır. Gecikme fazı sırasında pseudo-aerobik fermentasyon prosesi gerçekleşir ve çok miktarda biyokütle oluşur. Asetaldehitin büyük kısmı bu faz sırasında sentezlenir. Asetaldehitin yüksek seviyede olması maya gelişimini engelleyebilir ve glikoz tüketim hızını azaltabilir. Fazın sonuna doğru alkol dehidrogenaz enzimi aktive olur ve asetaldehit alkole dönüştürülür. Mayanın gelişimindeki üstel faz sırasında büyük miktarda etanol üretimi gerçekleştirilir. Bu fazın sonunda redoks potansiyeli ani olarak düşer. Bu fazı durağan faz takip eder. Durağan faz sırasında ortamda biriken etanol mikroorganizmanın büyümesini ve metabolizmasını engeller. Redoks potansiyeli denge durumuna ulaşır ve fermentasyon sonuna kadar değişmez. Etanol konsantrasyonunun maya büyüme hızı üzerindeki inhibisyon etkisi fermentasyon sıcaklığına bağlıdır (Berovič et al. 2003).

3.2.5. Sıcaklık

Sıcaklık, proses kinetiğini, fermentasyon hızını, şarap kalitesini ve oluşan ikincil metabolitlerin konsantrasyonunu etkilediğinden dolayı alkolik fermentasyonun gelişmesinde çok önemli parametrelerden biridir.

Mayanın membran yağ asit bileşimini, sıcaklık, oksijen, besin sınırlaması gibi faktörlerden etkilenir. Mayaların membran yağ asidi-açıl (faty-achyl) kompozisyonu diğer mikroorganizmalar gibi sıcaklık ile değişir. Sıcaklık azaldıkça membran yağ asidi-açıl kompozisyonunda doymamış yağ asiti artar. Yağ asitleri ve esterlerinin alkolik fermentasyondaki rolü önemlidir (Torija et al. 2003a, Torija et al. 2003b). Doymamış yağ asitlerinde bütün çift bağlar “cis” geometrik konfigürasyonunda, ancak çok az kısmı “trans” konfigürasyonundadır. Doymamış yağ asitleri ısıtılarak “trans” konfigürasyonuna dönüştürülebilmektedir (Gözükara 1997a). Fermentasyon sırasında oluşan ve dış ortamdan kaynaklanan sıcaklık artışı mayanın hücre zarında bulunan yağ asitlerinin konfigürasyonunda değişime sebep olabilir.

15 ve 20 °C'de yapılan fermentasyon yavaş ilerlemektedir. Özellikle de 15°C'de yapılan fermentasyon hızı düşüktür ve daha uzun gecikme fazı gözlenir. Bu, maksimum hücre sayısına ulaşılmasını erteler fakat bir kere yüksek popülasyona ulaşıldığında bütün proses boyunca uzun bir durağan faz olur ve gerileme fazı yoktur. 25 ve 30 °C'de başlangıç fermentasyon hızı düşük sıcaklığa göre daha yüksek olmasına rağmen benzer maksimum popülasyona ulaşılır. 35 °C'de yapılan fermentasyonda gecikme fazı yoktur, çok çabuk üstel faza geçer ve kısa sürede maksimum popülasyona ulaşır. Fakat durağan faz çok kısadır ve hücre canlılığı düşük olmaktadır. Yüksek sıcaklıkta fermentasyon hızlı başlamasına rağmen, fazla olan hücre ölümünden dolayı şeker kullanımını azaltır. Düşük sıcaklıkta yapılan fermentasyonda ise, fermentasyon yavaş başlar fakat bütün şeker hızlı bir şekilde tüketilir. Çünkü proses boyunca canlı hücre sayısı yüksektir. Yüksek sıcaklıkta fermentasyon kırmızı şarap üretimi için uygundur. Beyaz şarap üretimi için düşük sıcaklıkta fermentasyon tercih edilmektedir (Torija et al. 2003b).

3.3. Şarabın Kimyasal Bileşimi

Şarap içinde 500'den fazla bileşik bulunmaktadır ve bunlardan 160'ı esterlerdir. Litrede 0.8-1.2g aromatik bileşikler içerir. Bu aromatik bileşiklerin çoğunluğunu fusel alkoller, uçucu asitler ve yağ asidi esterleri oluşturur. Fusel alkoller şaraplarda uçucu bileşenlerin % 50'sini oluşturur. Karboniller, fenoller, laktonlar, terpenler, asetaller, hidrokarbonlar, şarap içinde çok az olmasına rağmen, şarap kalitesi ve şarap tadını etkileyen bileşiklerdir. Şarap içinde bulunan su, etanol, organik asit, şeker ve gliserol konsantrasyonu litrede 100 mg'dan fazladır ve şarabın kendine has olan tadını oluşturur. Şarapta bulunan kimyasal bileşiklerden bazıları Çizelge 2' de verilmiştir.

3.3.1. Su

Su, üzüm suyu ve şarap içeriğinin büyük kısmını oluşturur ve bunların temel karakterlerinin oluşmasında önemlidir. Şarap oluşumu sırasında gerçekleşen fermentasyon tepkimelerinin oluşmasında gerekli olan bir bileşiktir. Suda çözünmeyen ya da çok az çözünen bileşikler şarap oluşumunda çok fazla rol oynamazlar.

3.3.2.Şeker

Başlıca üzüm şekerleri glikoz ve furuktozdur. Tam olarak olgunlaşmış üzümde glikoz ve fruktoz oranı eşittir. Sukroz ise *Vitis vinifera* (asma) üzümlerinde çok nadir olarak bulunur. Diğer şekerler ise önemsenmeyecek kadar azdır. *Vitis vinifera* türüne ait olan üzümler genellikle şeker açısından zengindir (22-24 °Brix, 1°Brix=%1w/v) Şarap fermentasyonunu gerçekleştiren *Saccharomyces cerevisiae* mayası metabolik enerjisini glikoz ve furuktozu parçalayarak elde eder diğer substratları kullanma yeteneği sınırlıdır (Soleas et al. 1997).

3.3.3. Etanol

Şarapta en önemli olan alkol etanoldür. Standart fermentasyon koşulları altında hacimce %14-15 etanol oluşur fakat, genellikle etanol konsantrasyonu %10-13'tür. Etanol oluşumunu etkileyen birincil faktörler, üzümün şeker miktarı, fermentasyon sıcaklığı ve fermentasyon için kullanılan maya türüdür. Etanol, şarabın kararlı olarak saklanması ve yıllanmasında önemli bir bileşiktir. Fermentasyon sırasında oluşmaya başlaması ile yabancı mikroorganizmaların şarap içinde gelişmesini sınırlar ve *S. cerevisiae* türüne ait olan maya şarap içinde dominant hale gelir. Bu da şarap içinde istenmeyen ürünlerin oluşmasını engeller. Etanolün inhibitör etkisi, şarabın içinde bulunan asit ve kullanılan potasyum metabisülfid ile birleşince oksijenin olmadığı koşullarda şarap yıllarca saklanabilir. Şarap içinde uçucu bileşiklerin fermentasyon sırasında ve yaşlanma sırasında oluşması için de önemlidir. Etanolün çözücü özelliği fermentasyon sırasında aromatik bileşiklerin CO₂ ile birlikte buharlaşmasına engel olur. Şarap içinde bulunan diğer alkoller ile birlikte organik asitler ile tepkimeye girerek esterlerin oluşmasını sağlar. Metanol, şarapta 0.1-0.2 g/L konsantrasyonunda bulunur. Pektinin enzimatik olarak yıkımı sonucu oluşmaktadır. Pektinin yıkımı ile oluşan metil grubundan metanol oluşmaktadır. Metanolün şarap içinde oksitlenmesi sonucu formaldehit ve formik asit oluşmaktadır ve bu bileşikler merkezi sinir sistemi için toksiktir. Bütün fermente şaraplarda çok az miktarda metanol bulunmaktadır. Şarapta yer alan diğer önemli alkoller ise şunlardır: 1-propanol, 2 metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol ve 3-metil-1-butanol.Yüksek alkoller, amino asit deaminasyonu, üzümde kaynaklanan aldehitler ve amino asitlerin redüktif denitrifikasyonları yoluyla oluşabilir.

3.3.4. Organik asitler

Şarapta asitler iki grup altında incelenebilir. Bunlar; uçucu ve uçucu olmayan (fikse) asitlerdir. Birinci grup asitler distilasyon yöntemi ile şaraptan uzaklaştırılabilir. Şarapta yer alan en genel uçucu asit asetik asittir. İkinci gruptakiler ise karboksilik asitlerdir. Tartarik, malik, suksinik, oksalik, fumarik ve sitrik asitler şarap pH'ı üzerine etki edebilirler (Soleas et al. 1997).

3.3.5. Gliserol

Gliserol mayanın durağan üreme fazında üretilen ikincil bir bileşik olup şarapta viskoziteyi artırarak yumuşak bir tat oluşmasını sağlayarak içimi kolaylaştırır. Ayrıca şarapta fermentasyon sırasında etanolden sonra oluşan en önemli üründür. Dihidroksiasetonfosfatın redüksiyonu ile gliserol-3-fosfata (G-3-P) dönüşmesi ve bu bileşiminde gliserol-3-fosfataz ile gliserole dönüşümü, fermentasyon içerisinde gerçekleşen bir tepkimedir. Fermentasyon sırasında sıcaklık, SO₂, karıştırma zamanı, pH gliserol oluşumunu etkiler. Şeker konsantrasyonunun yüksek olması, meyvenin olgunluğu, yüksek sıcaklık, SO₂ (en az 100 ppm) gliserol

oluşumunu artırır. Şarapta istenilen gliserol miktarı 1-10 g/L dir. Şarap içinde yer alan bazı önemli bileşikler Çizelge 3.2'de verilmiştir (Balli et al. 2003)

Çizelge 3.2. Şarap içinde yer alan bazı önemli bileşikler (% w/w şarap) (Soleas et al. 1997)

Bileşik	Sofralık şarap		Tatlı şarap	
	Beyaz şarap	Kırmızı şarap	Beyaz şarap	Kırmızı şarap
Su	87	87	76	74
Etanol	10	10	14	14
Uçucu asitler	0.04	0.04	0.05	0.05
Şeker	0.05	0.05	8	10
Gliserol	1.1	1.1	0.9	0.9
Asitler	0.7	0.6	0.5	0.05
Fenoller	0.01	0.2	0.01	0.1
Amino asitler	0.25	0.25	0.2	0.2
Vitaminler	0.01	0.01	0.01	0.01

3.4. Şarap Üretiminde Sıcaklık Kontrolünün Önemi

Sıcaklık, fermentasyonu ve şarap kalitesini etkileyen parametrelerden biridir ve şarap üretimi sırasında ürünün kaliteli olması için sistem sıcaklığının uygun bir değerde tutulması gerekmektedir. Bu değer kırmızı şarap için 25 °C'nin üstünde, beyaz şarap içinse 18-20 °C'de olmalıdır. Gerek çevre sıcaklığı, gerekse fermentasyon sırasında oluşan ekzotermik reaksiyon nedeniyle sıcaklık değişmekte ve bu da ürün kalitesinin düşmesine sebep olmaktadır. Fermentasyon sıcaklığı, mayayı direkt etkilediği gibi dolaylı olarak da etkilemektedir. Bu, fermentasyon ortamında oluşan alkolün inhibisyon etkisini artırarak olmaktadır. Etanol fermentasyonunda besi ortamında birikerek, spesifik büyüme hızı, spesifik etanol oluşum hızı, hücre canlılığı ve şeker tüketimi gibi mayanın metabolik aktivitelerini inhibe etmektedir. Yüksek sıcaklıkta bu etki daha da artmaktadır (Özilgen et al. 1991).

Nanba et al, 1987 yaptıkları çalışmada 15-40 °C aralığında fermentasyon gerçekleştirmiş ve yüksek sıcaklıkta maya gelişiminin hızlı olduğu fakat, son maya derişiminin düşük olduğu gözlenmiştir. Buradan yüksek sıcaklıkta gerçekleşen fermentasyonda ortamda biriken alkolün mayanın büyüme hızını engellediği sonucu çıkarılmıştır. Düşük sıcaklıkta gerçekleşen fermentasyonda ise alkol oluşumu hızlı bir şekilde gerçekleşmediği için mayanın son derişimi ve canlılığı daha yüksek bulunmuştur (Nanba et al 1987).

Fermentasyon sırasında fermentörde gerçekleşen sıcaklık değişimi termal enerji denkliği ile modellenmiştir. Oluşturulan model (7) numaralı eşitlikte verilmiştir (Özilgen et al 1999). Eşitlik (7)'deki ilk terim fermentör yüzeyinden kaybolan enerjiyi ifade etmektedir, ikinci terim mikrobiyal gelişme ile ortaya çıkan termal enerji oluşumunu ifade etmektedir. Bu terim fermentasyonun üssel fazının bitiminde 0 olmaktadır. Üçüncü terim ise termal enerji birikimini göstermektedir.

$$-\sum_{i=1}^n U_i A_i (T - T_{env}) + \frac{V}{Y_{cal}} \frac{dX}{dt} = \frac{d(\rho CVT)}{dt} \quad (7)$$

Mikrobiyal büyüme, substrat kullanımı, etanol üretimi ve sıcaklık artışı şarap fermentasyonu sırasındaki maya metabolizmasındaki değişim ile ilgilidir. Substrat, enerji metabolizması ile tüketilerek alkol oluşturulur. Isı ise bu enerji metabolizması sonucu açığa çıkmaktadır ve enerjinin bir kısmı da yeni hücreler oluşturmak için kullanılmaktadır (Özilgen et al 1991).

Fermentasyonda oluşan ısı direkt olarak tüketilen şeker ile bağlantılıdır. Bunu gösteren ilişki (8) numaralı eşitlikte verilmiştir. Yapılan çalışmalarda 14, 18, 23 °C’de beyaz şarap fermentasyonu gerçekleştirilerek ısı oluşumu gözlenmiştir. Deneyleerde 160 g/L şeker kullanılmıştır. Yüksek sıcaklıkta (23 °C) şeker tüketimi hızlı olduğundan ortaya çıkan ısının fazla olduğu ve oluşan alkol derişiminin düşük olduğu gözlenmiştir (López ve Secanell 1992).

$$\frac{dQ}{dt} = \Delta H \frac{dS}{dt} \quad (8)$$

Burada, $\frac{dQ}{dt}$; ısı oluşum hızını (kcal/ L h), ΔH ; fermente edilen 1 mol şekerin oluşturduğu ısı miktarını (kcal/mol), $\frac{dS}{dt}$; şeker tüketim hızını (mol/L h) ifade etmektedir.

3.5. Proses Modelleme

Proses modelleme, kontrol edilecek sistemin giriş ve çıkış değişkenleri arasındaki ilişkiyi matematiksel olarak ifade etmektedir. Sisteme farklı girdiler (input) verilmesi sonucu veya sistemi etkileyen yük etkilerinin sistem çıkış değişkeni (output) üzerinde nasıl değişimler yaptığını göstermektedir. Kütle ve enerji eşitlikleri, transfer fonksiyonu (Transfer function), durum-uzayı (state-space), sistem tanımlama (system identification) gibi yöntemler matematiksel modelleme için kullanılır (Rao 1993).

3.6. Proses Dinamiği

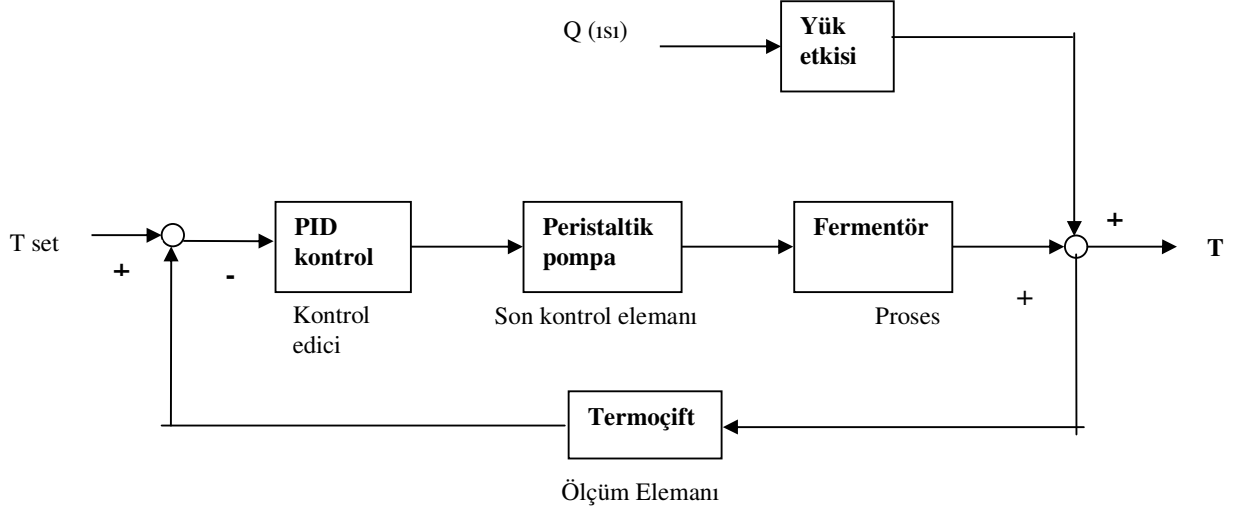
Sistem yatışkın koşula geldikten sonra giriş değişkenindeki bir değişime karşılık prosesin bu etkiye nasıl ve ne kadar tepki verdiği dinamik davranış ile ilgilidir. Bu tepki sisteme verilen girdinin ve prosesin özelliklerine bağlıdır. Sistem kontrolü için seçilen yöntemin uygulanabilmesi ve sistemin tanımlanabilmesi için dinamik davranışın gözlenmesi önemlidir (Alpbaz 1993, Rao 1993).

3.7. Kontrol Diyagramları ve Kontrol Elemanları

3.7.1. Geri beslemeli kontrol edici ve blok diyagramı

Geri beslemeli kontrol, kontrol sistemlerinin düzenlenmesinde çok sıklıkla kullanılmaktadır. Şarap üretimi sırasında sıcaklığın kontrolü için yapılan bu çalışmada kontrol yöntemi olarak geleneksel kontrol yöntemlerinden biri olan PID kontrol yöntemi seçilmiştir ve bu geri beslemeli bir kontrol yöntemidir.

Kesikli olarak işletilen fermentörde beyaz şarap üretiminde nicel ve nitel özelliklerde kaliteyi artırabilmek için fermentasyon süresince sıcaklığın belli bir değerde tutulması gerekmektedir. Fermentasyon sırasında kullanılan mayanın metabolizma sonucu ortaya çıkardığı ısı ve çevre şartlarından dolayı sıcaklık artışı olmaktadır. Sistemin 20 °C’ nin altında tutulabilmesi için fermentörün soğutma suyu kullanılarak sıcaklığının düşürülmesi gerekmektedir. Soğutma suyu akış hızı ayarlanarak fermentör sıcaklığının kontrolüne yönelik kapalı devre blok diyagram Şekil 3.7’de verilmiştir (Ertunç 2003).



Şekil 3.7. Kapalı devre blok diyagramı (Rao 1993'den değiştirilerek alınmıştır.)

Fermentörde, termoçift ile ölçülen fermentör içi sıcaklığı 4-20 mA aralığındaki sinyaller halinde kontrol modülünde yer alan yükselticiye gönderilmektedir. Bilgisayardaki kontrol programına yazılan set noktası ile sistemden çıkan sinyal arasındaki fark değerlendirilerek sisteme gönderilmesi gereken soğutma suyu akış hızı 0-200 aralığında bir sinyal olarak değerlendirilmektedir. Bu değerler pompada 0-10 volt aralığına karşılık gelmektedir. Peristaltik pompa, 0-10 volt aralığındaki değerleri karşılayan soğutma suyu akış hızını ml/dk olarak fermentörün ceketine göndererek fermentör sıcaklığı istenilen set noktasında tutulmaktadır.

Bir kapalı-hat kontrol sistemi esas olarak kontrol edilen sistem ve kontrol ekipmanları olmak üzere iki ana bölüme ibarettir. Kontrol sistemi ise kendi içinde karşılaştırıcı veya hata seçici, kontrol edici, son kontrol elemanı ve ölçüm elemanı gibi birimlerden meydana gelir. Kontrol edilen sistem için en uygun kontrol sisteminin seçimi tasarımcı tarafından gerçekleştirilir. PID kontrol en yaygın olarak kullanılan kontrol yöntemidir.

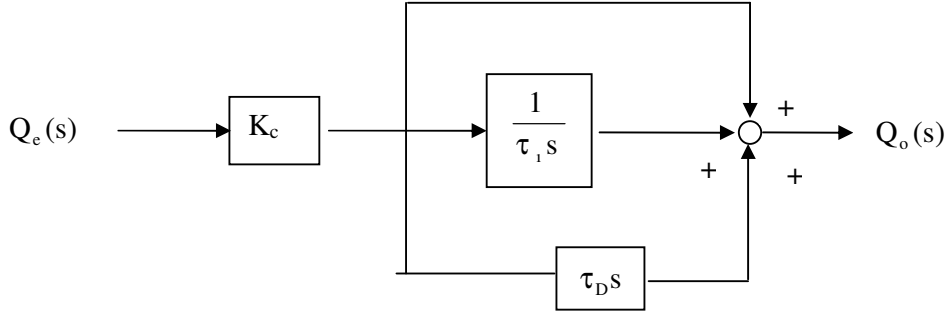
Kontrol edici bloğunda PID kontrol yönteminin yer aldığı bir geleneksel geri beslemeli kontrolün amacı, set noktası ile kontrol edilmesi istenen değişkenin ölçülen değeri arasındaki farkı yok ederek, kontrol edilen değişkeni istenilen değerde tutmaktır. Geri beslemeli kontrol sistemi, kontrol edilecek çıkış değişkeninden alınan ölçüm sinyalinin kontrol ediciye gelerek istenilen set noktası ile karşılaştırılıp, hata sinyalinin üretilmesi ve bu sinyalinde prosesin bir girdisinin son kontrol elemanı ile ayarlanması işlemidir. Son kontrol elemanı, sistemde bir kumanda sinyali ile hareket eden bir motor, vana ya da açma kapama yapan bir elektrik anahtarı olabilir. Bu hareket sonucu kapalı-hat kontrol sisteminde hatayı küçültecek bir değişim meydana gelmiş olur. Karşılaştırıcı ya da seçicide ayarlanan giriş sinyali ile kontrol edilen çıkış büyüklüğünün aynı birim cinsinden olması gerekir. Ölçüm elemanı ise kontrol edilen değişkenden aldığı ölçümleri karşılaştırıcı tarafından algılanabilecek bir birime dönüştürme işlevini de yerine getiren bir dönüştürücü de içerebilir (Ertunç 2003).

3.8. PID Kontrol Yöntemi

3.8.1. PID kontrol

Bir kapalı-hat kontrol sistemi içinde yer alan kontrol edicinin görevi, ölçüm elemanı üzerinden geri beslenen çıkış büyüklüğünü set edilen giriş büyüklüğü ile karşılaştırmak ve ortaya çıkan hata değerinin yapısına ve kendi kontrol etkisine bağlı olarak uygun bir kontrol sinyali üretmektir. Geri beslemeli kontrol sisteminin blok diyagramındaki kontrol edici bloğunu inceleyecek olursak, kontrol bloğuna hata sinyali (Q_e) girmekte

ve kontrol çıkış değişkeni (Q_o) çıkmaktadır. Kontrol edici bloğu PID olarak düşünüldüğünde PID kontrolün Şekil 3.8’de verildiği gibi üç temel yapı etkisinin (P, I, D) birleşiminden meydana geldiği görülür.



Şekil 3.8. PID kontrol sisteminin blok diyagramı(Yüksel 2001)

i) Oransal Kontrol (P): $Q_o(t) = K_c Q_e(t)$ (9)

ii) İntegral Kontrol (I): $Q_o(t) = \tau_i \int_0^t Q_e(t) dt$ (10)

iii) Türevsel Kontrol (D): $Q_o(t) = \tau_D \frac{dQ_e(t)}{dt}$ (11)

Bu temel kontrol etkilerinin bir veya birkaçının birlikte uygun şekilde kullanılmasıyla değişik kontrol etkilerinde çalışan kontrol ediciler oluşturulur. Uygulamada oransal ve integral kontrol edici tek başına kullanılabilirken diğerleri oransal-integral (PI), oransal-türevsel (PD) ve oransal-integral-türevsel (PID) şeklinde kullanılmaktadır (Yüksel 2001)

Endüstriyel kontrol edicilerin büyük bir kısmı güç kaynağı olarak elektrik veya basınçlı hidrolik yağ veya hava (gaz) akışkanı kullanırlar. Kullandıkları güç türüne göre kontrol edicileri pnömatik, hidrolik veya elektronik olarak da sınıflandırmak mümkündür. Kapalı-hat kontrol sisteminde hangi tip bir kontrol edici kullanılacağına seçimi, kontrol edilecek sistemin yapısı, çalışma şartları, güvenlik, ekonomiklik, güvenilirlik, hassasiyet sağlama kolaylığı, ağırlık ve boyutlar gibi pek çok parametreye bağlıdır. Ancak son yıllarda sayısal bilgisayarların kontrol edici olarak kullanılması yaygınlaşmıştır (Ertunç 2003). Bu çalışma kapsamında da biyoreaktöre on-line bağlı bir bilgisayar kontrol edici olarak görev yapmaktadır. PID kontrolün çıkışı veya kontrol yasası;

$$Q_o(t) = K_c Q_e(t) + \tau_i \int_0^t Q_e(t) dt + \tau_D \frac{dQ_e(t)}{dt} \quad (12)$$

$$Q_o(t) = K_c \left[Q_e(t) + \frac{1}{\tau_i} \int_0^t Q_e(t) dt + \tau_D \frac{dQ_e(t)}{dt} \right] \quad (13)$$

Eşitlik 13’ün Laplace dönüşümü alınırsa;

$$Q_o(s) = \left[K_c \left(1 + \frac{1}{\tau_i s} + \tau_D s \right) \right] Q_e(s) \quad (14)$$

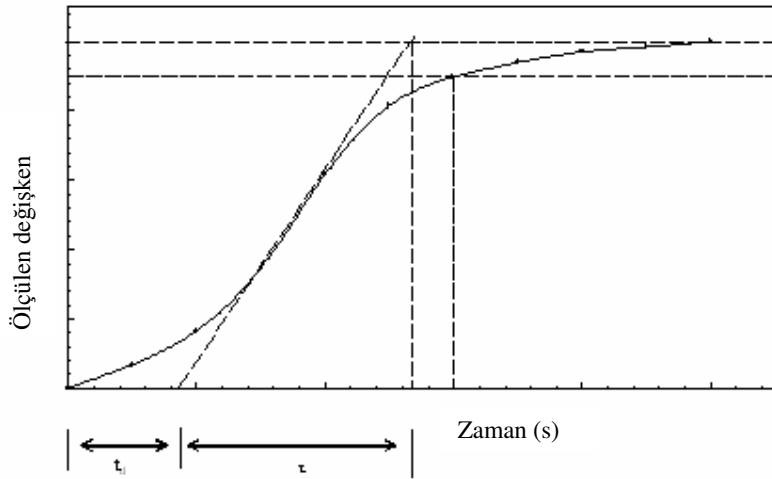
$$G_c(s) = \frac{Q_o(s)}{Q_e(s)} \quad (15)$$

$$G_c(s) = K_c \left(1 + \frac{1}{\tau_i s} + \tau_D s \right) \quad (16)$$

3.8.2. PID kontrol parametrelerinin belirlenmesi

Uygulamada kontrol ediciden iyi bir performans elde edebilmek için kontrol edici parametrelerinin en uygun değerlerinin bulunması gerekir. Kontrol edici parametrelerinin en uygun değerlerinin belirlenmesi amacıyla analitik ve deneysel olarak iki yol mevcuttur. Ancak analitik yol fazla karmaşık ve uzun olduğundan uygulamalarda daha çok deneysel yöntemler kullanılır. Bu yöntemlerden biride Cohen ve Coon yöntemidir.

Kapalı-hat kontrol sisteminin giriş değişkenine bir basamak fonksiyonu uygulaması halinde sistem cevabının yeni kalıcı değerine en kısa zamanda ve kararlı bir şekilde erişmesini sağlayan kontrol edici ayarı en uygun ayar olarak kabul edilir. Bu amaçla bir ölçüt seçilmiş olup bu ölçüte göre, zaman alanı cevap eğrisi değerlendirilir. Sistem cevap eğrisi yönteminde, sistem yanıtlarının Eşitlik 17'de verilen birinci mertebeden ölü zamanlı bir transfer fonksiyonuna uyduğu kabul edilmektedir (Ertunç 2003, Pollard 1971)



Şekil 3.9. Proses reaksiyon eğrisi(Rao 1993'dan değiştirilerek alınmıştır)

$$G(s) \cong \frac{Ke^{-t_d s}}{\tau s + 1} \quad (17)$$

3.9. Tam İki Seviyeli Faktöriyel Deneysel Tasarım

Bu tasarımda “n” adet değişken (faktör) söz konusudur ve bu faktörler iki farklı seviyesinde kontrol edilir. Bu iki seviye, faktörlerin maksimum ve minimum seviyeleridir. Faktör seviyeleri proses üzerinde araştırmalar yapılarak belirlenir. Boyutsuz koordinat sisteminde en yüksek seviye (+1) , en düşük seviye (-1) , merkez nokta ise sıfırdır. Böyle bir tasarımda yapılması gereken deney sayısı 2^n dir. Tasarım matrisi ise genel olarak Çizelge 3.3'de verildiği şekilde düzenlenir. Çizelge 3.3'de yer alan X_0 “Dummy Değişkeni” olarak adlandırılır. Bu tablo oluşturulurken ilk kolonda yer alan birinci faktör için 2^{n-1} adet pozitif ve 2^{n-1} adet negatif seviyeler belirlenir. Daha sonraki kolonlar ise sırasıyla bir önceki kolonda yer alan pozitif seviyelerin yarısı kadar pozitif ve negatif seviyelerinde yine yarısı kadar negatif terim ilave edilerek oluşturulur (Bursalı 1997, Box-Wilson 1978)

Çizelge 3.3 2ⁿ Faktöriyel deneyleme için tasarım matrisi (3 faktör için)

Gözlem sayısı	X0	X1	X2	X3
1	+1	+1	+1	+1
2	+1	+1	+1	-1
3	+1	+1	-1	+1
4	+1	+1	-1	-1
5	+1	-1	+1	+1
6	+1	-1	+1	-1
7	+1	-1	-1	+1
8	+1	-1	-1	-1

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Fermantasyon İçin Kullanılan Maya

Beyaz üzüm, beyaz elma, vişne şaraplarının üretimi için Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen *Saccharomyces cerevisiae* Narince 3 mayası bileşimi (%1 maya özütü, %2 malt özütü, %1glikoz, %1.5 agar) olan katı besiyerinde birer hafta aralıkla pasajlanarak çoğaltılmıştır. Pasajlama işlemi petri kaplarında gerçekleşmiştir. Meyve suyuna aşılama yapılmadan önce maya tek koloni ekimi yapılarak çoğaltılmış ve aşılama işlemi için morfolojik olarak sağlıklı koloniler seçilmiştir. Ekim işlemi NUAIRE marka laminar akışlı steril kabinde yapılmıştır. Ayrıca, mayalar serum fizyolojik kullanılarak (%0.9 NaCl) süspansiyon haline getirilmiş uygun oranda seyreltilerek 1:1 oranında triypan blue kullanılarak boyanmış ve mikroskop (Nikon ecilipso E200 marka) altında hücrelerin sağlıklı olup olmadıkları incelenmiştir.

Fermentasyondan bir gün önce tek koloni ekimi yapılmış olan hücrelerden sıvı besiyerine (10ml meyve suyu, %1 maya özütü, %2 malt özütü, %1 glikoz, %0.1 (NH₄)₂SO₄, %0.05 KH₂PO₄) ekim yapılarak 28-30°C'de 24 saat inkübatörde (Belco marka) çoğaltılmıştır. Ekim yapılmadan önce besiyeri 121°C'de 20 dk otoklav (ALP marka) kullanılarak sterilize edilmiştir.

4.1.2. Mayada tek koloni ekimi

Tek koloni ekimi, mikroorganizmanın saf olarak elde edilmesi için kullanılan bir yöntemdir. Şarap üretimi için yapılan bu çalışmada da stok kültürden alınan *S.cerevisiae* Narince 3 tek koloni ekimi ile çoğaltılmış ve bu tek koloniden alınan maya Nutrient Broth'a ekilmiştir.

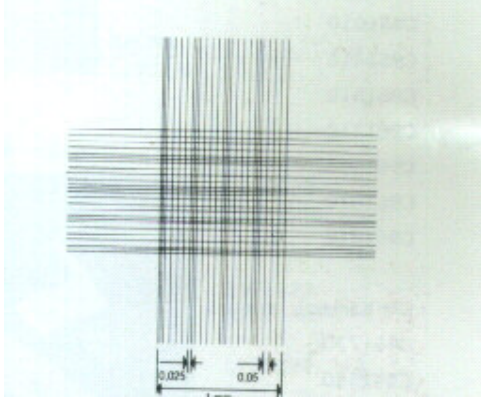
Tek koloni ekimi yapılırken, işaret ve baş parmakla petri kapağı kaldırılır. Ekim yapılacak her bölge karşıya alınır. Özeyle ilk bölgeye geniş, sık zig-zaglar çizilir ve öze ucundaki mikro organizma iyice besiyerine yedirilir. Öze bek alevinde sterilize edilip soğutulduktan sonra ikinci bölgeye birinci bölgeden mikro organizma çekilir ve yine aynen ekim yapılır. Öze yine yakılıp agarın boş bir yerinde soğutulur, ikinci bölgeden mikro organizma çekilerek üçüncü bölgeye ekim yapılır. Dördüncü bölgeye ekim yapılırken yakılıp soğutulur üçüncü bölgeye 1-2 kez öze ile dokunup zig-zaglar çizilerek orta alana gelinir. Öze her seferinde yakılarak mevcut mikroorganizma sayısı azaltılır, 3. ve 4. bölgeye mikroorganizmalar daha seyrek ve tek tek düşerek çoğalırlar. Böylelikle sağlıklı kolonileri alıp üretmek ya da stok kültürde kontaminasyon varsa bunu gözlemlenmek mümkün olmaktadır.

4.1.3. Mayada canlı hücre sayımı

Aşılama kullanılmayan maya stok kültürden, 10 ml üzüm suyu içeren, otoklavda 20 dak. 121°C de steril edilmiş pH=4.1 olan besi yerine (%1 maya özütü, %2malt, %1glikoz, 1gr/L(NH₄)₂SO₄, 0.5gr/LKH₂PO₄) ekim yapılarak 24 saat , 28-30°C de inkübe edilerek çoğaltılmıştır.

10 ayrı tüp içine 9'ar ml. serum fizyolojik (%0.9 NaCl) konulmuştur. Nutrient Broth'ta (sıvı besi yeri) çoğaltılmış olan kültürden 1ml pipet yardımıyla alınarak birinci tüpe ekim yapılmış daha sonra iyice karıştırılmış olan birinci tüpten ikinci tüpe 1ml kültür ekilerek bu işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. Böylelikle her tüpte yer alan maya bir diğerine göre 1/10 kat seyreltilmiştir. Uygun seyreltme oranı bulunduktan sonra petri kabına ekim yapılarak 24 saat 30 °C de inkübasyona bırakılan kültürde oluşan koloniler sayılmıştır. Sayım sonucu, üzüm suyu aşılama kullanılmayan kültür ortamındaki canlı hücre sayısını (colony forming unit/ml.) verir.

Canlı hücre sayımı için kullanılan diğer bir yöntem ise mayaların mikroskop altında Thoma lamı (Şekil 4.1) kullanılarak sayılmasıdır. Bu işlem için önce ölü mayalardan canlı mayaların ayırt edilebilmesi amacıyla Trypan Blue ile boyama yapılmıştır. Ölü olan hücreler boyayı içine aldığı için mikroskopta mavi renkte canlı hücreler ise şeffaf olarak görülmüştür (<http://www.biochem.northwestern.edu/ibis/morimoto/protocols/II.%20Eukaryotes/A.%20Cell%20Cultere/3d.%20Trypan%20Blue%20Staining.pdf>)



Şekil 4.1. Thoma lamı

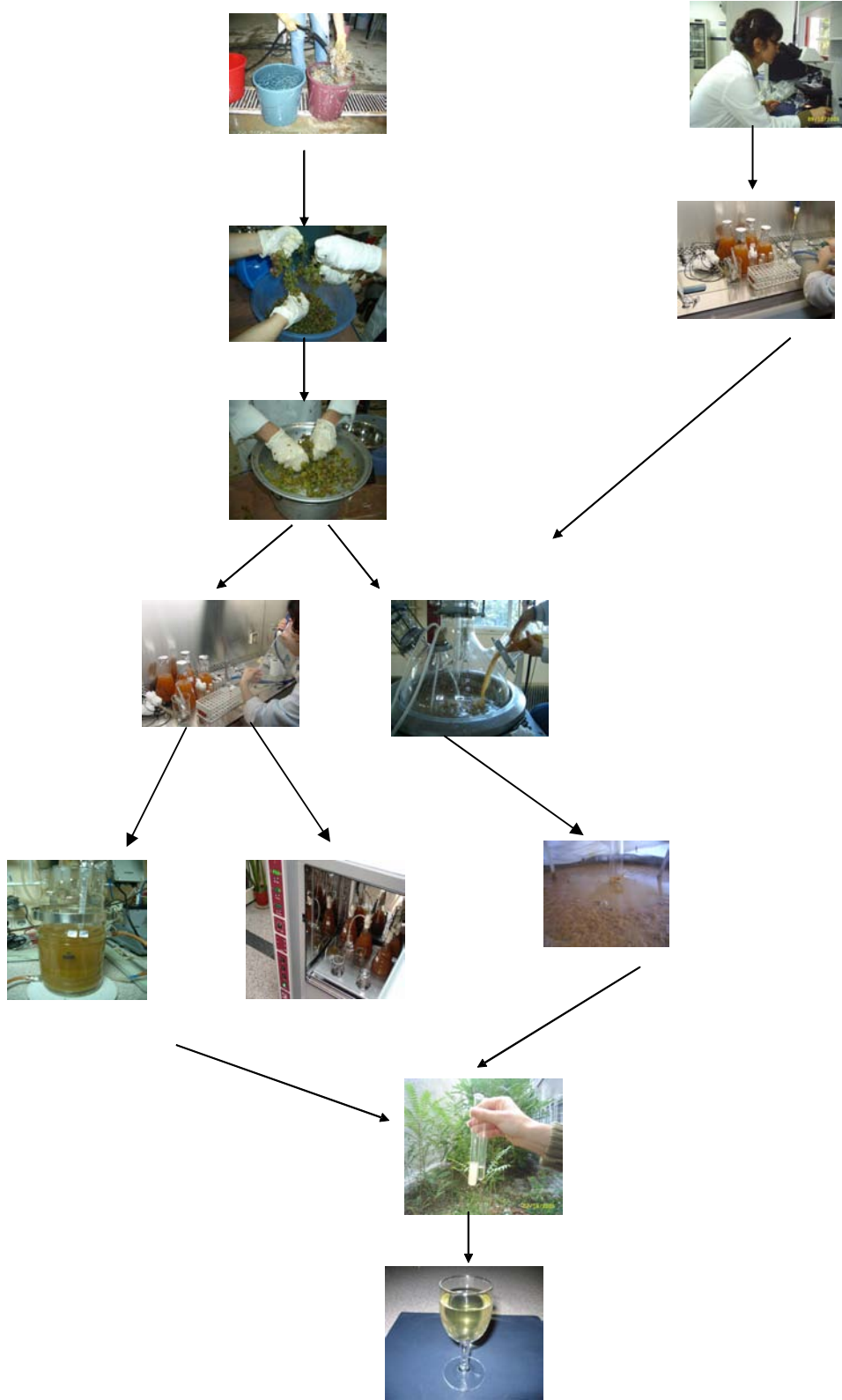
Thoma lamı kullanılarak canlı hücre sayımı, aşağıda verilen örnek hesaplamaya göre yapılmıştır.

$$\begin{array}{lcl} \text{1ml hacmindeki} & & \\ \text{canlı hücre sayısı} & & \\ \text{(cfu/ml)} & = & \text{n karede sayılan ortalama canlı} \\ & & \text{hücre sayısı} \times 16 \text{ (tüm alanda yer} \\ & & \text{alan kare sayısı)} & \times & \text{Tüm karenin alanı} \times \\ & & & & \text{Yükseklik} \times 1000 \end{array}$$

1ml hacimdeki canlı hücre sayısı hesaplanmıştır. Amaç, bu işlemi yaparak başlangıçtaki canlı hücre sayısını belirleyip fermentasyon süresince belli aralıklar ile bu analizi tekrar edip mayanın fermentasyon ortamında üreme kinetiğini çıkartmaktır. Böylece mikroorganizmanın farklı fermentasyon koşullarından nasıl etkilendiği gözlemlenmektedir.

4.2. Fermentasyon Öncesi Yapılan Çalışmalar

Deneylerde elma şarabı ve beyaz üzüm şarabı için aynı yöntem kullanılmıştır. Beyaz üzüm şarabının ilk denemelerinde İznik üzümü, kontrol deneylerinde ise Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesinin ürettiği Narince cinsi üzüm, beyaz elma şarabı yapmak için ise yine Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Haymana Araştırma Çiftliği'nden alınan Golden tipi beyaz elmalar kullanılmıştır. Meyveler su ile yıkandıktan sonra sıkılarak cam fermentörlere alınmıştır. Sıkım sırasında meyve suyunun oksijen ile temasa geçip kararmamasına dikkat edilmiştir. Daha sonra literatürden belirlenen oranda metabisülfid kullanarak kükürtleme yapılmış bir gece 10 °C'de bekletilerek meyve suyunun durulması sağlanmıştır. Durulan üst kısım başka bir cam fermentöre alınarak bir gece önceden inkübe edilen maya 100:1 oranında aşılama yapılmıştır. Üzüm şarabı ve beyaz elma şarabı üretmek için yapılan çalışmalar Şekil 4.2'de verilmiştir. Üzüm ve elma şarabı dışında kullanılan diğer meyveler piyasadan temin edilmiştir.



Şekil 4.2. Beyaz şarap üretiminde genel olarak izlenen proses

4.3. Optimizasyon Deneyleri

4.3.1. Beyaz elma şarabı için yapılan optimizasyon

Beyaz elma şarabı üretiminde optimum işletim koşullarının bulunması amacıyla tam iki seviyeli faktöriyel deneysel tasarım yöntemi kullanılmıştır. Bağımlı değişken olarak etil alkol derişimi, bağımsız değişkenler olarak sıcaklık, pH, kükürt miktarı alınmıştır. Bağımsız değişkenlerin birinci dereceden etkileşim terimlerini içeren doğrusal regresyon eşitliği kullanılarak bağımlı ve bağımsız değişkenler arasında ilişki modellenmiştir. Bu eşitliğin deneysel olarak tanımlanması amacıyla istatistiksel deneysel tasarım metodlarından biri olan iki seviyeli faktöriyel deneysel tasarım metodu uygulanmıştır. Deneysel veriler kullanılarak en küçük kareler yöntemine göre regresyon eşitliği tanımlanmıştır (Box 1978). Deneyler, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesinin Haymana Araştırma Çiftliğinden elde edilen Golden cinsi beyaz elmalarla yapılmıştır.

Deneyler için seçilen parametre seviyeleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Deneyler Çizelge 4.2'de verilen tam iki faktöriyel deneysel tasarım matrisi oluşturulduktan sonra bu doğrultuda yapılmıştır. Sıcaklık (X_1), pH (X_2), SO_2 derişimi ise (X_3) ile tanımlanmıştır.

Çizelge 4.1. Parametrelerin seviyeleri

	T(°C)	SO ₂ (ppm)	pH
+1	25	150	4
-1	18	50	3
0	21.5	100	3.5
ΔU _i	3.5	25	0.5

Çizelge 4.2'de yer alan tasarım matrisi aşağıdaki özelliklere sahiptir;

$$\sum_{i=1}^N X_{ui} X_{ji} = 0 \quad u \neq j \quad u, j = 0, 1, \dots, n \quad (4.1)$$

$$\sum_{i=1}^N X_{ji} = 0 \quad j \neq 0 \quad j = 1, 2, \dots, n \quad (4.2)$$

$$\sum_{i=1}^N X_{ji}^2 = 0 \quad j \neq 0 \quad j = 1, 2, \dots, n \quad (4.3)$$

(4.1) nolu eşitlikte verilmiş olan özellik ortogonalite özelliği olarak adlandırılmaktadır. Tasarım matrisinin böyle bir özelliğe sahip olması regresyon eşitliği katsayılarının en küçük kareler yöntemine göre yapılan tahminini kolaylaştırmaktadır.

Çizelge 4.2. Tam iki faktöriyel deneysel tasarım matrisi

Deney no	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃
1	+1	+1	+1	+1
2	+1	+1	+1	-1
3	+1	+1	-1	+1
4	+1	+1	-1	-1
5	+1	-1	+1	+1
6	+1	-1	+1	-1
7	+1	-1	-1	+1
8	+1	-1	-1	-1

Deneyler Çizelge 4.3’de verilen sıralamayla iki basamakta gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.3.Elma şarabı optimizasyonu için deneysel tasarım matrisi

Grup No	Deney No	Sıcaklık (°C)	pH	Kükürt miktarı(mg/L)
1.GRUP DENEYLER	1	25	4	50
	2	25	3	50
	3	25	4	150
	4	25	3	150
2. GRUP DENEYLER	5	18	4	50
	6	18	3	50
	7	18	4	150
	8	18	3	150

4.3.2. Beyaz üzüm şarabı için yapılan optimizasyon

Sıcaklık kontrolü yapılmadan önce 4 ayrı sıcaklık ve 4 ayrı kükürt derişimi denenerak etil alkol derişiminin en yüksek olduğu değerlerde sıcaklık kontrolü yapılmıştır. Optimizasyon deneyi için Hasandede (Kırıkkale) cinsi şaraplık üzüm kullanılmıştır. Bunun için 8 ayrı deney düzeneği hazırlanmıştır. Yapılan deney koşulları Çizelge 4.4’de verilmiştir. İlk 4 deney birinci grup yapılip uygun sıcaklık bulunmuş daha sonra diğer 4 deney ikinci grup olarak yapılmıştır. 8 nolu deney oda sıcaklığında maya aşılması ve kükürt kullanmadan yapılmıştır. Fermentasyon 8. günün sonunda kesilmiştir. Fermentasyon süresince 24 saat ara ile ağırlık azalması takip edilerek fermentasyon hızı gözlenmiştir. Üzüm suyunun yoğunluğu ölçülmüş ve her deney için fermentasyon başlangıcında ve sonunda plak yayım metodu kullanılarak canlı hücre sayımı yapılmıştır. Deney için tasarlanan matris Çizelge 4.4’te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Beyaz üzüm şarabı optimizasyonu için deney tasarım matrisi

Deney No	Sıcaklık(°C)	SO ₂ (ppm)
1	12	50
2	18	50
3	24	50
4	30	50
5	18	0
6	18	100
7	18	150
8	25	0

4.4. Narince Üzümü Kullanılarak Yapılan Sıcaklık Kontrolü

Yapılan optimizasyon deneylerinden sonra kontrol deneyleri için kullanılacak üzüm cinsi ile bulunan optimum sıcaklık 18 °C’de ve oda sıcaklığında (ortalama olarak 24 °C’de) iki ayrı deney yapılarak oluşan etil alkol değerleri karşılaştırılmıştır. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi tarafından yetiştirilen 150 kilo Narince üzümü sıkılarak bir gece önceden kükürtlenmiş ve 12 °C’de bir gece bekletilmiştir. Fermentasyon için laboratuvar ve pilot ölçek olmak üzere iki ayrı reaktör kullanılmıştır. Pilot ölçekte yapılan fermentasyon için 80L , laboratuvar ölçekli reaktör için ise 1750 ml üzüm suyu kullanılmıştır. Laboratuvar ölçekli reaktör, 2 L hacminde, pyrex camdan yapılmış soğutma ceketli, kesikli bir reaktördür. Sıcaklık ölçümü ELİMKO marka demir-konstant termocift kullanılmış ve on-line olarak ölçülmüştür. Sıcaklık kontrolü için PID kontrol yöntemi ve VisiDAQ veri depolama ve analiz paket programı kullanılmıştır. Son kontrol elemanı olarak peristaltik pompa, ayarlanabilen değişken olarak da soğutma suyu akış hızı seçilmiştir. Şarap üretimi için set noktası 18 °C olarak belirlenmiştir. Üzüm suyu fermentöre konmadan önce 50 ppm olarak kükürtlenmiştir.

Pilot ölçekli reaktörde yapılan deneyde reaktörün kullanılabilir 80 L'lik hacminde fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Reaktör küresel yapıda , cam ve elektrikli mantodandır. Reaktörün üst kısmında gereğinden fazla boşluk kaldığı için kükürtleme 75 ppm olarak yapılmıştır. Diğer işlemler aynen laboratuvar ölçekli reaktörde olduğu gibi uygulanmıştır. Bu deneyde sıcaklık kontrolü yapılmamış, fermentasyon sırasında oluşan sıcaklık ve fermentasyon dinamiği incelenmiştir.

4.5. On-line Sıcaklık Kontrolü

Yapılan çalışmada beyaz üzüm şarabı fermentasyon sıcaklığı on-line olarak kontrol edilmiştir. Fermentör içinde yer alan termocift ile ölçülen sıcaklık değeri modüldeki yükselticiye iletilmektedir. Sinyaller modülden bilgisayarda yer alan VisiDAQ paket programına gönderilmektedir. Alınan sinyallere göre Visual Basic dilinde yazılmış olan algoritmada sisteme gönderilmesi gereken soğutma suyu akış hızı belirlenmektedir. Bu değer taşıyıcı modül yardımıyla fermentörün ceketine soğutma suyu basan son kontrol elemanı olan DC pompaya ulaşmaktadır. Bu sinyale göre belirlenen pompa akış hızı ile fermentör ceketine soğutma suyu gönderilerek fermentör içindeki sıcaklık 18 °C'de tutulmaktadır.

4.6. VISIDAQ Paket Programı

Bu program “Task Designer” ve “Display Designer” olmak üzere iki kısımdan oluşur. Task Designer, sitemin girdi ve çıktılarının tanımlandığı, verilerin kaydedildiği kutucukların yer aldığı ve kutucukları ilişkilendirmek üzere gerekli bağlantıların yapıldığı kısımdır. “AI” kutucukları sisteme giren sinyalleri, “AO” kutucukları sistemden çıkan sinyalleri simgelemektedir. Giriş ve çıkış sinyalleri ile ilgili olarak düzenleme yapma imkanı sağlayan “SOC” kutucukları ile on-line işletimde dışarıdan parametre girişine izin veren tuşlar ve veri depolamaya yarayan kutucuklar da yer almaktadır. Deney süresini veya deney saatini izlemek, kaydetmek amacıyla “ET” kutucuğu kullanılabilir. Giriş ve çıkış sinyalleri, zaman ve programda hesaplanan değerler kayıt yapılmak isteniyorsa her bir veri için “LOG” kutucuğuna bağlantıların yapılması gerekir. Kontrol algoritması ise Visual Basic dilinde oluşturularak “Basic Script” kutucuğuna yerleştirilir. Display Designer, giriş ve çıkış değişkenlerin değerlerinin grafiksel veya rakamsal olarak izlenmesi, tuşlar yardımıyla çıktılara müdahale edilmesi gibi işlemlerin gerçekleştirildiği bir penceredir.

4.7. Meyve Suyu ve Şarap İçin Yapılan Ölçümler ve Analizler

Meyve suyu ve şarap için yoğunluk, viskozite, glikoz ve absorbans ölçümleri yapılmıştır. Yoğunluk ölçümü için 25ml'lik piknometre ve hassas terazi (SCALTEC SBC 31, Germany) kullanılmıştır. Viskozite ölçümü için bilya düşmeli viskozimetre kullanılmış ve 20°C'deki suyun viskozitesi hesaplar için referans alınmıştır. Glikoz ölçümü için Electrone Machine Corporation marka glikoz ölçer kullanılmıştır. Cihazın göstergesinden okunan “DEG-ARC” birimi standart grafik çizilerek g/L değerine dönüştürülmüştür. Standart grafiğin çizimi için önce belirli derişimlerde glikoz çözeltisi hazırlanmış ve glikoz ölçerin okuduğu değere karşı grafik hazırlanmıştır. Yapılan ölçümlerin tümü bu grafik üzerinden değerlendirilmiştir. Absorbans ölçümü için ise Shimadzu UV-160A spektrometre kullanılmıştır. Şaraplar üretimden sonra GC-MS'de analiz edilmiştir. GC-MS analizleri Ankara Üniversitesi BİTAUM'de yapılmıştır. Gaz kromatografisi için kullanılan cihaz; Shimadzu GC/MS-QP 5000 olup, kolon GL-Science TC-%(30m×0.32mm) çapında ve 0.25mm kalınlığındadır. Analiz için aşağıdaki sıcaklık programı uygulanmıştır. Örnekler 35 °C'de 2dk. bekletilip, 2 °C/dk. artışla 85 °C'ye çıkartılıp 2dk. bekletilmiş, 2 °C/dk. artışla 150 °C'ye çıkartılıp 2dk. bekletilmiş, 4 °C/dk. artışla 185 °C'ye çıkartılıp bekletilmiştir. Enjektör sıcaklığı 150 °C, ara yüzey sıcaklığı 300 °C'dir. Taşıyıcı gazın (Helyum) kolonda akış hızı 1.8 ml/dk'dır.

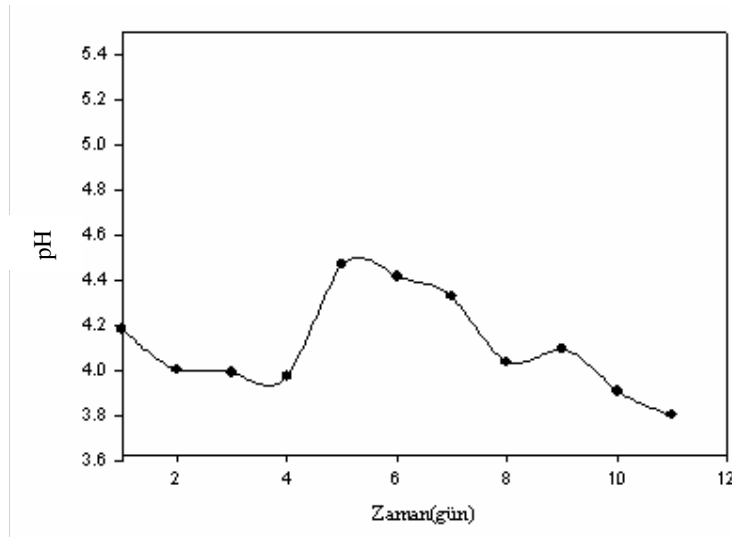
5. ARAŞTIRMA BULGULARI

Yapılan deneyler sonucunda elde edilen bulguları üç grup altında verilmiştir. İlk yapılan çalışmalarda fermentasyon farklı sıcaklıkta elma ve üzüm ile gerçekleştirilerek hem fermentasyon sırasında değişen parametreler gözlenmiş hem de fermentasyon dinamiği incelenmiştir. Daha sonrada elde edilen bulguların ışığı altında elma şarabında üç parametrenin (sıcaklık, pH, kükürt derişimi) elma şarabının kalitesi üzerine etkisi incelenmiş, bu parametrelerin şarap üretimi için en uygun değerleri belirlenmiştir. Üçüncü grup deneyler ise Narince şaraplık üzümü ile yapılan sıcaklık kontrolü deneylerini kapsamaktadır. Bunlara ek olarak da mevsime uygun meyvelerden şarap denemeleri yapılarak elde edilen bulgular farklı meyve şarapları için uygulanmıştır.

5.1. Amasya Elması Kullanılarak Yapılan Şarap Deneyi

Amasya elmaları sıkılarak elde edilen 1.5 L'lik elma suyu 24 saat 12°C de ağzı kapalı olarak bekletilip elma suyu durutulmuştur. Üst kısım bir pompa yardımıyla 2L'lik cam erlene alınmış, maya aşılması ve kükürtleme yapılmamıştır. Fermentasyon oda sıcaklığında sıcaklık kontrolü yapılmadan oksijensiz ortamda gerçekleşmiştir. Fermentasyon süresince pH ve sıcaklık ölçümleri alınarak, fermentasyon başlangıcı ve sonunda yoğunluk, viskozite, absorbans, glikoz derişimi ölçülmüştür.

Fermentasyona bırakılan elma suyunda, beşinci günde CO₂ çıkışı köpürme ile gözlenmiştir. Kükürtleme yapılmadığı için dördüncü günde kontaminasyon gerçekleşmiştir. Köpürmenin bitmesiyle fermentasyon sonlandırılarak başka bir kaba pompa yardımıyla aktarma yapılmıştır. Deney süresince alınan veriler Ek-1'de Çizelge Ek1.1'de verilmiştir. Fermentasyon bitimine kadar alınan pH ölçümünün günlük değişimi Şekil 5.1'de olduğu gibidir. Sıcaklık ölçümü olarak hem termocift hem de pH ölçerden okunan sıcaklık değeri verilmiştir.



Deney oda sıcaklığında, pH sabitlenmeden yapılmıştır. Kükürtleme yapılmadığı için deneyin başlamasından dördüncü günde kontaminasyon gözlenmiştir. Fermentasyon sırasında oluşan kontaminasyon hem gözle şarabın üst kısmında gerçekleşen küf benzeri mikroorganizmaların görülmesinden fark edilmekte, hem de pH değişiminden anlaşılmaktadır. Yapılan deney için ölçülen pH değişimi Şekil 5.1'de verilmiştir. Dördüncü günden sonra pH değerinde artış görülmüştür. Aşılama yapılmadığı ve sıcaklığın düşük olması nedeniyle fermentasyon geç başlamış, besi ortamının köpürmesiyle (CO₂ çıkışı) birlikte deneyin beşinci gününde

fermentasyon başlamıştır. Alkol fermentasyonu yapan mayanın ortama hakim olmasıyla pH değerinde düşme görülmektedir. Bu olay bize fermentasyonun başladığını da göstermektedir.

Fermentasyon on ikinci günde köpürmenin bitmesiyle kesilerek aktarma yapılmıştır. Deneyin devam etmesi durumunda ortamda üreyen yabancı mikroorganizmalar sirkeleşmeye neden olabileceğinden fermentasyon süresi kısa tutulmuştur. Bu da şarapta alkol miktarının düşük olmasına sebep olmuştur. Aktarma sonunda şarap buz dolabında bekletilerek saklanmıştır. Bunun nedeni ise şarap içerisinde bulunabilecek mayaların tekrar üremesine engel olmaktır. Bir hafta süre sonunda ikinci aktarma yapılarak dibe çöken partiküllerden ve ölü maya artıklarından şarap arındırılmıştır. Şarabın rengi berraktır ve tadına bakıldığında alkol miktarının düşük olduğu, aromasının içilebilecek uygunlukta olduğu görülmektedir. Şarap saklama sırasında kükürtleme yapılmadığı için kontaminasyona engel olunamamış sirkeleşmeye başlamıştır. Ayrıca buna sebep olan diğer bir etmen de saklama şişesinde fazla boşluk bırakılmış olması nedeniyle asetik asit bakterilerinin ortamda üremesiyle şarapta sirkeleşme olmuştur. Yapılan ölçümler sonucu şarabın viskozitesinin ve yoğunluğunun düştüğü görülmektedir. Viskozitenin düşme sebebi şarap içinde oluşan alkoldür. Yoğunluktaki azalma ise şarap içindeki şekerin kullanılarak şaraptaki madde miktarının azalmasından dolayıdır.

Deney başlangıcı ve sonunda yapılan yoğunluk ve viskozite hesapları Ekler kısmında Ek 1.1’de verilmiştir. Hesaplanan sonuçlar Çizelge 5.1.1’de verilmiştir.

Çizelge 5.1.1. Amasya elması fermentasyonunda viskozite ve yoğunluk değerleri

	Viskozite(kg/m.sn)	Yoğunluk(g/L)
Deney başlangıcı	1053.9	24.78*10 ⁻⁴
Deney sonu	989.43	16.28*10 ⁻⁴

5.2. İznik Üzümü Kullanılarak Yapılan Şarap Deneyi

İznik üzümünden elde edilen 1 L’lik üzüm suyu bir gece buz dolabında bekletilerek durultulmuştur. *Saccharomyces cerevisiae* Narince3 mayası, içinde 10 ml üzüm suyu olan 121°C de 30 dakika otoklavda sterilize edilen besiyerinde (%1 yeast ekstrakt, %2 malt ekstrakt, %1 glikoz, 1g/L (NH₄)₂SO₂, 0.5g/L KH₂PO₄) 24 saat, 28-30°C de pH=4’de çoğaltılmıştır. Çoğaltılan maya 1L’lik üzüm suyuna aşılanmıştır. Aşılama sırasında 80 mg/L kükürt üzüm suyuna eklenmiştir. Fermentasyon cam bir fermentörde kontrolsüz olarak 20°C nin üstünde bir sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Fermentörün ağzı sıkıca bir mantar ile kapatılarak üzüm suyu içine bir pH metre yerleştirilmiştir. CO₂ çıkışını sağlayan ve fermentasyon ortamına O₂ girişini engelleyen içi su dolu olan fermentasyon başlığı mantar kapağa yerleştirilmiştir. Fermentasyon süresince her gün pH, sıcaklık ve ağırlık azalması ölçülerek grafiğe geçirilmiştir. Yoğunluk, absorbands, glikoz derişimi ve viskozite değişimi deneyin başlangıcında ve sonunda ölçülmüştür.

CO₂ çıkışı ikinci günde fermentasyon ortamındaki köpürme ile gözlenmiştir. Kükürtleme yapıldığı için kontaminasyon gerçekleşmemiştir. CO₂ çıkışının sona ermesiyle (ağırlık değişiminin gözlenmediği) fermentasyon sonlandırılıp oluşan şarap başka bir kaba pompa yardımıyla aktarılmış ve buzdolabında bir hafta bekletilmiştir. Bu sayede ölü olan mikroorganizmanın ve şarap içinde bulunan partiküllerin dibe çökmesi sağlanmıştır. Bir hafta sonra ikinci aktarma yapılmıştır. Böylelikle şarap, içinde bulunan ölü mayadan ve partiküllerden arındırılmıştır. Şarap yüzeyinde gözlenen üreme nedeniyle tekrar kükürtleme yapılmıştır (80 mg/L SO₂).

Deney süresince alınan ölçümler Ek-1’de Çizelge Ek 1.2’de, hesaplar Ek 1.2’de verilmiştir. Deney başlangıcı ve sonunda hesaplanan değerler Çizelge 5.2.1’de verilmiştir.

Çizelge 5.2.1. İznik üzümü fermentasyonunda(25°C) yoğunluk, viskozite ,absorbans değerleri

	Yoğunluk(g/L)	Viskozite(kg/m.sn)	Absorbans
Deney başlangıcı	1076	31.63*10 ⁻⁴	12.92
Deney sonu	991.92	17.49/*10 ⁻⁴	10.48

Fermentasyon ortalama olarak 25°C'de gerçekleştiği için maya hızlı bir şekilde üzüm suyu içindeki şekeri tktmeye başlamıştır. Deneye başlamadan önce kükürtleme yapıldığı için fermentasyon süresince herhangi bir kontaminasyon gözlenmemiştir. Besi yerindeki CO₂ çıkışından ağırlık azalması gzlenenerek fermentasyon hızı belirlenmiştir. Fermentasyon bittikten sonra birer hafta ara ile iki aktarma yapılmış ikinci aktarmada kontaminasyonu engellemek amacı ile kükürtleme yapılmıştır. Yapılan kükürtleme şarabı yabancı mikroorganizmalardan korumuş, fakat şarapta acı bir tada sebep olmuştur.

İzlik zm ile yapılan ilk deney ile aynı koşullarda fakat fermentasyon sıcaklığı değiştirilerek ikinci bir şarap deneyi yapılmıştır. Bu deney sonucunda, değişen fermentasyon sıcaklığının fermentasyonda oluşturabileceği değişiklikleri gözlemlemek amaçlanmıştır. İlk yapılan şarap denemesi ile aynı şekilde gerçekleştirilen bu deneyde farklı olarak tutulan parametere sıcaklık olmuştur. Fermentasyon ortalama olarak 20 °C'de gerçekleşmiştir. Fakat etüv sıcaklığı tam olarak ayarlanamadığından sıcaklık sabitlenememiştir. Sıcaklığın maksimum olduğu ikinci günde fermentasyon daha hızlıdır ve şeker tktiminin daha fazla grlmştir. Ağırlık azalmasının sabitlendiği on birinci günde fermentasyon kesilerek başka bir kaba aktarma yapılmıştır. Birer hafta ara ile ikinci ve üçüncü aktarmalar yapılmıştır. Daha sonra şarapta yoğunluk, glikoz derişimi, viskozite ve absorbans ölçümleri yapılmıştır. Yapılan lmler sonucu şarap viskozitesinin ve yoğunluğunun üzüm suyunkine oranla daha düşük olduğu grlmştir. Yapılan ilk üzüm şarabı denemesi ile elde edilen sonuçlarla aynı değerler elde edilmiştir. Glikoz lm sonucu ilk yapılan üzüm şarabına göre daha fazla glikoz tkildiğini göstermektedir. Absorbans ise ilk yapılan şaraba oranla daha dşktir. Bu da ikinci şarabın daha duru bir renye sahip olduğunu göstermektedir.

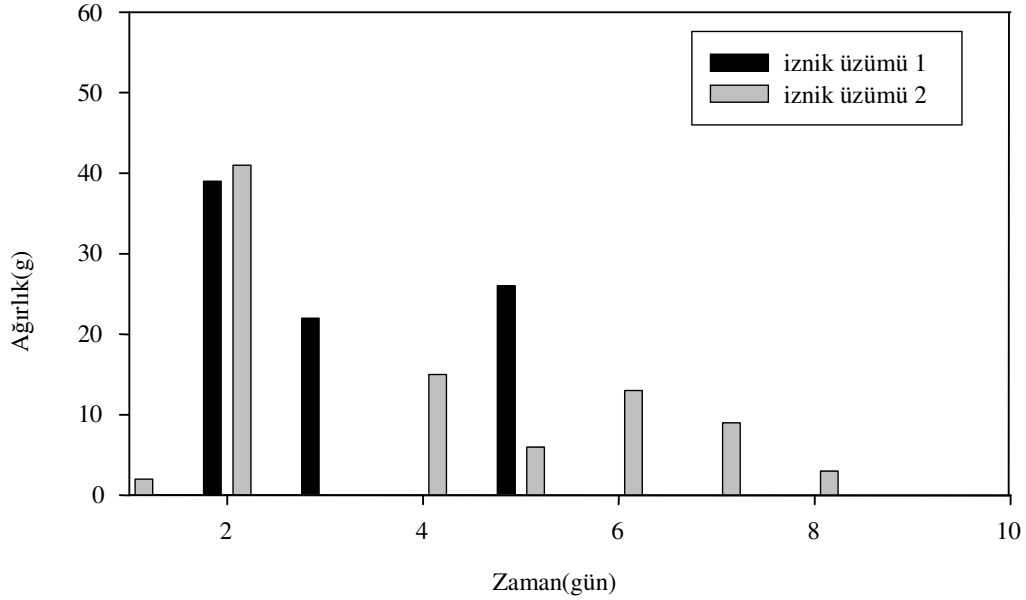
Düşük sıcaklıkta gerçekleşen ikinci şarap deneyinde fermentasyon sırasında daha duru bir şarap oluşumu gözlenmiştir. şarap için yapılan absorbans ölçümü de bunu doğrulamıştır. Glikoz, ilk yapılan şaraba göre daha fazla kullanılmıştır. Aktarım sırasında fark edilen ekşi bir koku nedeniyle 80 g/L SO₂ ile kükürtleme yapılmıştır. şarabın bir kısmı da kükürtleme yapılmadan saklanmıştır. Yapılan lmler de kkrtli ve kükürtsüz şarabın pH'ının ve absorbansının aynı olduğu grlmştir. İki farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen fermentasyonun süresi de farklı olmuştur. Yüksek sıcaklıkta gerçekleşen fermentasyon düşük sıcaklıktakine göre daha kısa sürede bitmiştir. Yüksek sıcaklıkta fermentasyon daha hızlı olmasına rağmen, fermentasyon bitiminde glikoz tktiminin düşük sıcaklıktaki fermentasyona göre daha az olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca, bundan sonraki şarap fermentasyonlarında kkrtlemenin üzüm suyu sıklıdıktan hemen sonra yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Böylece, hem üzüm suyunun kararması engellenerek şarap renye'nin daha berrak olması sağlanırken hem de üzüm suyunun kontaminasyonu baştan engellenmiş olacaktır.

Deney başlangıcı ve sonunda ölçülen yoğunluk, viskozite ve absorbans değerleri izelge 5.2.2'de verilmiştir. Viskozite ve yoğunluk için yapılan hesaplamalar Ekler kısmında Ek1.3'de, ölçümler izelge Ek 1.3'de verilmiştir.

Çizelge 5.2.2. İzlik zm fermentasyonunda(20°C) yoğunluk, viskozite, absorbans değerleri

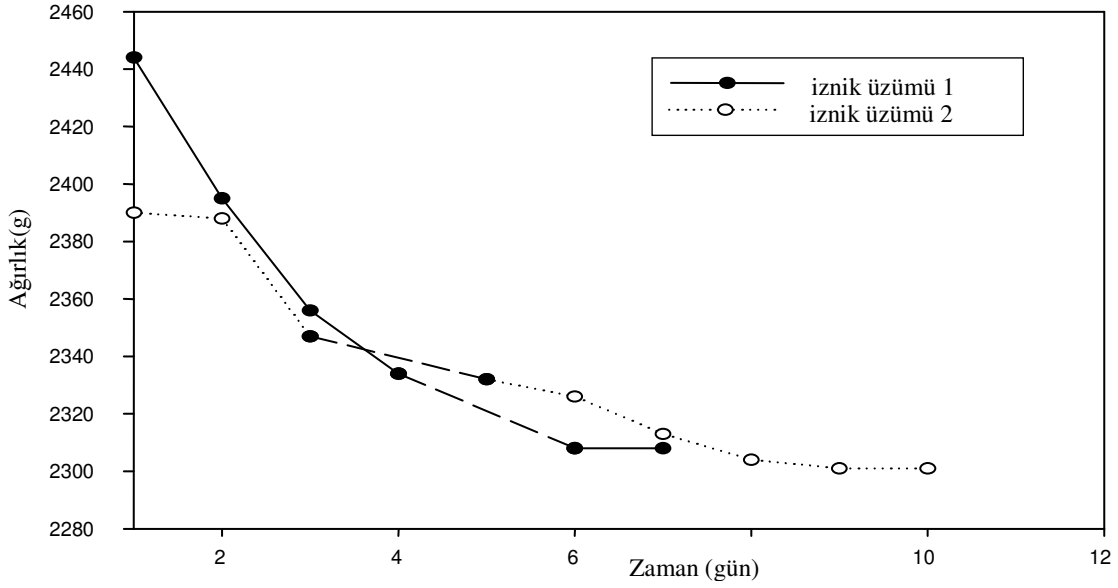
	Yoğunluk(g/L)	Viskozite(kg/m.sn)	Absorbans
Deney başlangıcı	1076	31.63*10 ⁻⁴	12.92
Deney sonu	989.14	17.49*10 ⁻⁴	9.8



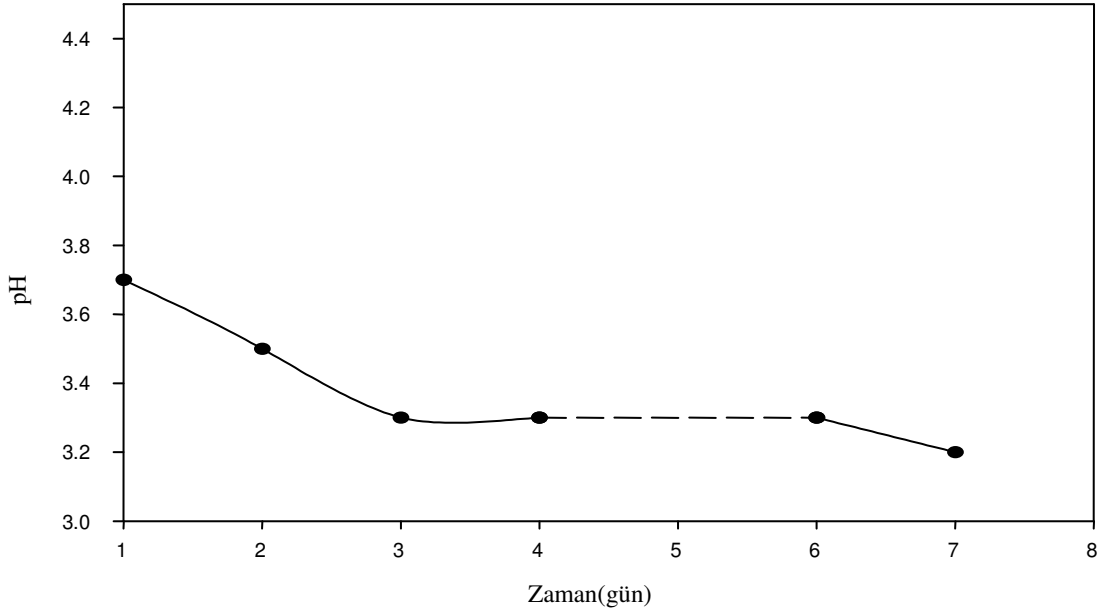
Şekil 5.2. Farklı iki sıcaklıkta İznik üzümü fermentasyonunda günlük ağırlık değişimi

Şekil 5.2’de verilen grafikte İznik üzümü ile iki farklı sıcaklıkta yapılan deneyde günlük ağırlık değişimi görülmektedir. Yüksek sıcaklıkta yapılan ilk deneyde (grafikte İznik üzümü 1 olarak gösterilmiştir) fermentasyon hızlı başlamış ve beşinci günde bitmiştir. Düşük sıcaklıkta yapılan deneyde ise (grafikte İznik üzümü 2 olarak gösterilmiştir) fermentasyon daha yavaş başlamış ve sekizinci günde bitmiştir. Bu bize sıcaklığın fermentasyon hızı üzerine etkisi olduğunu göstermektedir.

Yapılan bu iki deneyde ağırlık değişimleri aynı zamanda Şekil 5.3’te verilmiştir. Bu grafikte de fermentasyon süresince oluşan toplam ağırlık değişimi görülmektedir. İznik üzümü 1 olarak verilen eğrinin eğiminden de görüldüğü gibi fermentasyon İznik üzümü 2’ye göre daha hızlıdır. Düşük sıcaklıkta yapılan fermentasyondaki ağırlık azalması daha istikrarlı gerçekleşmektedir.

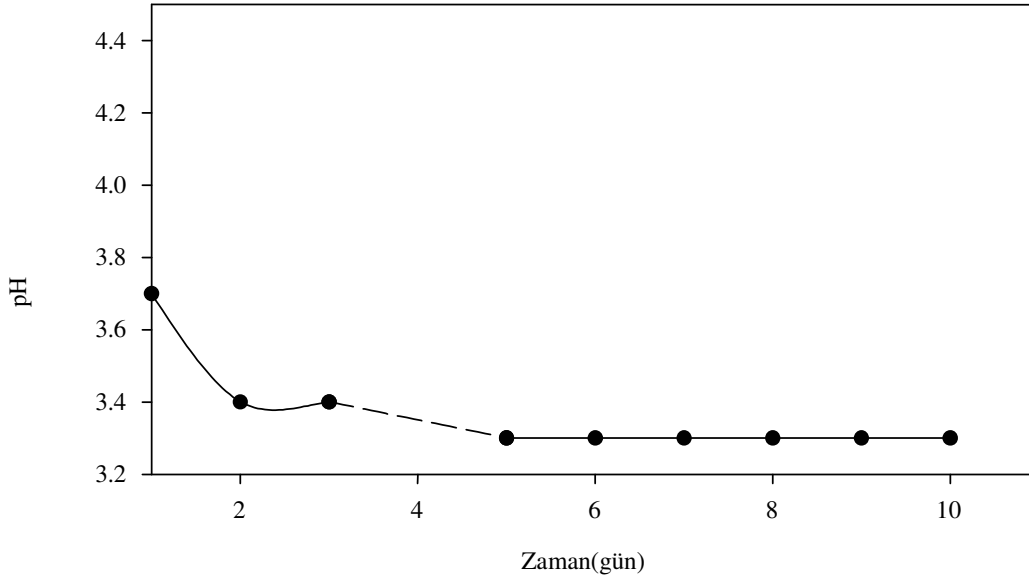


Şekil 5.3. Farklı iki sıcaklıkta İznik üzümü fermentasyonunda toplam ağırlık değişimi



Şekil 5.4. Yüksek sıcaklıkta İznik üzümü fermentasyonunda (25°C) pH değişimi

Şekil 5.4'te ortalama 25°C'de gerçekleştirilen yüksek sıcaklıktaki İznik Üzümü fermentasyonunda pH değişimi verilmiştir. Şekil 5.5'te ise düşük sıcaklık (20°C) İznik Üzümü fermentasyonunda pH değişimi verilmiştir. İki farklı sıcaklıkta gerçekleşen bu deneylerde pH değişimleri birbirine benzemektedir. İlk iki günde pH değerleri düşmekte daha sonra sabitlenmektedir. pH değerlerinde her iki deney için büyük bir artış görülmemiştir. Bu bize şaraplarda gerçekleşen kontaminasyonların fermentasyon sırasında değil fermentasyondan sonra olabileceğini göstermektedir.



Şekil 5.5. Düşük sıcaklık İznik üzümü fermentasyonunda (20°C) pH değişimi

5.3. Beyaz Elma Şarabı Üretiminin Optimizasyonu

Şarap kalitesini artırmak için, fermentasyon süresince kaliteyi etkileyen ve üretimde en çok etkili olan faktörlerin optimum değerlerinin bulunması gerekmektedir. Bu faktörlerden en önemlileri pH, kükürt miktarı ve fermentasyon sıcaklığıdır. Optimizasyon çalışmalarının amacı, şarap üretimi için en uygun fermentasyon koşullarının belirlenerek bu koşulların kontrol çalışmalarında kullanılmasıdır.

Beyaz elma şarabı üretiminde optimum işletim koşullarının bulunması amacıyla iki seviyeli tam faktöriyel deneysel tasarım yöntemi kullanılmıştır. Bağımlı değişken olarak etil alkol, bağımsız değişkenler olarak sıcaklık, pH, kükürt miktarı alınmıştır. Bağımsız değişkenlerin birinci dereceden etkileşim terimlerini içeren lineer bir regresyon eşitliği kullanılarak bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki ifade edilmiştir. Bu eşitliğin deneysel olarak tanımlanması amacıyla istatistiksel deneysel tasarım metodlarından biri olan iki seviyeli faktöriyel deneysel tasarım metodu uygulanmıştır. Deneysel veriler kullanılarak en küçük kareler yöntemine göre regresyon eşitliği tanımlanmıştır. Deneysel için seçilen parametre seviyeleri Çizelge 5.3.1'de verilmiştir. Deneysel Çizelge 5.3.2'de verilen optimum tasarım matrisi oluşturulduktan sonra bu doğrultuda yapılmıştır. Sıcaklık X_1 , pH X_2 , kükürt X_3 ile tanımlanmıştır.

Deneysel iki grupta optimum tasarım matrisine uygun olarak ve Çizelge 5.3.3'de yer alan değerler kullanılarak Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesinin Haymana Araştırma Çiftliğinden elde edilen Golden cinsi beyaz elmalarla yapılmıştır.

Çizelge 5.3.1. Parametrelerin seviyeleri

	T(°C)	SO ₂ (ppm)	pH
+1	25	150	4
-1	18	50	3
0	21.5	100	3.5
ΔU_i	3.5	25	0.5

Çizelge 5.3.2. İki seviyeli tam deneysel tasarım yöntemi için optimum tasarım matrisi

Standart Sıralama	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃
1	+1	+1	+1	+1
2	+1	+1	+1	-1
3	+1	+1	-1	+1
4	+1	+1	-1	-1
5	+1	-1	+1	+1
6	+1	-1	+1	-1
7	+1	-1	-1	+1
8	+1	-1	-1	-1

Çizelge 5.3.3. Deneysel tasarım matrisi

Deney No	Deney No	Sıcaklık(°C)	pH	Kükürt miktarı(mg/L)
1.GRUP DENEYLER	1	25	4	50
	2	25	3	50
	3	25	4	150
	4	25	3	150
2. GRUP DENEYLER	5	18	4	50
	6	18	3	50
	7	18	4	150
	8	18	3	150

5.3.1. Birinci grup deneyler

Birinci gruptaki deneyler, 25°C de yapılmıştır. Öncelikle elmalar yıkayıp temizlenerek parçalanmış çekirdekleri çıkartılarak suyu sıkılmıştır. Sıkım sırasında elma suyunun alındığı kapların ağzı kapatılarak oksijen ile temasının minimuma indirilmesi sağlanmıştır. Elma suları 2.5'L lik iki ayrı kaba alınmış ve kaplardan biri 50mg/L kükürt, diğeri 150mg/L kükürt ile kükürtlenip 10°C de 24 saat bekletilerek elma suyu içindeki tortuların dip kısma çökerek elma suyunun durultulması sağlanmıştır. Kükürtleme için metabisülfite kullanılmıştır. Bu bekleme süresince yapılan kükürtleme hem kontaminasyonu engellemiş hem de elma suyunun çok fazla kararmamasını sağlamıştır. Durulan elma suları 1'er litrelik erlenlere alınarak sıkma anında 5 olan pH değeri fermentasyon başlangıç koşulları olan pH 3 ve 4 değerlerine Çizelge 5.3.3'e uygun olarak HCl ve NaOH kullanılıp sabitlenmiştir. Bir gece önceden *Saccharomyces cerevisiae* Narince 3 mayası sıvı besi yerine(10ml elma suyu, %1 maya özütü (yeast extract) , %2 malt özütü (malt extract) , %1 glikoz, % 0.1 (NH₄)₂SO₄, % 0.05 K₂HPO₄) ekim yapılarak 30 °C de çoğaltılmış ve 1L elma suyu için 10 ml kültür aşılması yapılmıştır.

Aşılama yapıldıktan bir gün sonra CO₂ çıkışı ile fermentasyon başlamıştır. Fermentasyon 12 gün sonra kesilmiştir. Fermentör kapları buz dolabına konulup bir gün bekletilerek şarap içindeki mayanın inaktif hale gelmesi ve şarabın daha fazla durulması sağlanmıştır. Mayalar ve bir miktar elma tortusu fermentörün dip kısmına çökmüştür. Daha sonra şaraplar başka bir kaba aktarılmıştır. Bir hafta daha beklenerek ikinci aktarım yapılmıştır. Deneyler süresince her gün ağırlık azalması ölçülerek fermentasyon hızı izlenmiştir. pH değişimleri belli zaman aralıklarında ölçülerek gerçek zamanlı olarak grafiğe geçirilmiştir. Ayrıca yoğunluk, viskozite ve absorbansta oluşan değişim deney başlangıcı ve sonunda ölçülerek toplu olarak aşağıda verilmiştir. 1, 2, 3 ve 4 numaralı şaraplar için yapılan detaylı ölçümler Ek 2'de, Çizelge Ek 2.1, Çizelge Ek 2.2, Çizelge Ek 2.3, Çizelge Ek 2.4'te, hesaplar Ek 2.1'de verilmiştir. Glikoz ölçümü için hazırlanan kalibrasyon grafiği Ek 2.4'te Şekil 2.5'te verilmiştir.

Çizelge 5.3.4. Beyaz elma şarabı 1.grup optimizasyon deneylerinde yoğunluk, viskozite,absorbans için fermentasyon öncesi ve sonrası değerleri

	Başlangıç Yoğunluk(g/L)	Fermentasyon sonunda yoğunluk (g/L)
Elma şarabı 1	1056.824	997.804
Elma şarabı 2	1056.824	1001.11
Elma şarabı 3	1056.824	995.464
Elma şarabı 4	1056.824	1002.56
	Başlangıç Viskozite(kg/m.sn)	Fermentasyon sonunda Viskozite(kg/m.sn)
Elma şarabı 1	25.6*10 ⁻⁴	13.689*10 ⁻⁴
Elma şarabı 2	25.6*10 ⁻⁴	13.74*10 ⁻⁴
Elma şarabı 3	25.6*10 ⁻⁴	13.66*10 ⁻⁴
Elma şarabı 4	25.6*10 ⁻⁴	13.75*10 ⁻⁴
	Başlangıç Absorbans	Fermentasyon sonunda Absorbans
Elma şarabı 1	24.16	11.44
Elma şarabı 2	24.16	12.2
Elma şarabı 3	24.16	11.76
Elma şarabı 4	24.16	12.88

Yoğunluk birim hacimdeki madde miktarı olarak tanımlanmaktadır. Elma suyu içindeki şeker miktarı çözünebilir katı olarak elma suyunun yoğunluğu ile direkt olarak ilişkilidir. Fermentasyondan sonra da azalan şeker miktarı ile birlikte yoğunlukta azalma gözlenmektedir. Çünkü şeker maya tarafından kullanılarak alkol oluşumu gerçekleşmektedir.Fermentasyondan sonra yapılan viskozite ölçümünde şarap oluşumu ile birlikte viskozitenin düştüğü görülmüştür. Viskozitedeki bu değişimin şarap içinde oluşan alkolden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü etil alkolün viskozitesi elma suyuna oranla daha düşüktür ve şarap içinde alkol oluşumu ile birlikte viskozitede azalma görülmektedir. Viskoziteyi etkileyen diğer bir unsur da şarap içinde oluşan gliseroldür. Gliserol şarapta viskoziteyi artırmaktadır. Fakat bu artış elma suyunun viskozitesinden daha yüksek olmamaktadır. Yapılan bu deneyde gliserolün viskozite üzerindeki etkisi görülmemektedir. Buna sebep olarak da oluşan gliserolün viskoziteyi artıracak kadar yüksek derişimde olmaması gösterilebilir. Her dört fermentasyon sırasında da absorbans değerlerinde azalma görülmektedir. Bunun nedeni ise elma suyunun oluşan şaraba göre daha bulanık olmasıdır.

İkinci aktarımdan sonra şaraplar gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile analizlenmiş ve sonuçları Çizelge 5.3.5'te verilmiştir.

Çizelge 5.3.5. Beyaz elma şarabı birinci grup optimizasyon deneyleri için GC-MS sonuçları

Deney No.	Etıl alkol(%v/v)	Gliserol (%v/v)	Asetikasit (%v/v)
1	7.2	-	0.069
2	7.98	-	-
3	6.6	2.9	0.01
4	7.7	1.8	-

Gliserol oluşumu 3 ve 4 nolu şaraplarda gözlenmektedir. Gliserol mayanın durağan üreme fazında üretilen sekonder bir bileşik olup şarapta viskoziteyi artırarak yumuşak bir tat oluşmasını sağlayarak içimi kolaylaştıran bir bileşiktir. Ayrıca şarapta fermentasyon sırasında etanolden sonra oluşan en önemli üründür. Bu çalışmada üretilen gliserol düşük sıcaklıkta yapılan fermentasyona göre fazladır. Bunun sebebi olarak da, kükürt miktarının (150 mg/L) fazla olması ve fermentasyon sıcaklığının yüksek olması gösterilebilir. Kükürtlemenin az yapıldığı (50 mg/L) 1 ve 2 nolu şaraplarda gliserole rastlanmamıştır.

Şaraplarda gözlenen diğer bir bileşik ise asetik asittir. Asetik asitin şarapta oluşum nedeni kontaminasyon sonucu fermentasyon ortamında üreyen asetik asit bakterileridir. Diğer bir nedeni alkol fermentasyonu sırasında yan ürün olarak çok az miktarda oluşmasıdır. 1 ve 3 nolu şaraplarda asetik asite rastlanmıştır.

Deney süresince ağırlık azalmalarından, ampirik olarak oluşan etil alkol Eşitlik 5.1’de verilen denklik kullanılarak hesaplanmış, oluşan etil alkolün, ağırlık değişimi ile olan ilişkisi incelenmiştir. Ağırlık azalmasından ampirik olarak hesaplamalar, alkol miktarları ile GC/MS sonuçları tam olarak birbiri ile örtüşmemektedir. Bu da fermentasyon sırasında şekerin alkol dışında başka bileşiklere dönüşmesin kaynaklanmaktadır. Ağırlık azalması ile ampirik olarak yapılan hesaplarda glikozun sadece etil alkole dönüştüğü düşünülerek yapılmıştır. Bu durumda fermentasyon sırasında CO₂ çıkışı ile meydana gelen ağırlık azalması bize şarabın içinde oluşan alkolü net olarak vermemektedir. Ağırlık azalması sadece fermentasyon hızını, fermentasyonun başlaması, bitişi ve kullanılan şeker miktarını göstermektedir.



5.3.2. İkinci grup deneyler

Bu deneyler diğer yapılan deneyler ile sıcaklık hariç diğer koşullar aynı tutularak ve aynı elma kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon Çizelge 5.3.3’e uygun olarak 18°C’de gerçekleştirilmiştir. 25°C’de yapılan deneyde fermentasyon öncesi uygulanan işlemlerin aynısı bu deney içinde uygulanmıştır. Fermentasyon süresince pH ve ağırlık azalması her gün ölçülmüş, viskozite, glikoz, absorbans ve yoğunluk deney başlangıcı ve sonunda ölçülerek sonuçlar karşılaştırılmıştır. Fermentasyon 12 gün sonra kesilmiştir. Şarap ikinci aktarmadan sonra GC/MS’de analizlenmiştir. Günlük alınan ölçümler Ek 2’de Çizelge Ek 2.5, Çizelge Ek 2.6, Çizelge Ek 2.7, Çizelge Ek 2.8’de verilmiştir.

İkinci grup olarak yapılan bu deneyler birinci grup deneyler ile aynı koşullarda sadece sıcaklığı farklı tutularak yapılmıştır. Deney süresince ağırlık azalması ve pH her gün ölçülmüştür. Viskozite, yoğunluk, absorbans elma suyu ve oluşan şarap için ölçülerek ölçüm değerleri karşılaştırılmıştır. Yapılan detaylı hesaplamalar Ek 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 5.3.6. Beyaz elma şarabı ikinci grup optimizasyon deneylerinde yoğunluk, viskozite ve absorbans için fermentasyon öncesi ve sonrası değerleri

	Başlangıç Yoğunluk(g/L)	Fermentasyon sonunda yoğunluk(g/L)
Elma şarabı 5	1047.94	999.18
Elma şarabı 6	1047.94	996
Elma şarabı 7	1047.94	1000
Elma şarabı 8	1047.94	1003
	Başlangıç Viskozite(kg/m.sn)	Fermentasyon sonunda Viskozite(kg/m.sn)
Elma şarabı 5	23.52*10 ⁻⁴	14.92*10 ⁻⁴
Elma şarabı 6	23.52 *10 ⁻⁴	15.34*10 ⁻⁴
Elma şarabı 7	23.52*10 ⁻⁴	15.13 *10 ⁻⁴
Elma şarabı 8	23.52*10 ⁻⁴	15.88 *10 ⁻⁴
	Başlangıç Absorbans	Fermentasyon sonunda Absorbans
Elma şarabı 5	18.18	11.34
Elma şarabı 6	18.18	12.12
Elma şarabı 7	18.18	11.46
Elma şarabı 8	18.18	12.10

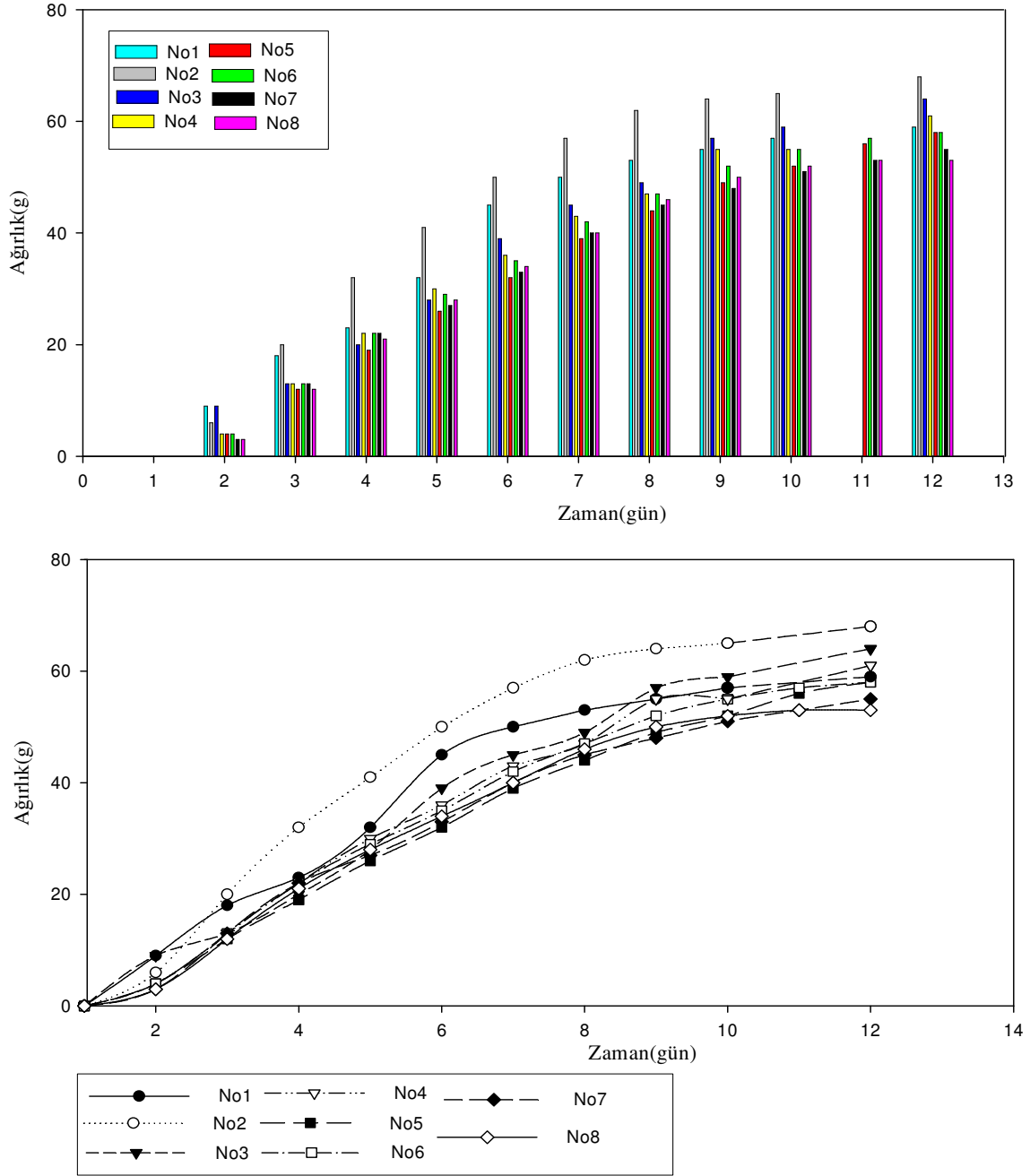
Elde edilen veriler birinci grup deneyler ile uyusmaktadır. Yoğunluk, viskozite ve absorbans değerlerinde şarap oluşumu sonucu bir azalma görülmektedir. Deneyler sonunda ikinci aktarmadan sonra şarap örnekleri GS/MS’de analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 5.3.7’de verilmiştir.

Çizelge 5.3.7. Beyaz alma şarabı ikinci grup deneyleri için GC/MS sonuçları

Deney No.	Etil alkol(%v/v)	Gliserol (%v/v)	Asetikasit (%v/v)
5	9.7	0.005	0.004
6	6.9	0.055	0.01
7	6.2	0.12	0.02
8	9.6	0.024	0.01

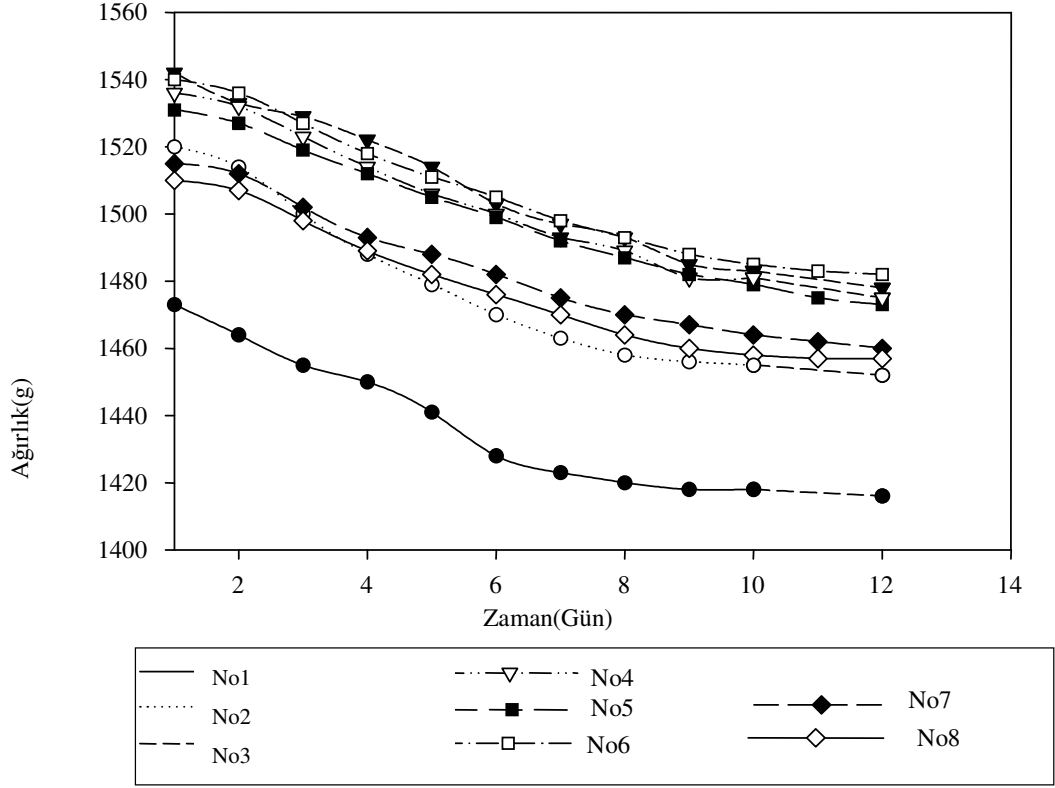
Gliserol oluşumu ikinci grup deneylerin tümünde görülmektedir, fakat miktarları birinci grup deneylerde elde edilene kıyasla azdır. Bu da düşük sıcaklıkta fermentasyonun gliserol oluşumunu azalttığını göstermektedir. Deney sonuçlarının hepsinde görülen diğer bir bileşik de asetikasittir, fakat miktarı azdır.

İki grup halinde yapılan toplam 8 deneyin ağırlık değişimi ölçülerek çizilen grafikler Şekil 5.6 ve Şekil 5.7'de verilmiştir. Şekil 5.6'da 24 saat ara ile fermentasyon bitimine kadar oluşan günlük toplam ağırlık azalmasındaki artış hem doğrusal olarak hem de bar grafiği olarak çizilmiştir. Şekil 5.7'de ise fermentasyon bitimine kadar oluşan ağırlık azalması yine 24 saat ara ile doğrusal bir grafik olarak verilmiştir. 25°C'de gerçekleşen birinci grup deneylerde fermentasyonun daha hızlı olduğu görülmektedir. Ağırlık azalması 18^o'de yapılan ikinci grup deneylere oranla daha fazla olmuştur. Bu sonuçlar daha önce yapılan deney sonuçları ile uyum göstermektedir. Oluşan ağırlık azalması ile elma şaraplarındaki alkol hakkında bir yorum yapılamamaktadır. Fakat yapılan literatür çalışmalarından edinilen bilgiler doğrultusunda yüksek sıcaklıktaki fermentasyonda üzüm içinde bulunan şekerin daha hızlı fermente edildiği söylenebilir.

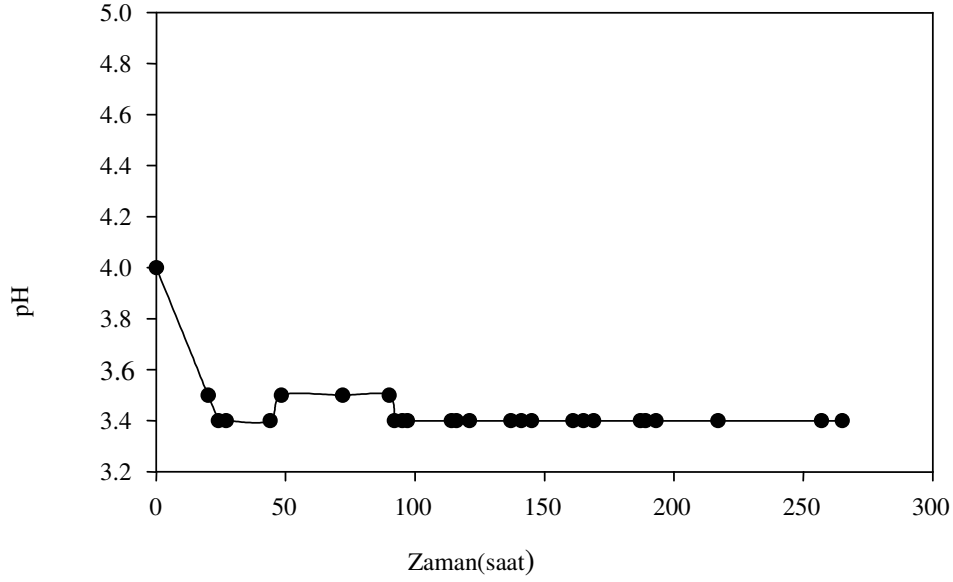


Şekil 5.6. Beyaz elma şarabı optimizasyon deneylerindeki günlük toplam ağırlık değişimi

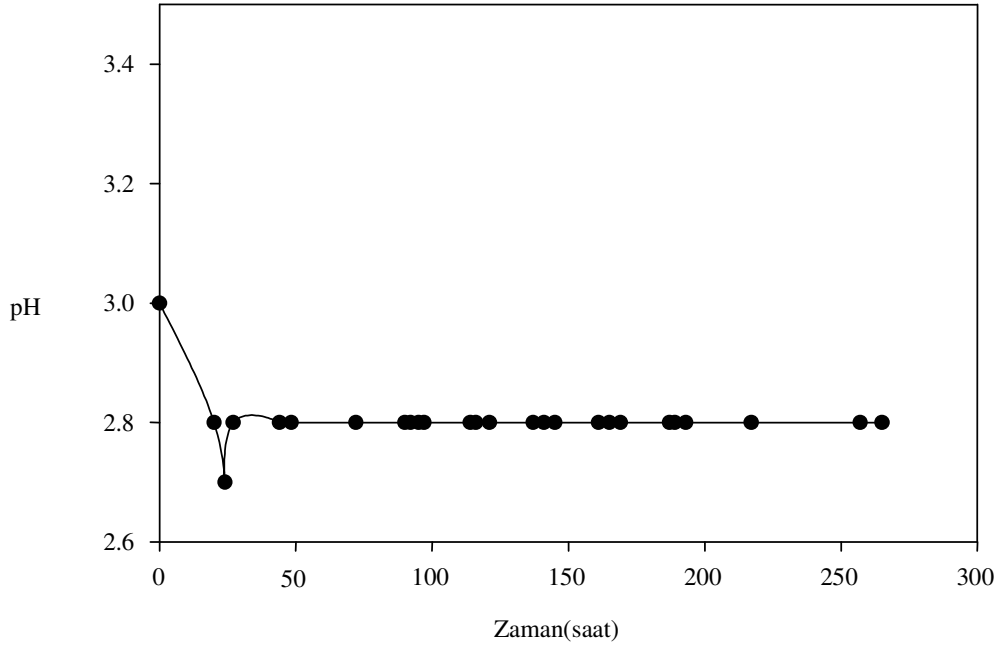
Ağırlık azalması en fazla 2 nolu şarapta gözlenmiştir. En az ise 8 nolu şarapta gözlenmiştir. Fakat etil alkol oluşumu 8 nolu deneyde daha fazladır. Yapılan 8 deney karşılaştırılacak olursa en fazla alkol 5 nolu şarapta oluşmuştur. İlk grup olarak yapılan deneylerde pH değişimleri gerçek zamanlı olarak grafiğe geçirilmiş, 1 ve 2 nolu deneylerin grafikleri Şekil 5.8 ve Şekil 5.9’da verilmiştir.



Şekil 5.7. Beyaz elma şarabı optimizasyon deneylerinde fermentasyon süresince ağırlık azalması

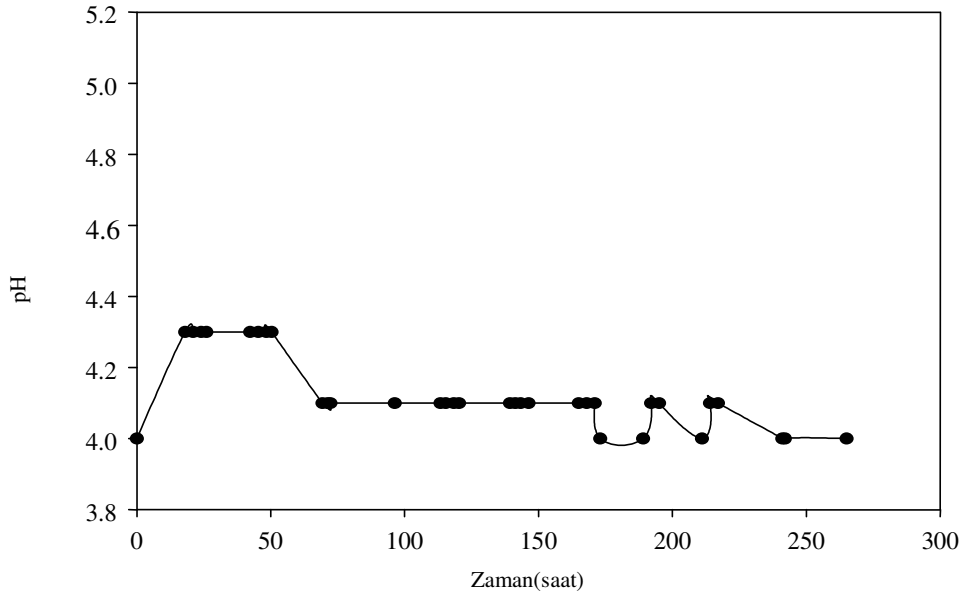


Şekil 5.8. Beyaz elma şarabı 1 nolu optimizasyon deneyinde pH değişimi

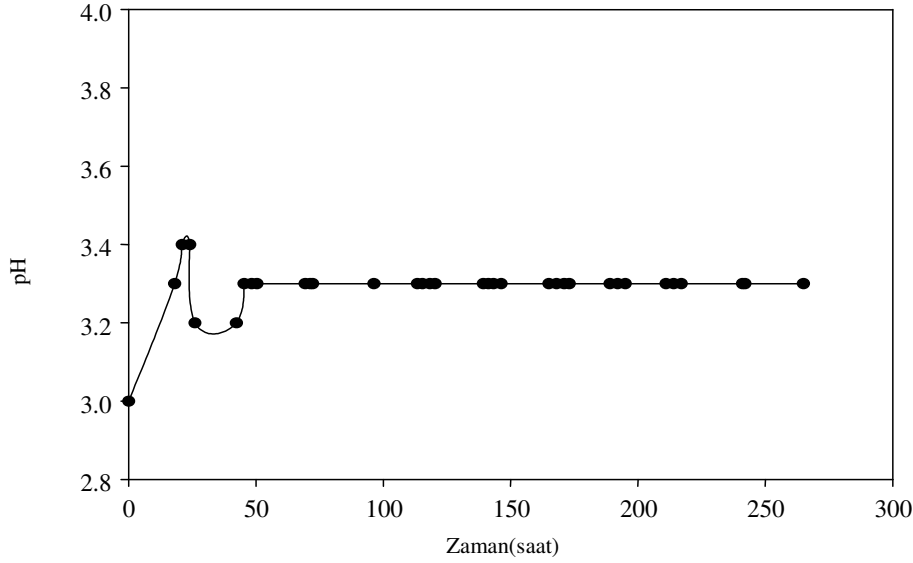


Şekil 5.9. Beyaz elma şarabı 2 nolu optimizasyon deneyinde pH değişimi

Her iki grafikte de fermentasyonun başlaması ile pH değeri düştüğü görülmektedir. Daha sonra sabit hale gelmektedir. İkinci grup olarak yapılan deneylerden 5 ve 6 nolu deneyin pH grafikleri Şekil 5.10'da ve Şekil 5.11'de verilmiştir.



Şekil 5.10. Beyaz elma şarabı 5 nolu optimizasyon deneyinde pH değişimi



Şekil 5.11. Beyaz elma şarabı 6 nolu optimizasyon deneyinde pH değişimi

Beyaz elma şarabı ikinci grup optimizasyon deneylerinde 5 ve 6 nolu deneylerde pH'ta başlangıçta artış olduğu görülmektedir. Bunun sebebi olarak da ortamda kontaminasyon olabileceği düşünülmektedir. pH değeri kısa bir süre sonra düşerek sabit bir değerde kalmıştır. pH ölçümleri için çizilen diğer grafikler Ek 2.4'de verilmiştir.

5.3.3. Merkez nokta deneyleri

İstatistiksel deneysel tasarım metodlarından biri olan tam iki seviyeli faktöriyel deneysel tasarım metodu seçilmiş ve seçilen üç parametre için sekiz deney iki grup halinde yapılmıştır. Deneysel hataların hesaplanması için parametrelerin merkez nokta değerlerinde üç tekrarlı deney yapılmıştır. Başlangıç pH için belirlenen değer 3.5, 100ppm kükürt, fermentasyon sıcaklığı ise 21.5°C'dir. pH ve ağırlık azalması her gün ölçülmüş, yoğunluk, viskozite, glikoz, absorbans deney başlangıcı ve sonunda ölçülmüştür. Deney süresince elde edilen ölçümler Ek 2'de Çizelge Ek 2.9, Çizelge Ek 2.10, Çizelge Ek 2.11'de, hesaplar Ek 2.3'de verilmiştir. Yoğunluk, viskozite, absorbans fermentasyon başlangıç ve sonunda ölçülerek Çizelge 5.3.8'de verilmiştir.

Çizelge 5.3.8. Orta nokta optimizasyon deneylerinde yoğunluk, viskozite, absorbans için fermentasyon öncesi ve sonrası değerleri

	Başlangıç Yoğunluk(g/L)	Fermentasyon sonunda yoğunluk (g/L)
Elma şarabı 9	1052.382	985.2
Elma şarabı 10	1052.382	984.6
Elma şarabı 11	1052.382	987.6
	Başlangıç Viskozite(kg/m.sn)	Fermentasyon sonunda Viskozite(kg/m.sn)
Elma şarabı 9	24.56*10 ⁻⁴	13.75*10 ⁻⁴
Elma şarabı 10	24.56*10 ⁻⁴	14.84*10 ⁻⁴
Elma şarabı 11	24.56*10 ⁻⁴	14.28*10 ⁻⁴
	Başlangıç Absorbans	Fermentasyon sonunda Absorbans
Elma şarabı 9	21.17	13.74
Elma şarabı 10	21.17	14.02
Elma şarabı 11	21.17	12.94

Orta nokta deneyleri için yapılan son üç deneyde fermentasyon 12 gün sonra kesilmiştir. Fermentasyon sonunda oluşan etil alkol GS/MS ölçümlerine göre Çizelge 5.3.9'da verilmiştir.

Çizelge 5.3.9. Beyaz elma şarabı merkez nokta deneylerinde GC/MS sonuçları

Deney No.	Etil alkol (%v/v)	Gliserol (%v/v)	Asetikasit (%v/v)
9	2.2	-	-
10	8.1	1.3	0.55
11	6.2	2.9	-

Deneyler sonunda şaraplar GS/MS'de analiz edilerek bağımlı değişken olarak seçilen etil alkol derişimleri belirlenmiştir. Deneyler optimum tasarım matrisi hazırlandıktan sonra deney numaraları rastgele seçilerek yapılmış ve GC/MS sonucuna göre elde edilen alkol derişimi (y) değerleri Çizelge 5.3.10'da verilmiştir.

Çizelge 5.3.10. Optimum tasarım matrisi

Standart Sıralama	Deney No	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	y
1	3	+1	+1	+1	+1	6.6
2	1	+1	+1	+1	-1	7.2
3	4	+1	+1	-1	+1	7.7
4	2	+1	+1	-1	-1	8
5	7	+1	-1	+1	+1	6.2
6	5	+1	-1	+1	-1	9.7
7	8	+1	-1	-1	+1	9.6
8	6	+1	-1	-1	-1	6.9
9	9	+1	0	0	0	2.2
10	10	+1	0	0	0	8.1
11	11	+1	0	0	0	6.2

Birinci dereceden regresyon modelinde bağımlı değişken ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişki 5.2 numaralı eşitlikte verilen doğrusal model kullanılarak gösterilmiştir (Alpbaz et al. 1997).

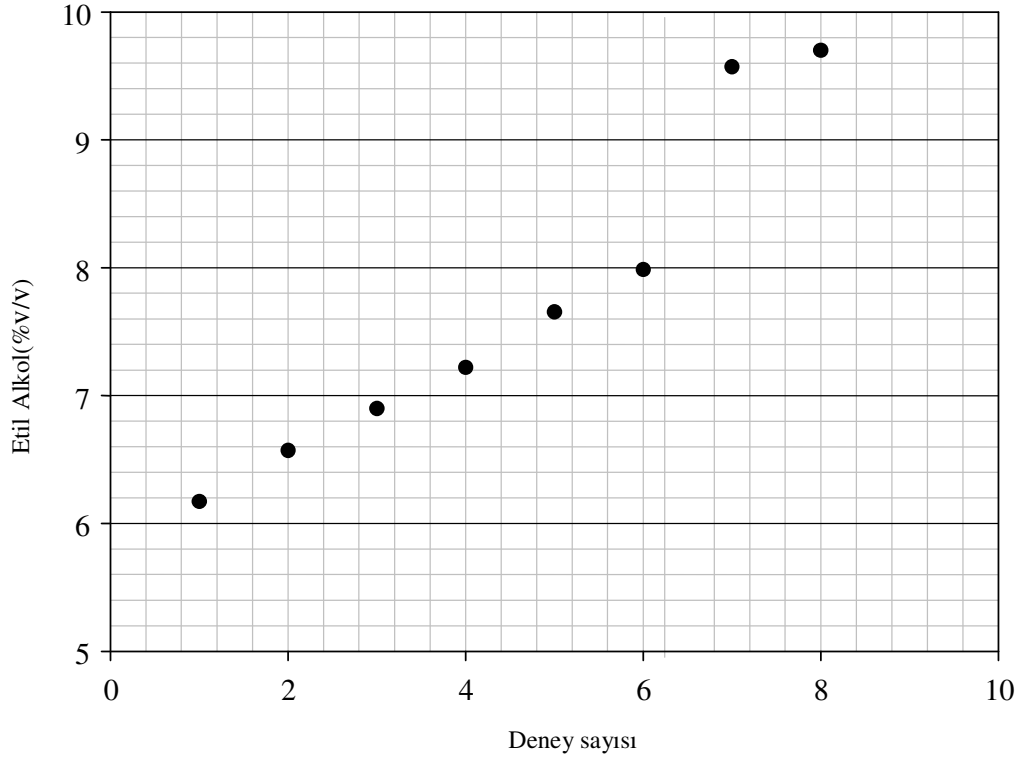
$$y=b_0+b_1X_1+b_2X_2+b_3X_3+b_{12}X_1X_2+b_{13}X_1X_3+b_{23}X_2X_3+b_{123}X_1X_2X_3 \quad (5.2)$$

Bağımlı değişken ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi ifade eden b katsayılarını bulmak için en küçük kareler yöntemi kullanılmış ve eşitlik 5.3 MATLAB kullanılarak çözülmüştür. Elde edilen model 5.4 nolu eşitlikte verilmiştir.

$$B=(X*X)^{-1}X*Y \quad (5.3)$$

$$y=7.7375-0.3625X_1-0.2125X_2-0.3125X_3-0.0125X_1X_2-0.1625X_1X_3-0.8125X_2X_3+0.7375X_1X_2X_3 \quad (5.4)$$

Deneyler tamamlandıktan sonra üretilen elma şarapları GC/MS'e gönderilerek şarap içerisinde oluşan etil alkol ölçülmüş ve alkol oluşumunda pH, sıcaklık ve kükürt parametrelerinden hangisinin fermentasyonda daha etkili olduğu incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda aşağıdaki grafikler çizilmiştir.

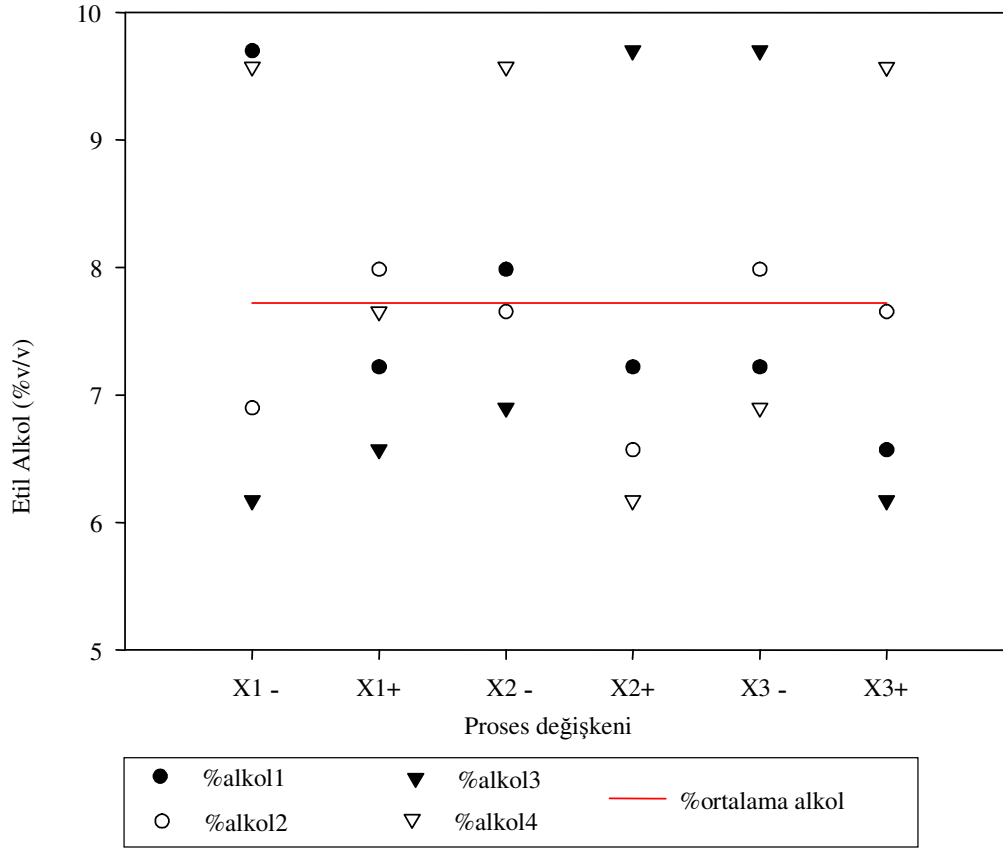


Şekil 5.12. Sıralandırılmış veri grafiği

	1	2	3	4	5	6	7	8
X1	-	+	-	+	+	+	-	-
X2	+	+	-	+	-	-	-	+
X3	+	+	-	-	+	-	+	-

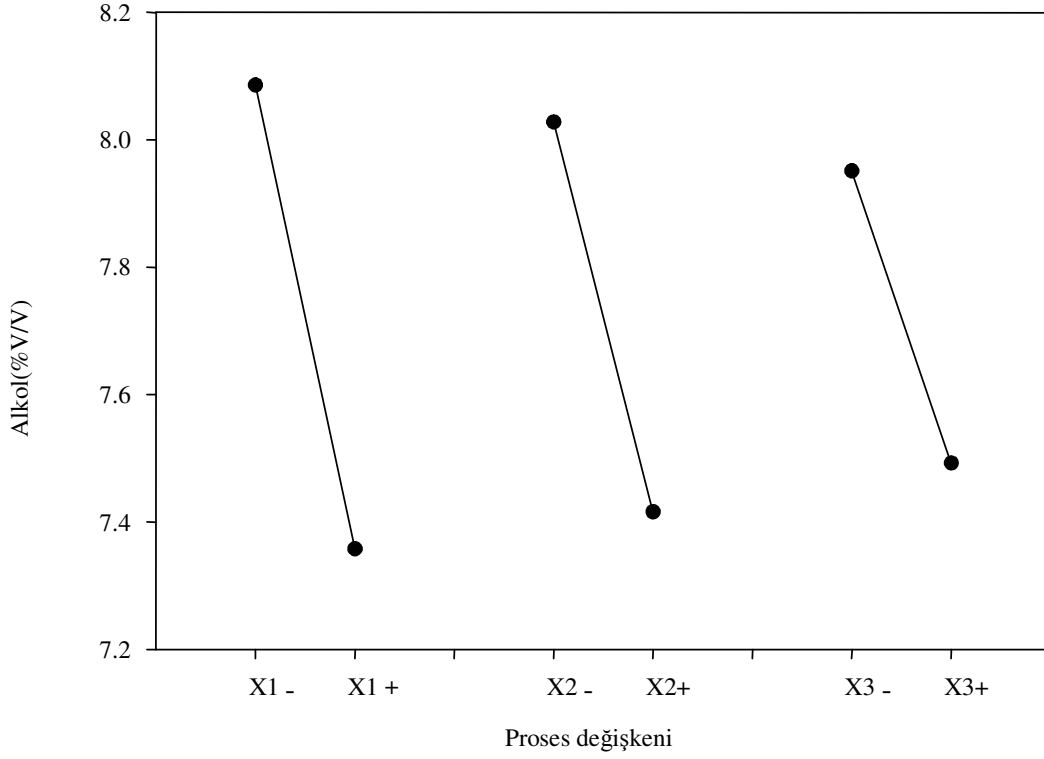
Beyaz elma şarabı üretiminde optimum işletim şartlarını incelemeye başlamadan önce etil alkol üretiminde en çok etkili olan parametrenin hangisi olduğu incelenmiştir ve bu nedenle de grafiksel veri analizi tekniklerinden bazıları kullanılmıştır.

Etil alkol oluşumunu en azdan en çoğa doğru sıralandırıldığı veri grafiği Şekil 5.12'de verilmiştir ve sıcaklığın minimum tutulduğu deney koşulunda en çok etil alkol oluştuğu görülmektedir. Diğer parametreler ile ilgili bir yorum yapılamamaktadır. Bu durumda proses çıktısı olan etil alkol oluşumunda birincil olarak sıcaklığın daha etkili olduğu söylenebilir.



Şekil 5.13. Veri dağılımı grafiği

Maksimum alkol oluşumu için seçilen parametrelerin minimum ve maksimum değerlerine göre çizilen veri dağılımı grafiği Şekil 5.13'te verilmiştir. Burada, seçilen üç parametrenin minimum ve maksimum değerlerinde oluşan % alkol ve ortalama % alkol değerleri verilmektedir. Dağınık parametre etkileri nedeni ile bu grafikten hangi parametrenin alkol üretiminde daha etkili olduğu ile ilgili bir yorum yapılamamaktadır.



Şekil 5.14. Dex ortalama grafiği

Şekil 5.14'de verilen dex (design of experiment) ortalama grafiđini incelediđimizde sıcaklıđın minimumdan maximuma geđtiđi noktada etil alkol oluřununun dűřtűđű gűrűlmektedir. Fakat yine pH ve kűkűrt ile ilgili bir yorum yapılamamaktadır. Bu iki parametrenin birbiri ile olan etkileřimi řarapta alkol oluřumunu aynı anda etkilediđini gűstermektedir.

5.4. Beyaz űzűm (Hasandede űzűmű) řarabı iđin Yapılan Optimizasyon Deneyi

Beyaz űzűm řarabı iđin yapılacak olan sıcaklık kontrolűnde uygulanması gereken kűkűrt miktarı ve seđilecek olan sıcaklık set noktası iđin 4 farklı sıcaklık ve 4 farklı kűkűrt miktarı kullanılarak optimizasyon deneyleri yapılmıřtır. Deneylerde parametrelerin deđerleri izelge 5.4.1'de verilmiřtir. 8 nolu deney ticari kűltűr kullanmadan ve kűkűrtleme yapılmadan oda sıcaklıđında yapılmıřtır.

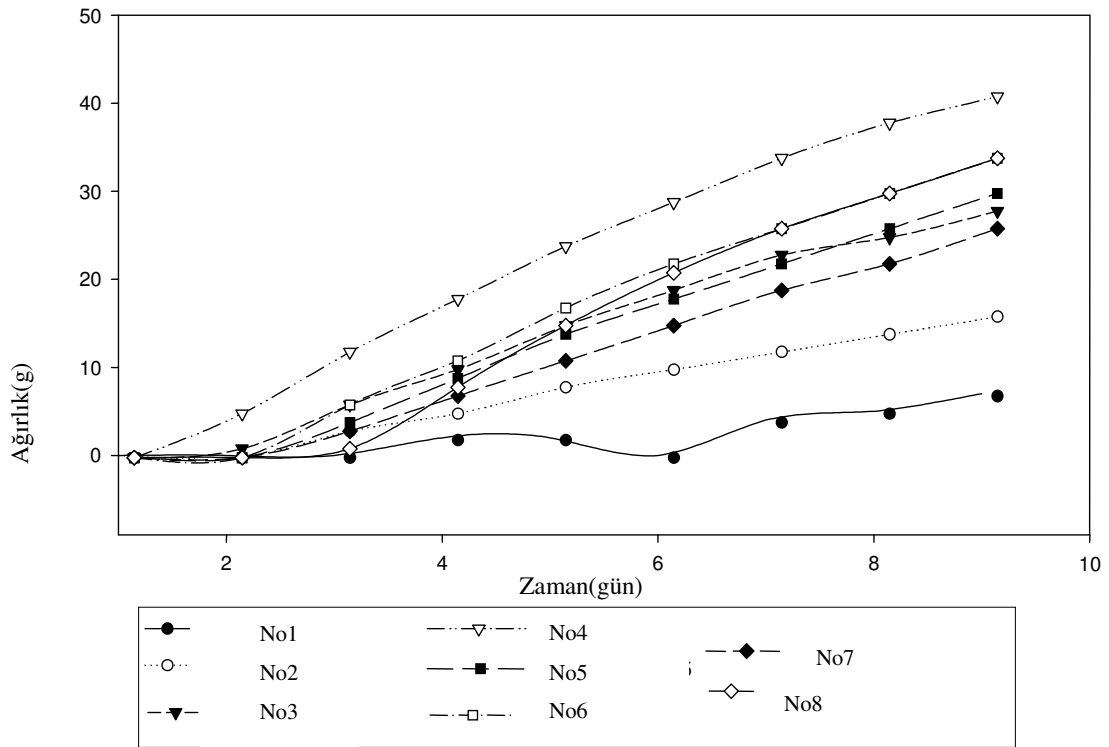
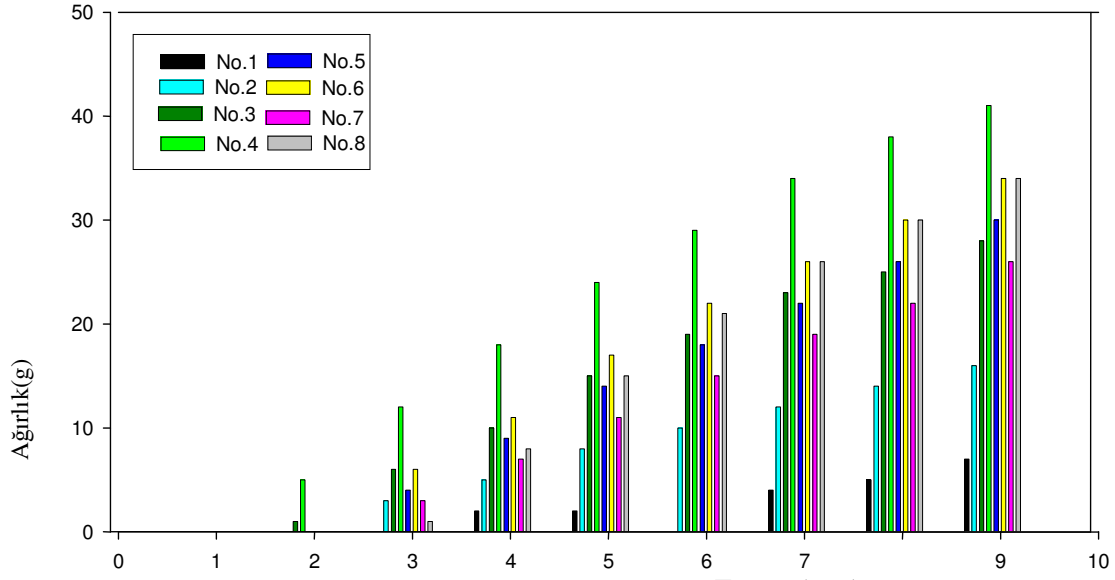
Çizelge 5.4.1. Deney tasarım matrisi

Deney No	Sıcaklık(°C)	SO ₂ (ppm)
1	12	50
2	18	50
3	24	50
4	30	50
5	18	0
6	18	100
7	18	150
8	25	0

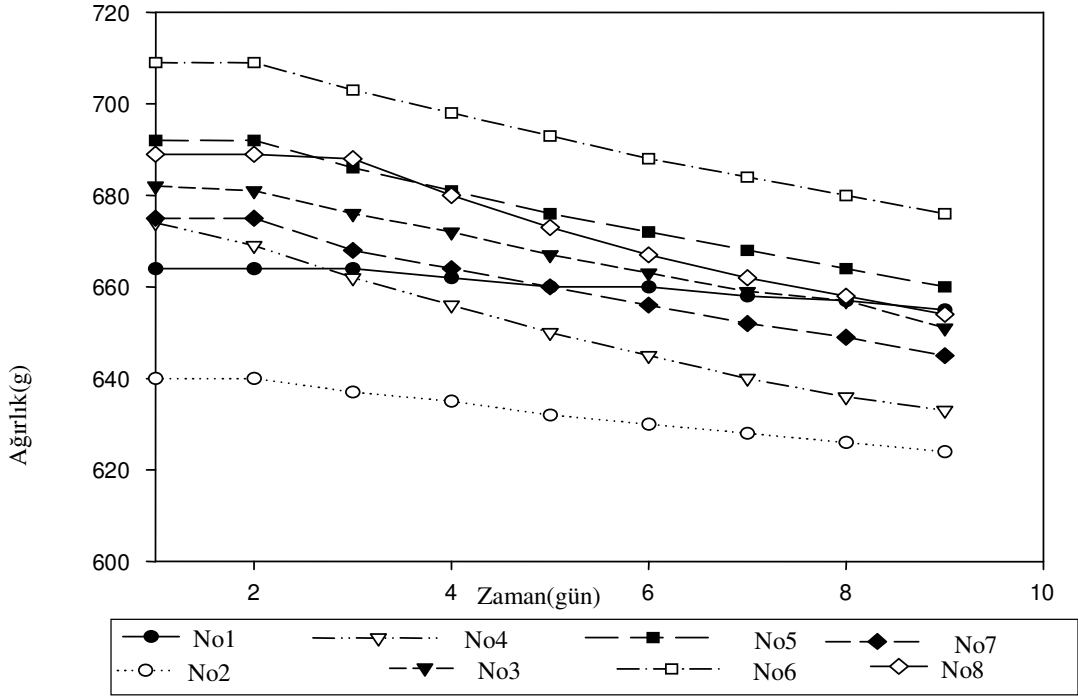
Fermentasyon süresince ağırlık değişimi 24 saat ara ile ölçülmüştür. Ayrıca plak yayım yöntemi kullanılarak deney başlangıcında ve sonunda canlı hücre sayımı yapılmıştır. Sıcaklık kontrolü için optimum değerlerin bulunması için yapılan bu deney 8 gün sürmüştür. Fermentasyon tam olarak bitmeden kesilmiştir. Sekiz gün boyunca da ağırlık değişimleri ölçülerek ölçümler Ek 3’de, hesaplar Ek 4.1’de verilmiştir. Elde edilen veriler Şekil 5.15 ve Şekil 5.16’de grafiğe geçirilmiştir. Fermentasyon kesildikten sonra canlı hücre sayımı yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.4.2’de verilmiştir.

Çizelge 5.4.2. Canlı hücre sayısı

Deney no	Fermentasyon öncesi canlı hücre sayısı (cfu/ml)	Fermentasyon sonrası canlı hücre sayısı (cfu/ml)
1	94.10^5	34.10^7
2	94.10^5	280.10^7
3	94.10^5	84.10^7
4	94.10^5	106.10^7
5	94.10^5	100.10^7
6	94.10^5	76.10^7
7	94.10^5	156.10^7



Şekil 5.15. Hasandede üzümü optimizasyon deneylerinde fermentasyon süresince günlük ve toplam ağırlık değişimi



Şekil 5.16. Hasandede üzümü optimizasyon deneylerinde fermentasyon süresince oluşan ağırlık değişimi

Şekil 5.15’de günlük olarak toplam ağırlık değişimi hem bar grafiği olarak hem de doğrusal grafik olarak verilmiştir. Şekil 5.16’da ise ağırlık değişimi günlük azalma ile doğrusal bir grafikte verilmiştir. Bu deneyde beyaz elma için yapılan optimizasyon deneylerinde görülen sonuca benzer bir sonuç elde edilmiştir. 1 nolu deneyde sıcaklık çok düşük olduğu için fermentasyon hem geç başlamış hem de çok yavaş gelişmiştir. 30 °C’de ise fermentasyon çok hızlı olmuştur. En fazla ağırlık azalmasının olduğu deneydir.

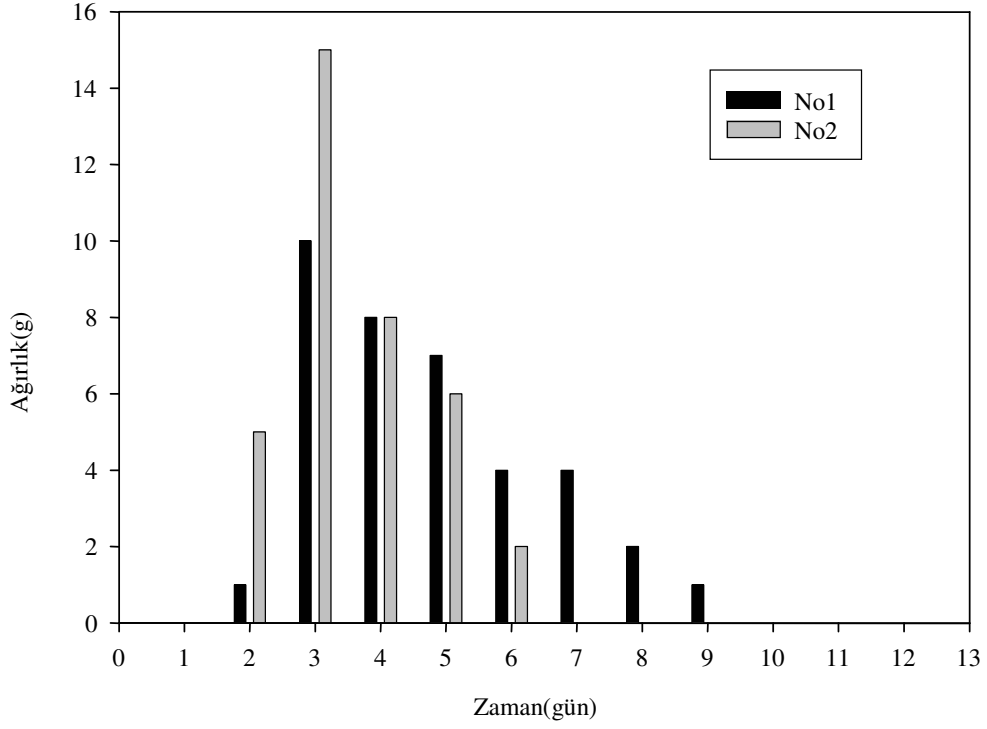
Fermentasyon kesildikten sonra şarap örnekleri GC/MS’e verilerek analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.4.3’te verilmiştir. Bu deney için amaçlanan şarap için etil alkol miktarının yüksek, metil alkol miktarının ise düşük değerde olduğu sıcaklık ve kükürt miktarının bulunarak sıcaklık kontrolü için yapılacak deneyde uygulanmasıdır. Bu nedenle hem etil alkol miktarı hem de metil alkol miktarı incelenmiştir. Fermentasyon tam olarak tamamlanmadan kesildiği için yapılan deneylerde bulunan etil alkol miktarı 8 günlük bir fermentasyonun sonucudur. Çizelge 5.4.3’te de görüldüğü gibi etil alkol miktarının yüksek, metil alkol miktarının düşük olduğu deney 2 nolu deneydir. Canlı hücre sayım sonuçlarına göre de 2 nolu deneyde hücrelerin canlılığının diğer deneylere nazaran daha yüksek olduğu görülmektedir (bkz. Çizelge 5.4.2). Bu sonuç 18 °C’de yapılan fermentasyonda etil alkol inhibisyonunun daha az olduğunu ve fermentasyon sonuna kadar diğer koşullardaki şaraplara göre daha fazla etil alkol üretilebileceğini göstermektedir. Bu nedenle deneyin yapıldığı sıcaklık ve kükürt miktarı sıcaklık kontrolü için yapılacak deneyde kullanılmıştır. 8 nolu deney kontrol grubu olarak kullanılmış, kendiliğinden fermentasyona bırakılmış ve hiçbir parametre değiştirilmemiştir.

Çizelge 5.4.3. Hasadede üzümü fermentasyonunda GC/MS sonuçları

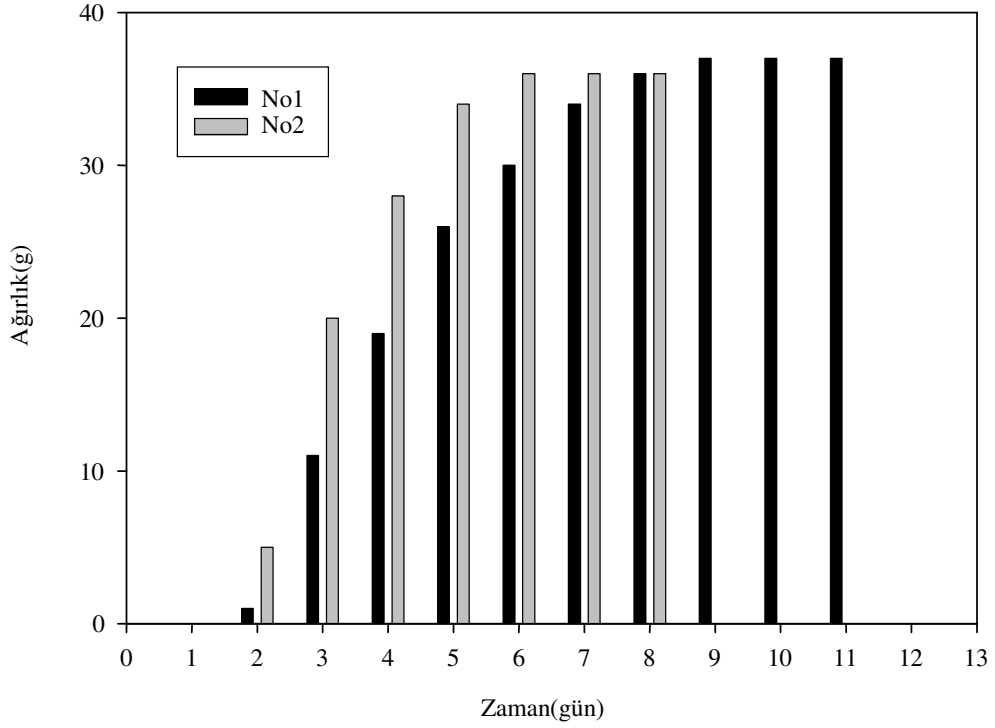
Deney no	Etil alkol(%v/v)	Metanol (%v/v)
1	9.3	0.6
2	9.8	0.19
3	9.7	0.24
4	9.8	0.2
5	9.6	0.35
6	9.3	0.67
7	9.1	0.8
8	9.5	0.4

5.4.1. Narince Üzümü Kullanılarak Yapılan Fermentasyon

Hasadede (Kırıkkale) üzümü kullanılarak yapılan optimizasyon deneyinden sonra fermentasyon için bulunan uygun sıcaklık ve kükürt değerleri kullanılarak Narince üzümü ile fermentasyon yapılmıştır. Fermentasyonlardan biri optimum koşullarda diğeri ise oda sıcaklığında yapılmıştır. Fermentasyon sırasında ağırlık azalması ölçülmüş ve sonuçlar Şekil 5.17'da ve Şekil 5.18'de verilmiştir. Şekil 5.18'de verilen grafikte iki farklı sıcaklıkta yapılan deneyler karşılaştırmalı olarak verilmiş ve günlük ne kadar ağırlık değişimi olduğu bar grafiği ile gösterilmiştir. Şekil 5.17'da ise günlük toplam olarak ağırlık değişimlerinin ne kadar olduğu karşılaştırılmıştır. Ölçüm sonuçları Ek 4'de Çizelge Ek 4.1 ve Çizelge Ek 4.2'de, hesaplar Ek 4.1'de verilmiştir. Oda sıcaklığında yapılan fermentasyonda (No 2) ağırlık azalması hızlı olmuştur ve fermentasyon diğeri göre daha kısa sürede bitmiştir. 18 °C'de yapılan fermentasyon (No 1) ise yavaş gelişmiş ve daha uzun sürmüştür.



Şekil 5.17. Narince üzümü fermentasyonunda günlük ağırlık değişimi



Şekil 5.18. Narince üzümü fermentasyonunda günlük toplam ağırlık değişimi

Fermentasyon bittikten sonra şarap örnekleri GC/MS'de analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 5.4.4'te verilmiştir. 50 ppm kükürtleme yapılarak oda sıcaklığında (24 °C) gerçekleştirilen 2 numaralı fermentasyon sonucu üretilen şarapta, metil alkol miktarı 50 ppm kükürtleme yapılarak 18 °C'de 1 nolu fermentasyon sonucu üretilen şaraba göre daha yüksek çıkmıştır. Etil alkol ise 1 nolu şarapta daha yüksektir.

Çizelge 5.4.4. Narince üzümü ile fermentasyonu GC/MS sonuçları

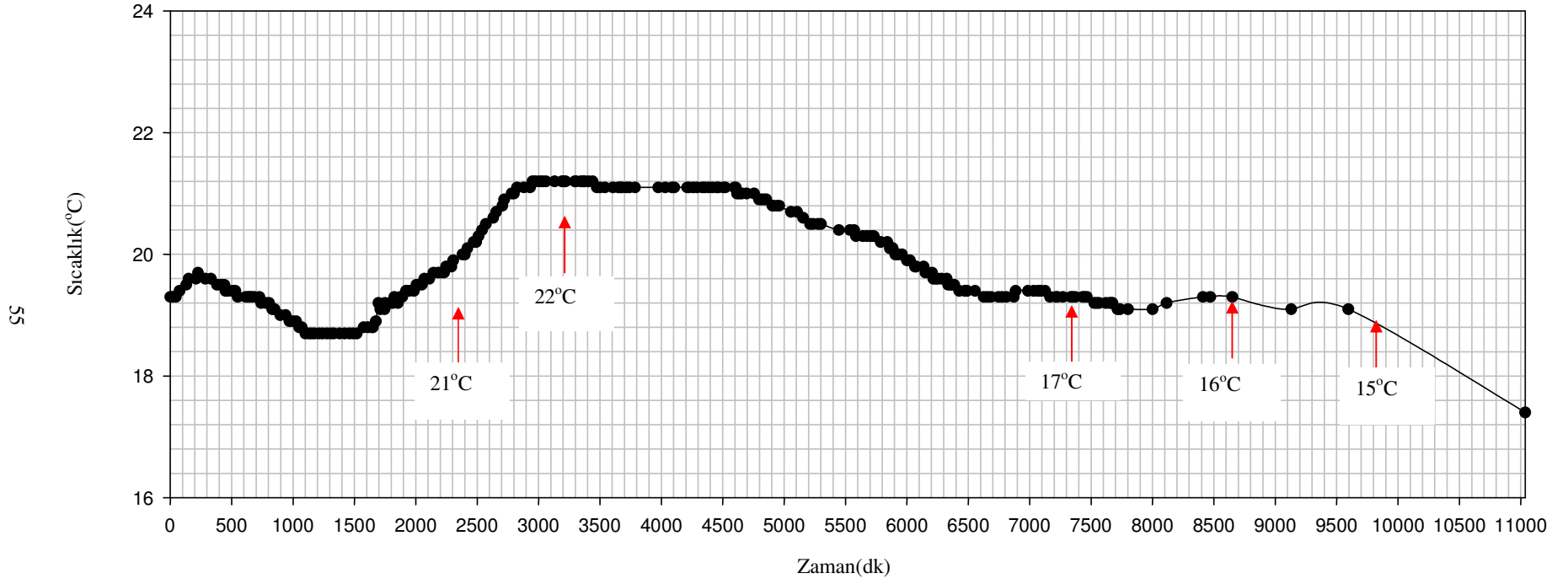
Deney no	Etil alkol (%v/v)	Metil alkol (%v/v)
1	9.7	0.2
2	9.6	0.3

5.5. Beyaz Üzüm Şarabında Dinamik Deneyi

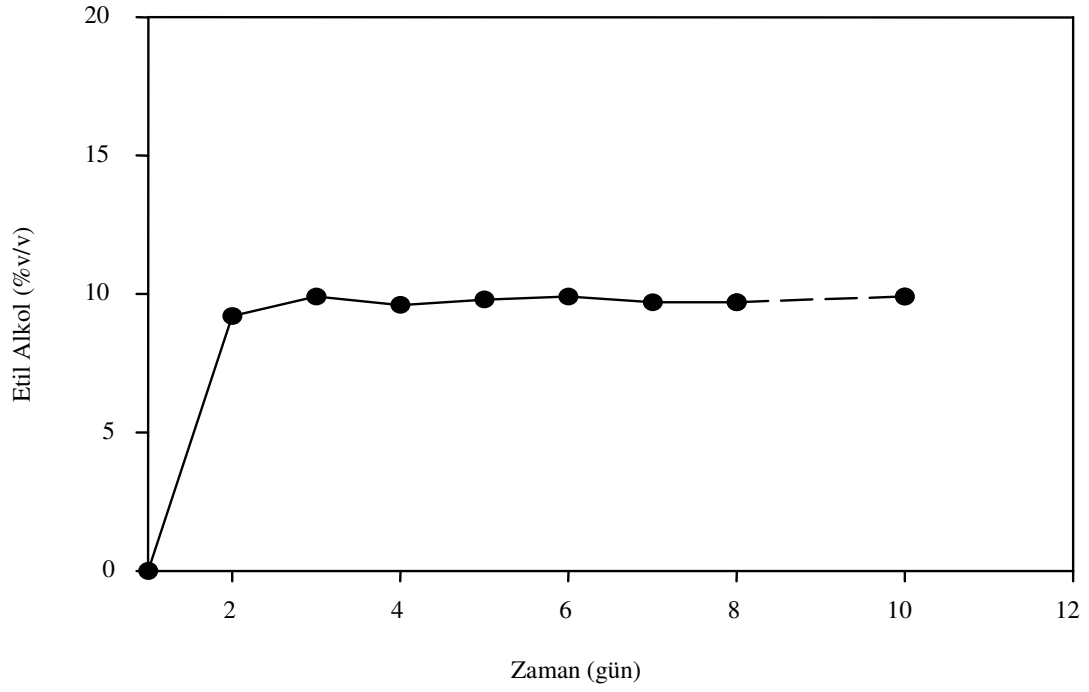
Silindirik yapıda cam ve dıştan ısıtmalı olan pilot ölçekli reaktörün kullanılabilir hacmi 100 L olarak ölçülmüştür. 150 kg Narince üzümü kullanılarak 80 L üzüm suyu elde edilmiş ve reaktöre konmuştur. Kükürtleme 75 ppm olarak belirlenmiştir. Çünkü, reaktörde olması gerekenden fazla hava boşluğu kalmıştır. Bu nedenle şarabın kontaminasyon riski çok fazladır.

Yapılan çalışmada reaktör sıcaklığı termoçift ile ölçülmüş, belli zaman aralıklarında reaktör içi sıcaklık ve dış çevre sıcaklığı not edilmiştir. Elde edilen veriler grafiklenmiş ve Şekil 5.18'de verilmiştir. Grafikte sıcaklık kontrolü yapılmadan fermentör içindeki sıcaklığın fermentör içi sıcaklık ve dış çevrenin sıcaklığından nasıl etkilendiğini görmekteyiz. Kırmızı oklar ile grafik üzerinde verilen değerleri dış çevrenin sıcaklığını göstermektedir.

Günlük etil alkol oluşumu GC/MS'de analizlenerek elde edilen sonuçlar Şekil 5.20'de verilmiştir. Fermentasyon sırasında günlük mayanın gelişimini gözlemek amacı ile canlı hücre sayımı yapılarak çizilen grafik Şekil 5.21'de verilmiştir.

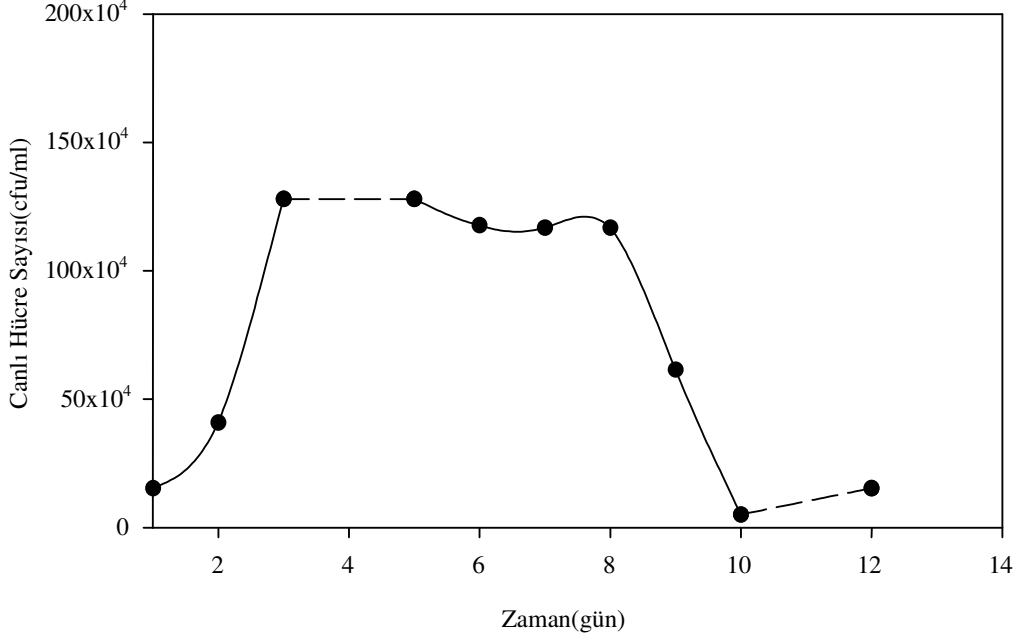


Şekil 5.19. Narince Üzümlü pilot ölçekli fermentasyonda dinamik deney



Şekil 5.20. Narince üzümünün pilot ölçekli fermentasyonda etil alkol oluşumu

Elde edilen veriler doğrultusunda çizilen grafikte etil alkolün fermentasyon sonucu kültür ortamında her gün için ne kadar üretildiği görülmektedir. Etil alkol aşılama yapıldıktan sonra iki gün içinde maksimum değerine ulaşmış ve sonraki günlerde bu değer değişmediği görülmektedir. Onuncu günün sonunda etil alkol %'sinin 9.9 olduğu görülmektedir. Şarapta analiz edilen metanol ise %0.04'tür.



Şekil 5.21. Narince Üzümünün pilot ölçekli fermentasyonda mayanın gelişimi

Şekil 5.21’de verilen grafikte pilot ölçekte yapılan fermentasyonda mayanın fermentasyon süresince nasıl geliştiği görülmektedir. Sekizinci günden sonra maya gelişmesi yavaşlamaktadır. Onuncu günde fermentasyon kesilerek şarap aktarılmıştır, bu nedenle ortamdaki oksijenden dolayı onuncu günden sonra maya gelişmesinde artış gözlenmektedir. Şekil 5.19’da verilen etil alkol oluşum grafiği ile karşılaştırılacak olursa etil alkolün kültürde maksimum derişimi ulaşması ile maya canlı hücre sayısının azaldığı görülmektedir.

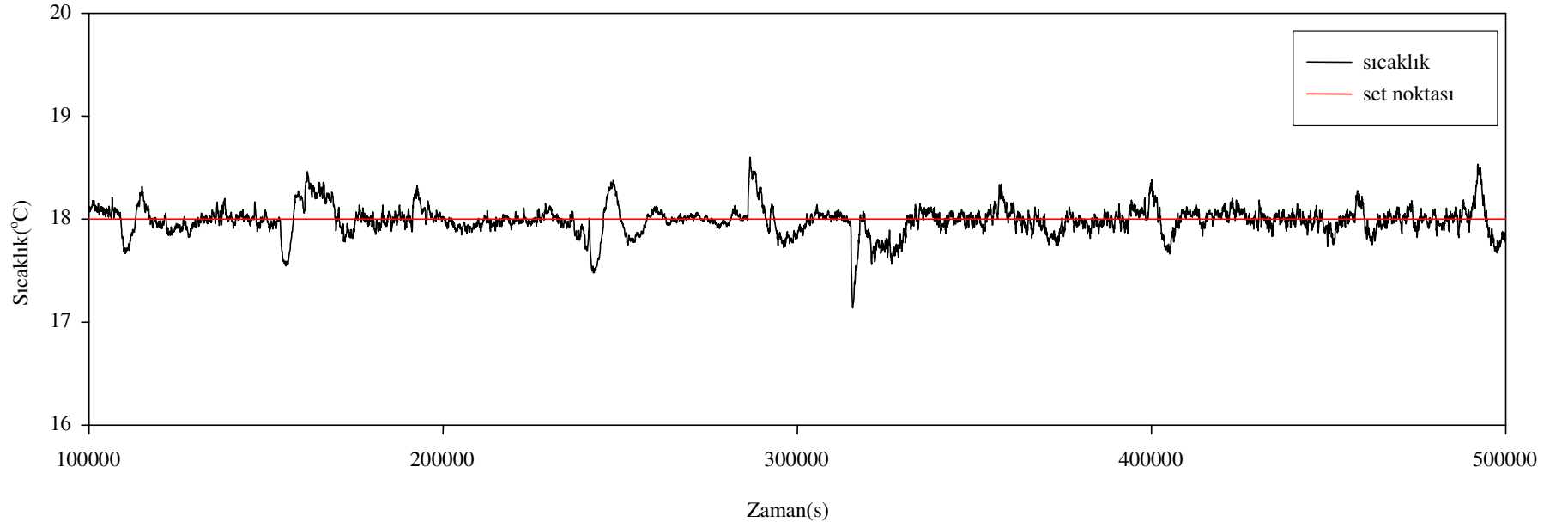
5.6. Beyaz Üzüm Şarap Fermentasyonunda PID Yöntemi ile Sıcaklık Kontrolü

5.6.1. PID parametrelerinin bulunması

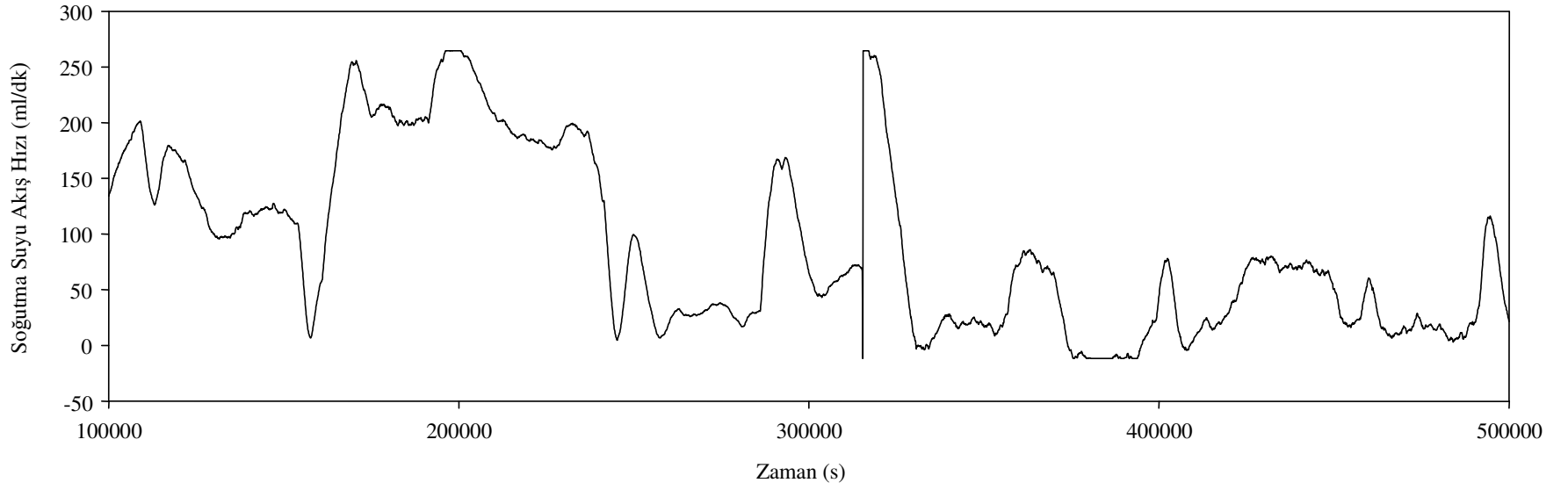
PID parametreleri Ankara Üniversitesi Kimya mühendisliği Proses Kontrol Laboratuvarında daha önce sıcaklık kontrolü için, Cohen ve Coon yöntemi kullanılarak bulunan parametrelerin şarap üretimi prosesine denemesi ile elde edilmiştir.

5.6.2. PID yöntemi ile sıcaklık kontrolü

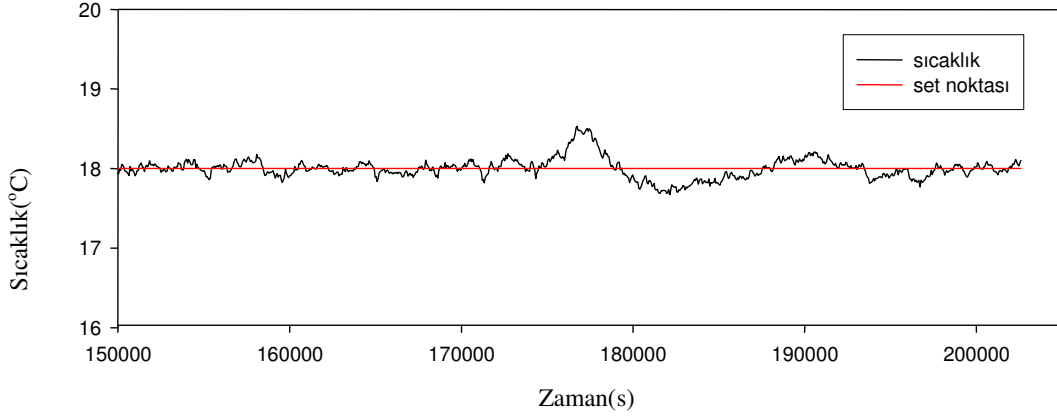
PID yöntemi kullanılarak sıcaklık kontrolü yapılan çalışmada günlük etil alkol oluşumu ve mayanın gelişmesi takip edilmiştir. Mayanın gelişmesi canlı hücre sayımı yapılarak gözlemlenmiştir. Şarap üretimi sırasında yapılan sıcaklık kontrolünde set noktası olarak 18 °C seçilmiştir. Kontrol deneyleri yaklaşık olarak 8 gün sürmüştür ve elde edilen veriler grafiğe geçirilmiştir. Şekil 5.22’de beyaz şarap PID kontrolü sonucunda oluşan sıcaklık değişimi verilmiştir. Şekil 5.23’de ise soğutma suyu akış hızı verilmiştir. Yaklaşık olarak 8 günlük sıcaklık kontrolünden sonra PID kontrolün performansını gözlemlemek amacı ile soğutma suyu akış hızına pozitif etki verilmiştir. Ayrıca, set noktasına pozitif ve negatif yönde etki yapılarak yine PID performansı değerlendirilmiştir.



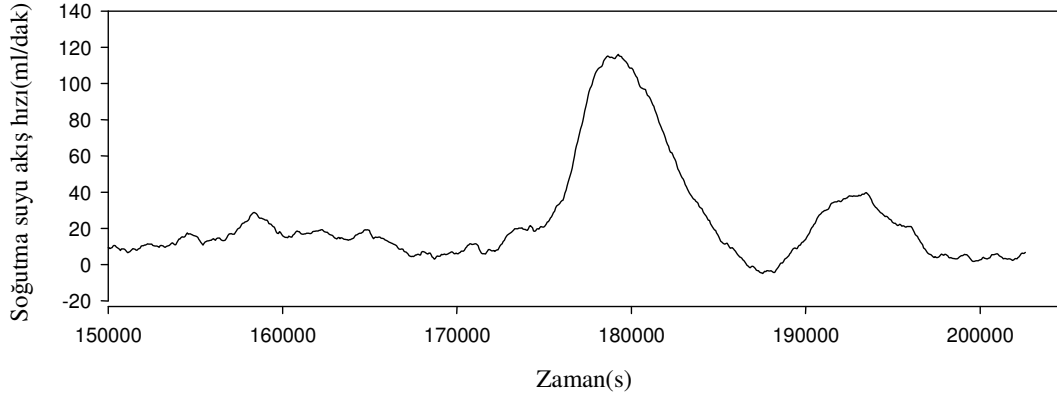
Şekil 5.22. Beyaz şarap fermentasyonunda PID kontrolü



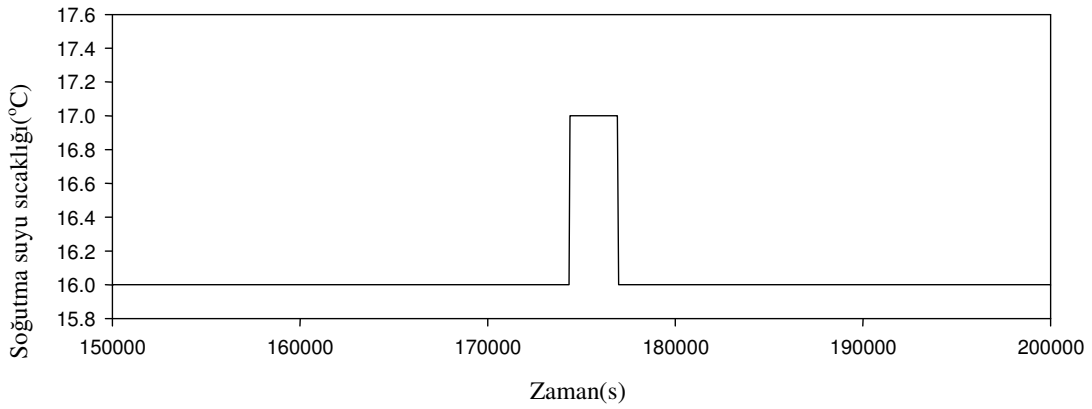
Şekil 5.23. PID kontrolde soğutma suyu akış hızı değişimi



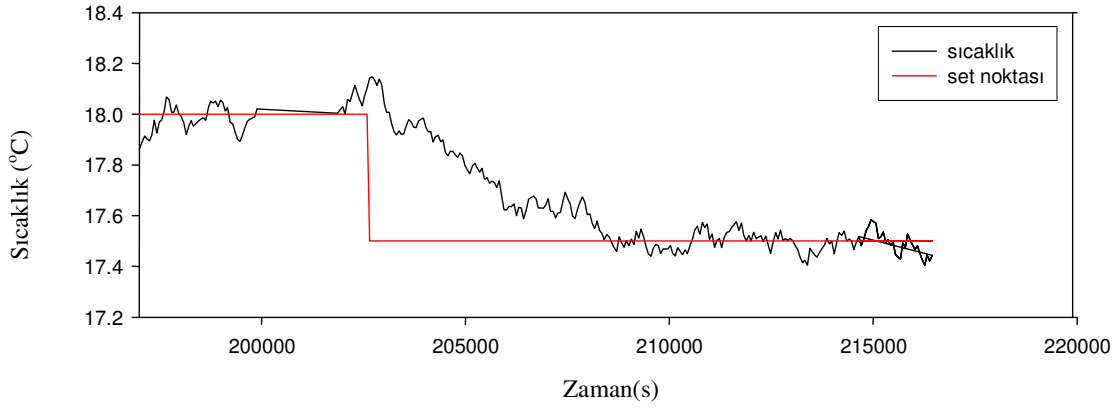
Şekil 5.24. Beyaz şarap fermentasyonunda soğutma suyu sıcaklığına verilen pozitif etki altında PID kontrolü



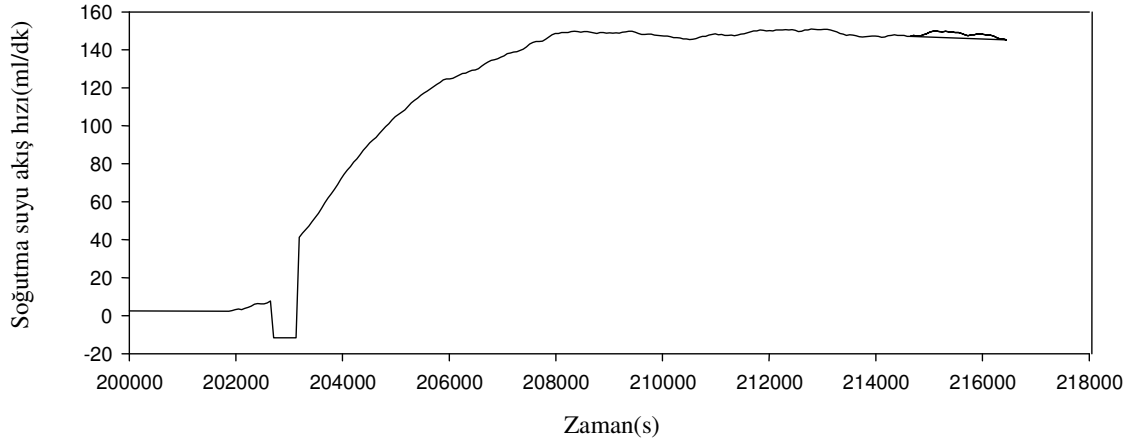
Şekil 5.25. Beyaz şarap fermentasyonunda soğutma suyu sıcaklığına verilen pozitif etki altında PID kontrolünde soğutma suyu akış hızı değişimi



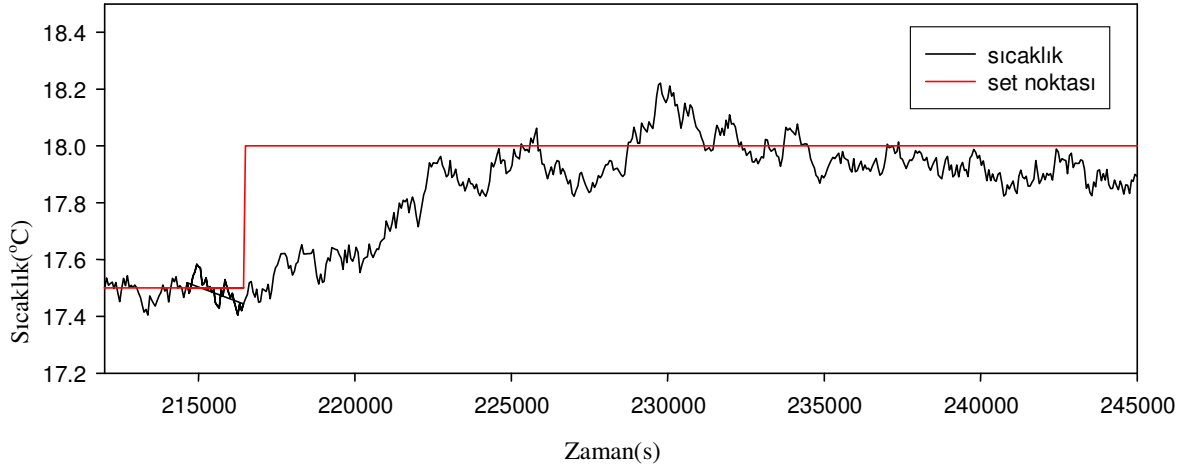
Şekil 5.26. Soğutma suyu sıcaklığına verilen pozitif etki



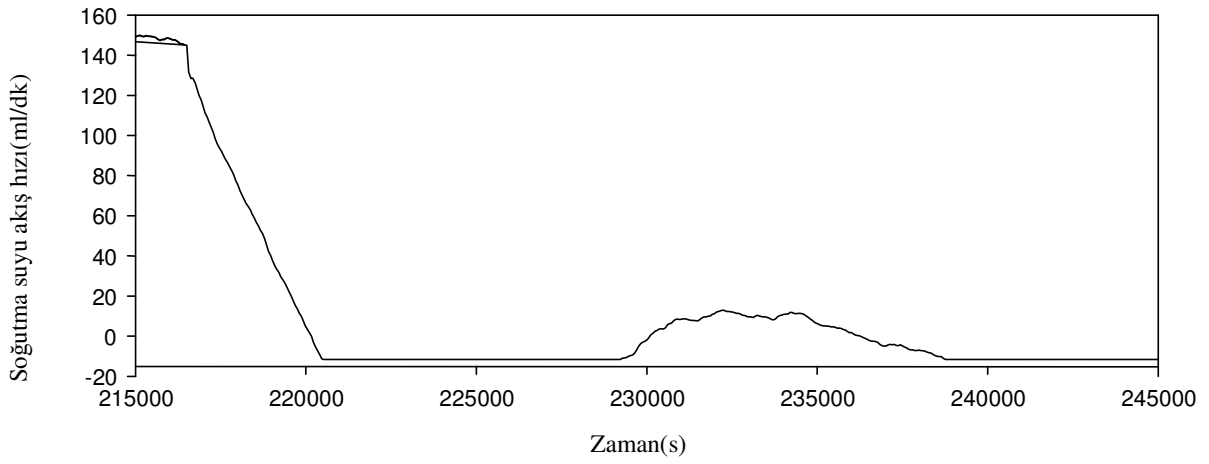
Şekil 5.27. Beyaz şarap fermentasyonunda set noktasına verilen negatif etki altında PID kontrolü



Şekil 5.28. Beyaz şarap fermentasyonunda set noktasına verilen negatif etki altında PID kontrolünde soğutma suyu akış hızı değişimi



Şekil 5.29. Beyaz şarap fermentasyonunda set noktasına verilen pozitif etki altında PID kontrolü



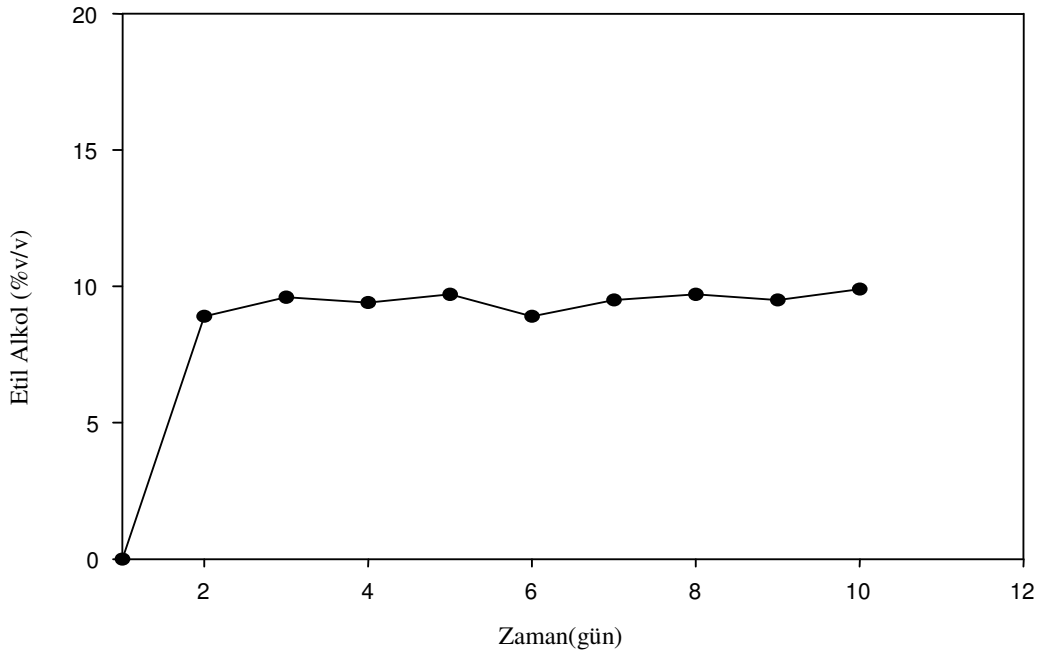
Şekil 5.30. Beyaz şarap fermentasyonunda set noktasına verilen pozitif etki altında PID kontrolünde sonucu soğutma suyu akış hızı

Beyaz şarap üretiminde PID sıcaklık kontrolünün performansını gözlemlemek için yapılan deneyler üçüncü grupta incelenebilir. Birinci grupta sistemin giriş değişkenlerinden soğutma suyu giriş sıcaklığına pozitif etki verilmiştir. İkinci grupta set noktasına negatif etki yapılmıştır. Üçüncü grupta ise set noktasına pozitif etki yapılarak PID kontrolün performansı gözlenmiştir.

Şekil 5.24'te verilen grafikte soğutma suyu sıcaklığına pozitif yönde yapılan etki sonucu oluşan sıcaklık değişimi gözlenmektedir. Şekil 5.25'te verilen grafikte giriş değişkenine verilen etki sonucu oluşan soğutma suyu akış hızındaki artış gözlenmektedir. Şekil 5.25'te ise sistem giriş değişkeni olan soğutma suyu sıcaklığına verilen pozitif etki görülmektedir.

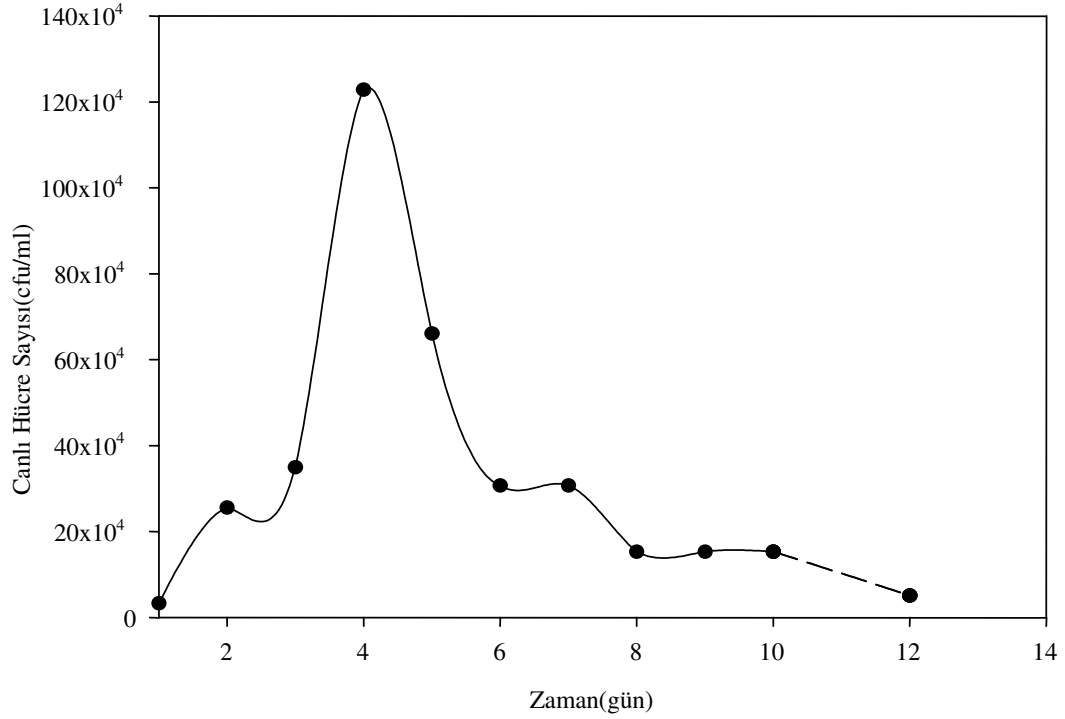
Şekil 5.27'da verilen grafikte set noktasına yapılan negatif etki görülmektedir. Set noktası 18'den 17.5'a düşürülmüştür. Şekil 5.28'de ise set noktasındaki değişim sonucu oluşan soğutma suyu akış hızındaki artış gözlenmektedir.

Şekil 5.29'de verilen grafikte set noktası 17.5'dan tekrar 18'e çıkartılarak pozitif yönde bir artış yapılmıştır. Bu etki sonucu soğutma suyu akış hızındaki değişim ise Şekil 5.30'da verilmiştir. Soğutma suyu sıcaklığına yapılan pozitif etki ve set noktasına yapılan negatif etki sonucu sistem istenilen set noktasında sıcaklığı sabit tutmayı başarmıştır. Fakat set noktasına tekrar pozitif yönde yapıla etkide sistem sıcaklığı set noktasında tutmakta yetersiz olmuştur.



Şekil 5.31. PID kontrolü ile üretilen beyaz şarapta etil alkol oluşumu

Şekil 5.31'da verilen grafikte PID kontrolü yapılarak üretilen beyaz şarapta oluşan etil alkol %'si verilmiştir. Fermentasyonun ilk iki gününde alkol oluşumunun maksimum olduğu görülmektedir. Fermentasyonun diğer günlerinde ise etil alkol artışı daha az olmuştur. 10. günün sonunda oluşan etil alkol miktarı % 9.9'dur. Metil alkol ise %0.03'tür.



Şekil 5.32. PID sıcaklık kontrolünde maya gelişimi

Laboratuvar ölçekli fermentörde PID kontrolü yapılan çalışmada fermentasyon süresince mayanın gelişimi Şekil 5.32'de verilmiştir. Maya canlı hücreleri sayısında dördüncü günden sonra hızlı bir azalma görülmektedir. Altıncı günden sonra bu azalış daha da yavaşlamakta ve onikinci günde maya sayısı minimum olmaktadır.

5.7. Meyve Şarapları

Beyaz üzüm ve elma ile yapılan şarap çalışmalarına ek olarak vişne, şeftali, kırmızı üzüm şarapları üretimi yapılmıştır. Vişne ve Kalecik Karası Üzümü ile yapılan şaraplar başarılı sonuçlar vermiştir. Portakal ve şeftali şaraplarında olumlu bir sonuç elde edilmemiştir.

Yapılan portakal şarabında meyve suyunda şeker ayarlaması yapılmamıştır. Bu nedenle alkol oranı düşük ve ekşi bir şarap elde edilmiştir. Vişne şarabında ise sukroz kullanılarak şeker-asit ayarlaması yapılmış ve ticari kültür kullanılmıştır. Meyve suyunun yoğunluğu 1100 gr/L olarak ayarlanmıştır. Fermentasyon yaklaşık olarak 20 °C'de gerçekleşmiş, 50ppm kükürt uygulanmıştır. Fermentasyon onyediyedi gün sonra bitmiştir. Şarap bir gece buz dolabında bekletilip aktarma yapılmıştır. Şarapta bulunan kükürt kokusunun giderilmesi için laminar akışlı kabinde bir kaptan diğerine aktararak havalandırılmıştır. Bir hafta bekletildikten sonra jelatinle durultma yapılmıştır. Durultma için % 0.5'lik şarap-jelatin çözeltisi hazırlanmış ve bundan 0.5 ml, 1ml, 1.5 ml, gibi artan miktarlarda 5 ml şaraba uygulanmış ve en iyi durultma oranı bulunmuştur. Bu oran 5 ml şarap için 1 ml'dir. Daha sonra bu oran şarabın tümü için uygulanmış iki gün buz dolabında bekletilerek şarap santrifüj edilmiştir. Şarap örneği GC/MS'de analiz edilmiş ve sonuçlar Ek 5'te verilmiştir. Üretilen şarap, nicel ve nitel özelliklerine bakılarak başarılı bulunmuştur.

Şeftali şarabı üretimi başarısız olmuş mayanın çok hızlı gelişmesi sebebiyle aşırı CO₂ çıkışı olmuş ve fermentasyon gerçekleşmemiştir. Kalecik karası üzümü ile yapılan şarap olumlu olmuş ve GC/MS'de analiz edilmiş elde edilen sonuçlar Ek 5'te verilmiştir.

6. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Yapılan kuramsal ve deneysel incelemeler doğrultusunda beyaz üzüm şarabı üretimi sırasında sıcaklığın önemli bir parametre olduğu ve kontrol edilmesi gerektiği görülmüştür. Endüstride kullanılan aç-kapa (on-off) kontrolden daha gelişmiş bir kontrol şekli olan PID kontrolü uygulanmış ve %9.9 (v/v) etil alkol içeren şarap üretilmiştir.

Kontrol deneyleri yapılmadan önce üretilen şaraplarda fermentasyon öncesi ve fermentasyon sırasında dikkat edilmesi gereken işlemler ve şarapta istenmeyen ürünlerin nasıl oluştuğu ile ilgili bilgiler deneysel olarak gözlemlenmiş, yapılan literatür çalışmaları ile sonuçlar desteklenmiştir.

Deneylerde üretilen şaraplarda kontaminasyon riskinin azaltılması ve fermentasyondan sonra şarabın korunması amacı ile kükürtleme yapılmaktadır. Tez kapsamında yapılan deneylerde metabisülfid kullanılmıştır. Uygun değerlerde kullanılan kükürt şarabı koruduğu gibi fazla kullanılması halinde şarap kokusunda ve tadında olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Ayrıca 200 ppm'den fazla kullanmak yasal değildir. Çünkü kanserojen özellik göstermektedir ve sağlık açısından tehlikeli olmaktadır. Bu nedenle de yapılan çalışmalarda kükürtleme için optimum değer olarak 50 ppm kullanılmıştır. Kükürt miktarında yapılan artış sonucu şarapta gliserol miktarının arttığı görülmüştür.

Deneyler sırasında meyve suyu yoğunluğu, viskozitesi ile şarap yoğunluğu ve viskozitesi karşılaştırılmıştır. Meyve suyu içinde bulunan şekerin alkole ve şarap içinde bulunan diğer bileşiklere dönüşmesi ile viskozite ve yoğunluk değerlerinin düştüğü görülmüştür.

Şarap analizleri ile şarapta oluşan metil alkol miktarı da incelenmiştir. Yapılan literatür çalışmaları sonucu metil alkolün, meyve hücre duvarında bulunan pektinden kaynaklandığı görülmüştür. Şarapta bulunması gereken metil alkol miktarı 0.1-0.2 gr/L olarak verilmiştir. Metil alkol oluşumu pektin yapısında bulunan metil grubundan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle fermentasyondan önce üzüm suyu pektinaz enzimi ile muamele edilip pektin özüm suyundan uzaklaştırılmaktadır. Meyve yapısında bulunan pektin yüksek sıcaklık ve asidik koşullarda yıkılmaktadır. Bekletilmiş elmalar ile yapılan fermentasyonda metil alkolün yüksek olduğu görülmüştür. Bu da yine bekleme sürecinde pektinin yıkımından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle de şarap yapılacak meyvenin taze olması gerekmektedir. Tez kapsamında yapılan şarap fermentasyonlarında pektinaz enzimi kullanılmamıştır. Optimum koşul olarak seçilen sıcaklık, pH ve kükürt değerlerinde metil alkol derişimi literatürde bildirilen değerdedir. Fakat ev tipi şarap üretimi uygulamalarında metil alkolün değeri yüksek çıkmıştır. Ayrıca üzüm şarabı için yapılan optimizasyonda kükürt miktarı arttıkça metil alkol derişiminde de artış olmuştur. Literatür çalışmalarında bu sonuca dair bir açıklamaya rastlanmamıştır. Bu nedenle kükürt miktarının şarap içindeki metil alkolü artırmasına dair bir genelleme yapılamamaktadır. Buna benzer deneylerin tekrar edilerek sonuçların tekrar değerlendirilmesi gerekmektedir. Oda sıcaklığında ve kendiliğinden fermentasyona bırakılan şaraplarda da metil alkol yüksek çıkmıştır. Elde edilen sonuçlar yüksek sıcaklığın veya kükürt miktarının etil alkol oluşumunda bir etmen olabileceklerini düşündürmektedir. Fakat bu sonuç tekrar edilen deneylerle desteklenmesi gerekmektedir.

Şarap üretimi için yapılan çalışmalardan biri de mayanın genetik ve morfolojik yapısının incelenmesi olmuştur. Maya ökaryot bir yapıya sahip olması nedeniyle hücre duvar yapısı insan kan hücre zar yapısına benzerdir. Bu bilgiler doğrultusunda insan kan hücre viabilite (canlılık) analizi için kullanılan "Trypan blue" mayalar için de kullanılmış ve canlı, cansız hücreler mikroskop altında incelenebilmiştir. Ölü olan maya hücre zarı Trypan blue boyasını geçirdiği için mavi olarak gözlenirken canlı olanlar renksiz olarak gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda mayalar Thoma lamında sayılmış ve fermentasyon sırasında maya gelişimi takip edilmiştir. Yapılan bu çalışmaya dair literatür bilgisine rastlanmamıştır.

Sıcaklık kontrolü için yapılacak çalışmaya temel olması amacı ile yapılan tam iki seviyeli faktöriyel deneysel tasarım metodu kullanılarak elde edilen birinci dereceden doğrusal regresyon modelinde sıcaklık parametresinin regresyon kat sayısı pH ve kükürt derişimine göre daha büyük çıkmıştır. Aynı zamanda ikili etkileşimler incelendiğinde de pH-kükürt parametrelerinin regresyon kat sayısı büyüktür. Bu sonuçlar bize

fermentasyon sırasında sıcaklık azalmasının (belirlenen maksimum ve minimum değerler aralığında) ve pH-kükürt değerlerindeki azalmanın etil alkol konsantrasyonunda artışa sebep olacağını göstermektedir.

Fermentasyon öncesi şeker-asit oranında bir sabitleme yapılmamıştır. PID kontrolünün başarılı olmasına rağmen bu durum şarap tadında ekşiliğe neden olmuştur. Üretim sırasında kullanılan reaktörün yapısından kaynaklanan sebeplerden dolayı tepe boşluğu fazla kalmış ve bu mayanın alkol üretim performansını kısıtlamıştır. Çünkü fermentasyon oksijensiz koşullarda gerçekleşmektedir ve kullanılan reaktörde bırakılması gereken boşluk reaktör hacminin ¼'ü kadar olmalıdır. Reaktör tepe boşluğundan kaynaklanan bu sıkıntudan dolayı günlük etil alkol oluşumu da sağlıklı gelişmemiştir. Aynı zamanda şarapta kontaminasyon riski artmıştır.

Şarap üretimi, şarap mikrobiyolojisi, fermentasyon ve üretimde etkili olan parametrelerin deneysel ve kuramsal olarak araştırıldığı bu çalışma temel alınarak daha sonra yapılabilecek araştırma önerileri aşağıda verilmiştir:

1. Alkoldehidrogenaz enziminin aktivitesinin maksimum olduğu bir pH değeri saptanarak bu değerde pH kontrolü yapılabilir. Çünkü enzim aktivitesinin artışı şarapta üretilen etil alkol miktarında artışa sebep olabilir.
2. Şarap içeriğinde kaliteyi artırmak amacı ile tek tip değil heterojen kültür kullanılabilir.
3. Şarapta lezzeti artırmak amacı ile fermentasyon sırasında süper kritik akışkan kullanılıp meyve içeriğinin şaraba ekstraksiyonu sağlanabilir. Bu çalışma için lezzeti artırmak amacı ile farklı meyvelerden aynı anda fermentasyon yapılması tavsiye edilir.
4. Kükürt yerine geçebilecek başka bir antimikrobial bileşik üzerine çalışma yapılabilir.
5. Sıcaklık kontrolü yapılarak şarapta oluşan etil karbometin azaltıldığı gösterilebilir. Etil karbomet yüksek sıcaklıkta ürenin alkol ile tepkimeye girmesi sonucu şarapta oluşan kanserojen bir bileşiktir.
6. Sıcaklık kontrolü yapılmış ve yapılmamış şarapların protein içerikleri karşılaştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Alpbaz, M. 1993. Proses Kontrol. A.Ü.Fen fakültesi Kimya Müh. Bölümü. Beşevler-Ankara. 1-6, Türkiye.
- Alpbaz, M. Bursalı, N. Ertunç, S. Akay, B. 1997. Application of statistical technique to the production of *Saccharomyces cerevisiae* (baker' yeast). *Biotechnol. Appl. Biochem*, 26;91-96.
- Balli, D. Flari, V. Sakellarakı, E. Schoına, V. Icomopoulou, M. Bekatorou, A. Kanellaki, 2003. Effect of yeast cell immobilization and temprature on glycerol content in alcoholic fermentation with respect to wine making. *Process Biochemistry*, 39; 499-506.
- Bevorič, M. Mauri, J. Wondra, M. Košmerl, T. Bavec, D. 2003. Influence of temprature and CO₂ on fermentation of Cabernet Sauvignon must. *Food Technol. Biotechnol*, 41(4); 353-359.
- Box, G.E.P. Hunter, W.G. Hunter J.S. 1978. *Statistics for experimenters* Jhon Wiley and Sons, 306, New York.
- Bursalı, N. 1997. Kesikli Bir Biyoreaktörde Optimum Adaptif Genelleştirilmiş Prediktif Kontrol Metodunun Uygulanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi.
- Christaki, T. Tzia, C. 2002. Quality and safety assurance in winemaking. *Food Control*, 13;503- 517.
- Demirsoy, A. 1999. Yaşamın Temel Kuralları. Palme, cilt1/kısım1; 121-136, Türkiye.
Department of Biochemstriy, Moleculer Biology and Cell Biology, Web sitesi,
<http://www.biochem.northwestern.edu/ibis/morimoto/protocols/II%20Eukaryotes/A.%20Cell%20culture%20Trypan%20Blue%20Staining.pdf>. Erişim Tarihi: 03.11.2005
- Dharmadhikari, M. November/ December 1999. Small-scale wine production. *Vineyard and vintage view*. Volume 14(6);part 5 .
- Dharmadhikari M. March/ April 2001. Wine yeast. *Vineyard and vintage view*. Volume 16(2)
- Eisenman, L. 1999. pH and Sulfur dioxide. *The home winemakers manuel*, chapter 6; 1-8.
- Ertunç, S. 2003. Sürekli-Zaman Genelleştirilmiş Öngörmeli Kontrolün (CGPC) Bir Biyoreaktöre Uygulanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi.
- Fleet, G. H. 2003. 1 September. Yeast interactons and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*. 86(1-2);11-12.
- Food and Agriculture Organization of The United Nations, Web sitesi, <http://www.fao.org/docrep/x0560e/x0560e09.htm>, Erişim tarihi: 05.10.2005.
- Gözükara, E. M. 1997a. Biyokimya-1. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, 246-247, Türkiye.
- Gözükara, E. M. 1997b. Biyokimya-2. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, 779-820, Türkiye.
- Gu, Saliang. Hakim, A. Du, G. Fegelsang, K. Anthony, B. Trombella, B. Hodson, G. June 2002. Effect of arginine addition to must on wine urea, ethyl carbamate, and ethyl carbomate potential in Cabernet Sauvignon, Shrah, Chardonnay and Sauvignon Blanc grapes. ASEV 53rd Annual Meeting Portland, Oregon.
- Herrero, M. Garcia, L. A. Diaz, M. 2003. The Effect of SO₂ on the production of ethanol, acetaldehyde, organic acids, and flavor volatiles during industrial cider fermentation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51; 3455-3459.
- Kolonkaya, N. 1996. Genel Mikrobiyoloji. Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji A.B.D, Ankara, 90-97, Türkiye.
- Leão, C. 1985. Effect of ethanol and other alkonols on the temprature relations of glucose transport and fermentation in *S. cerevisiae*". *Appl.Microbiol. Biotechnol*. 22;359-363.
- López, A. Secanell, P. 1992. A simple mathematical empirical model for estimating the rate of heat generation during fermentation in white-wine making. *Int.J.Refrigeration*. Vol. 15. No: 5.
- Martínez, G. López, A. Esnoz, Vírveda, P. Ibalrola, J. 1999. A new fuzzy control system for white wine fermentation. *Food Control*. 10;171-180.
- Mattick, L. R. 1983. Simultaneous adjustment of ph and total acidity in wine. *Food Chemistry*. 10; 163-172.
- Nanba, A. Nishizava, Y. Tsuchıva, Y. Nagai, S. 1987. Kinetic analysis for batch ethanol fermentation of *Sacharomyces ceravisiae*. *J.Ferment. Technol*. 3(65);277-283.
- Özçelik, F. 1998. Fermente gıdaların üretim teknolojisi. Gıda Denetçisi Eğitim Materyali T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Ankara. 298.
- Özilgen, M. Çelik, M. Bozoğlu, T. F. 1991 March. Kinetics of spontaneous wine production. *Enzyme Microb. Technol*. 13;252-256.
- Polar, A. 1971. *Process Control*. Heinmann Educational Boks, 160-182. London.

- Polychroniadou, E. Kanellaki, M. Iconomopoulou, M. Koutinos, A.A. Marchant, R. Banat, I. M. 2003. Grape and apple wines volatile fermentation products and possible relation to spoilage. *Bioresource Technology*. 87 ; 337-339.
- Querol, A. 2003. Adaptive evolution of wine yeast. *Int.J. Food Microbiology*. 86; 3-10.
- Rao, M. Qiu, Haiming. 1993. *Process Control and Engineering*. The University of Alberta, Edmonton, 15-54, Canada.
- Sablayrolles, J. M. Barre, P. 1993. Kinetics of alcoholic fermentation under anisothermal enological conditions. i. influence of temperature evolution on the instantaneous rate of fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* 44(2); 127-133.
- Soleas, G. J. Diamondis, E.P. Goldberg, D.M. 1997. Wine as a biological fluid: history, production and role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 11; 287-313.
- Torija, M. J. Beltran, G. Novo. Poblet, M. Guillamón, J. M. Mas, A. Rozès, N. 2003a. Effect of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. *Int. J. of Food Microbiology*. 85;127-136.
- Torija, M.J. Rozès, N. Poblet, M. Guillamón, J. M. Mas, A. 2003b. Effect of fermentation temperature on the strain population of *S. cerevisiae*. *Int. J. of Food Microbiology*. 80; 47-53.
- University of Queensland, Web sitesi. http://www.uq.edu.au/nanowar/d/images_1.html, Erişim tarihi: 10.08.2005
- University of California Davis, Viticulture and Enology, Web sitesi. <http://www.wineserver.ucdavis.edu/WineGrape/Homewine/index.htm>, Erişim tarihi: 25.11.2005
- University of Hertfordshire, Web sitesi. <http://www.herts.ac.uk/natsci/env/Fungi/html/ascspec.htm>, Erişim tarihi: 12.10.2005
- Vinovation, Inc. Web sitesi. <http://www.vinovation.com/ArticleWinepH2.html>, Erişim tarihi:12.10.2005
- Yüksel, 2001. Otomatik Kontrol, Sistem Dinamiği ve Denetim Sistemleri, U.Ü. Mühendislik Mimarlık fakültesi, Makine Müh. Bölümü, Bursa; 206-210, Türkiye.

Ek 1. Amasya Elması ve İznik Üzümü ile Yapılan Şarap Çalışması

Çizelge Ek 1.1. Elma şarabı için alınan ölçümler

TARİH	ZAMAN	SICAKLIK,°C (termometre)	SICAKLIK,°C (pH ölçer)	YOĞUNLUK,g/L	VİSKOZİTE,kg/m.sn	pH	ABSORBANS	GLİKOZ DERİŞİMİ, deg-arg	
30.11.2004	19:00	17.2	14.3	1053.9	24787.73/10 ⁴	4.18	0.73	0.86	
01.12.2004	09:45	20.9	19.7			4.047			
01.12.2004	13:20	19.4							
01.12.2004	17:00	20.9	21.9			4			
02.12.2004	10:15		20.6			4			
02.12.2004	13:00	20.9	20.9			3.99			
03.12.2004	10:30	20.4	20.4			3.979			kontaminasyon
03.12.2004	17:37	20.8	22			3.973			
04.12.2004	18:00	23.1	20.9			4.467			köpürme başladı(CO ₂ çıkışı)
05.12.2004	15:00	22.3	20.8			4.414			
06.12.2004	08:45	20.8	20.6			4.328			
07.12.2004	09:30	21.9	21.8			4.096			
07.12.2004	17:00	21.4	22.8			4.035			
08.12.2004	11:30	21.3							
08.12.2004	18:15	22.5	23.5			4.092			
09.12.2004	12:00	23.2	21.4			3.947			
09.12.2004	17:00	21.9	22.3			3.908			
10.12.2004	13:30	21.5	22.3			3.838			
10.12.2004	18:30	22.3	23.2			3.8			
13.12.2004	11:15	22.3	20.3	989.43	16289.9/10 ⁴	3.768		0.69	köpürme bitti

Ek 1.1. Elma şarabı için deney başlangıcı ve sonunda yapılan hesaplamalar

a) Elma suyu için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=26.3476\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1053.904\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{kg/m.sn} \times \frac{1053904\text{g/L} \times 24\text{sn}}{1000\text{g/L} \times 10\text{sn}} = 24,787 \times 10^{-4} \text{kg/m.sn}$$

Burada ; μ_k : üzüm suyu ve ya şarap viskozitesi
 ρ_k : üzüm suyu ve ya şarap yoğunluğu
 t_k : üzüm suyu ve ya şarap için zaman

μ_{ds} : distile su viskozitesi (20°C' de)
 ρ_{ds} : distile suyun yoğunluğu
 t_{ds} : distile su için zaman

b) Elma şarabı için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=10\text{ml}$$

$$m=9.8943\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 989.431\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{kg/m.sn} \times \frac{989,431\text{g/L} \times 16,8\text{sn}}{1000\text{g/L} \times 10\text{sn}} = 16,28 \times 10^{-4} \text{kg/m.sn}$$

Çizelge Ek 1.2. İznik Üzümü Şarap Ölçümü (1 nolu deney)

TARİH	ZAMAN	PH	SICAKLIK (°C)	AĞIRLIK (g)	YOĞUNLUK (g/L)	ViSKOZİTE (kg/m.sn)	ABS.	GLK.
22.12.04	13:30	3.678	19.6	2444	1076	31634.4/10 ⁴	0.646	0,32deg-arg
23.12.04	08:40	3.536	23.3	2410				
23.12.04	13:00	3.410	28.7	2395				
24.12.04	9:45	3.342	26.4	2360				
24.12.04	13:00	3.310	27.7	2356				
24.12.04	17:00	3.313	27.6	2352				
25.12.04	14:00	3.328	25.3	2334				
27.12.04	12:15	3.281	23	2308				
28.12.04	12:30	3.227	23	2308	991.92	17497.468/10 ⁴	0.524	0.24deg-arg

Ek 1.2. İznik üzümü kullanılarak yapılan şarapta hesaplamalar (1 nolu deney)

a)Üzüm suyu için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=26.9033\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1076\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\rho_{ds} t_k} = \frac{\rho_k t_k}{\rho_{ds} t_k} \Rightarrow$$
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{kg / m.sn} \times \frac{1076 \text{ g / L} \times 15 \text{ sn}}{1000 \text{ g / L} \times 5 \text{ sn}} = 31,63 \times 10^{-4}$$

b)Üzüm şarabı için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$m=24.798\text{g}$$

$$V=25\text{ml}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 991.92\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k t_k}{\rho_{ds} t_k} \Rightarrow$$
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg/m.sn} \times \frac{991,92 \text{ g/L} \times 18 \text{ sn}}{1000 \text{ g/L} \times 10 \text{ sn}} = 17,49 \times 10^{-4} \text{ kg.m/sn}$$

Çizelge Ek 1.3. İznik Üzümü Şarap Ölçümü (2 nolu deney)

TARİH	ZAMAN	PH	SICAKLIK (°C)	AĞIRLIK (g)	YOĞUNLUK (g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	ABS.	GLİKOZ (deg-arg)
06.01.2005	15:00	3.739	19.2	2390	1076	31634.4/10 ⁴	0.646	0.32
07.01.2005	14:30	3.387	25.1	2388				
08.01.2005	15:00	3.350	21.4	2347				
10.01.2005	15:00	3.322	21.8	2332				
11.01.2005	15:30	3.309	22.2	?2336				
12.01.2005	15:00	3.300	22.2	2313				
13.01.2005	14:00	3.300	22.1	2304				
14.01.2005	15:30	3.300	23.7	2301				
15.01.2005	15:00	3.327	20.9	2301	989.14	17497.29/10 ⁴	0.490	

Ek 1.3. İznik üzümü kullanılarak yapılan şarapta hesaplamalar (2 nolu deney)

a) Yoğunluk Hesabı:

$$m=24,7285 \text{ g}$$

$$V=25 \text{ ml}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow$$

$$\rho = 989.14 \text{ g/L}$$

b) Viskozite Hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k t_k}{\rho_{ds} t_k} \Rightarrow$$
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg/m.sn} \times \frac{989,14 \text{ g/L} \times 18 \text{ sn}}{1000 \text{ g/L} \times 10 \text{ sn}} = 17,49 \times 10^{-4} \text{ kg.m/sn}$$

Ek 2. Beyaz Elma Şarabı İle Yapılan Optimizasyon Deneyi

Çizelge Ek 2.1. Elma Şarabı-1 ($T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=4$, $\text{SO}_2:50\text{mg/L}$)

TARİH	ZAMAN (st)	pH	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK (g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	ABSORBANS	GLİKOZ (g/L)
03.03.05	17:00	4	1473	1056.824	$25.6/10^4$	24.16	18
04.03.05	13:00	3.5					
04.03.05	17:00	3.4	1464				
04.03.05	20:00	3.4	1464				
05.03.05	13:00	3.4	1458				
05.03.05	17:30	3.5	1455				
06.03.05	17:00	3.5	1450				
07.03.05	10:50	3.5	1450				
07.03.05	12:00	3.4	1449				
07.03.05	15:00	3.4	1443				
07.03.05	17:00	3.4	1441				
08.03.05	09:00	3.4	1438				
08.03.05	12:00	3.4	1432				
08.03.05	17:00	3.4	1428				
09.03.05	9:00	3.4	1428				
09.03.05	13:00	3.4	1426				
09.03.05	17:00	3.4	1423				
10.03.05	9:15	3.4	1421				
10.03.05	13:00	3.4	1421				
10.03.05	17:00	3.4	1420				
11.03.05	11:30	3.4	1419				
11.03.05	13:00	3.4	1419				
11.03.05	17:00	3.4	1418				
12.03.05	17:30	3.4	1416				
14.03.05	9:00	3.4	1414				
14.03.05	17:00	3.4	1414	997.804	$13.689/10^4$	11.44	6.6

Çizelge Ek 2.2. Elma Şarabı-2 (T=25 °C, pH=3, SO₂:50mg/L)

TARİH	ZAMAN (st)	pH	AĞIRLIK (g)	YOĞUNLUK (g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	ABSORBANS	GLİKOZ (g/L)
03.03.05	17:00	3	1520	1056.824	25.6/10 ⁴	24.16	18
04.03.05	13:00	2.8					
04.03.05	17:00	2.7	1514				
04.03.05	20:00	2.8	1514				
05.03.05	13:00	2.8	1503				
05.03.05	17:30	2.8	1500				
06.03.05	17:00	2.8	1488				
07.03.05	10:50	2.8	1482				
07.03.05	12:00	2.8	1482				
07.03.05	15:00	2.8	1480				
07.03.05	17:00	2.8	1479				
08.03.05	09:56	2.8	1475				
08.03.05	12:00	2.8	1473				
08.03.05	17:00	2.8	1470				
09.03.05	9:00	2.8	1467				
09.03.05	13:00	2.8	1463				
09.03.05	17:00	2.8	1463				
10.03.05	9:15	2.8	1463				
10.03.05	13:00	2.8	1461				
10.03.05	17:00	2.8	1458				
11.03.05	11:30	2.8	1458				
11.03.05	13:00	2.9	1456				
11.03.05	17:00	2.9	1456				
12.03.05	17:30	2.8	1455				
14.03.05	9:00	2.8	1452				
14.03.05	17:00	2.8	1452	1001.116	13.74/10 ⁴	12.2	7.7

Çizelge Ek 2.3. Elma Şarabı-3 (T=25 °C, pH=4, SO₂:150mg/L)

TARİH	ZAMAN (st)	pH	AĞIRLIK (g)	YOĞUNLUK (g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	ABSORBANS	GLİKOZ (g/L)
03.03.05	17:00	4	1542	1056.824	25.6/10 ⁴	24.16	18
04.03.05	13:00	3.7					
04.03.05	17:00	3.7	1533				
04.03.05	20:00	3.7	1533				
05.03.05	13:00	3.7	1532				
05.03.05	17:30	3.7	1529				
06.03.05	17:00	3.7	1522				
07.03.05	10:50	3.7	1517				
07.03.05	12:00	3.7	1516				
07.03.05	15:00	3.7	1514				
07.03.05	17:00	3.7	1514				
08.03.05	09:56	3.7	1510				
08.03.05	12:00	3.7	1507				
08.03.05	17:00	3.7	1503				
09.03.05	9:00	3.7	1501				
09.03.05	13:00	3.7	1500				
09.03.05	17:00	3.7	1497				
10.03.05	9:15	3.7	1493				
10.03.05	13:00	3.6	1493				
10.03.05	17:00	3.6	1493				
11.03.05	11:30	3.6	1490				
11.03.05	13:00	3.6	1488				
11.03.05	17:00	3.6	1485				
12.03.05	17.30	3.6	1483				
14.03.05	9:00	3.6	1478				
14.03.05	17:00	3.6	1478	995.464	13.66/10 ⁴	11.76	6.8

Çizelge Ek 2.4. Elma Şarabı-4 (T=25 °C, pH=3, SO₂:150mg/L)

TARİH	ZAMAN (st)	pH	AĞIRLIK (g)	YOĞUNLUK (g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	ABSORBANS	GLİKOZ (g/L)
03.03.05	17:00	3	1536	1056.824	25.6/10 ⁴	24.16	18
04.03.05	13:00	2.7					
04.03.05	17:00	2.7	1532				
04.03.05	20:00	2.8	1530				
05.03.05	13:00	2.8	1524				
05.03.05	17:30	2.7	1523				
06.03.05	17:00	2.8	1514				
07.03.05	10:50	2.8	1514				
07.03.05	12:00	2.8	1514				
07.03.05	15:00	2.8	1509				
07.03.05	17:00	2.8	1506				
08.03.05	09:56	2.8	1500				
08.03.05	12:00	2.8	1500				
08.03.05	17:00	2.8	1500				
09.03.05	9:00	2.8	1494				
09.03.05	13:00	2.8	1494				
09.03.05	17:00	2.8	1493				
10.03.05	9:15	2.8	1492				
10.03.05	13:00	2.8	1489				
10.03.05	17:00	2.8	1489				
11.03.05	11:30	2.8	1486				
11.03.05	13:00	2.9	1484				
11.03.05	17:00	2.9	1481				
12.03.05	17:30	2.9	1481				
14.03.05	9:00	2.9	1475				
14.03.05	17:00	2.9	1475	1002.56	13.75/10 ⁴	12.88	8.2

Çizelge Ek 2.5. Elma Şarabı-5 (T=18 °C, pH=4, SO₂:50mg/L)

TARİH	ZAMAN (st)	pH	AĞIRLIK (g)	YOĞUNLUK (g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	ABSORBANS	GLİKOZ (g/L)
23.03.05	16:00	4	1531	1047.94	23.52/10 ⁴	18.18	18
24.03.05	10:30	4.3	1530				
24.03.05	13:00	4.3	1528				
24.03.05	16:00	4.3	1527				
24.03.05	18:00	4.3	1527				
25.03.05	10:30	4.3	1521				
25.03.05	13:00	4.3	1520				
25.03.05	16:00	4.2	1519				
25.03.05	18:00	4.2	1518				
26.03.05	13:00	4.1	1513				
26.03.05	15:00	4.1	1512				
26.03.05	16:00	4.1	1512				
27.03.05	16:00	4.1	1505				
28.03.05	9:30	4.1	1500				
28.03.05	11:00	4.1	1500				
28.03.05	14:00	4.1	1499				
28.03.05	16:00	4.1	1499				
29.03.05	09:00	4.1	1494				
29.03.05	11:00	4.1	1494				
29.03.05	13:00	4.1	1493				
29.03.05	16:00	4.1	1492				
30.03.05	10:30	4.1	1488				
30.03.05	13:00	4.1	1488				
30.03.05	16:00	4.1	1487				
30.03.05	18:00	4	1487				
31.03.05	10:30	4	1483				
31.03.05	13:00	4.1	1483				
31.03.05	16.00	4.1	1482				
01.04.05	10:00	4	1479				
01.04.05	13:00	4.1	1479				
01.04.05	16:00	4.1	1479				
02.04.05	16:00	4	1475				
02.04.05	17.30	4	1475				
03.04.05	15:00	4	1473	999.18	14.92/10 ⁴	11.34	6.8

Çizelge Ek 2.6. Elma Şarabı-6 (T=18 °C, pH=3, SO₂:50mg/L)

TARİH	ZAMAN (st)	pH	AĞIRLIK (g)	YOĞUNLUK (g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	ABSORBANS	GLİKOZ (g/L)
23.03.05	16:00	3	1540	1047.94	23.52/10 ⁴	18.18	18
24.03.05	10:00	3.3	1540				
24.03.05	13:00	3.4	1539				
24.03.05	16:00	3.2	1536				
24.03.05	18:00	3.2	1536				
25.03.05	10:30	3.3	1529				
25.03.05	13:00	3.3	1528				
25.03.05	16:00	3.3	1527				
25.03.05	18:00	3.3	1526				
26.03.05	12:30	3.3	1520				
26.03.05	15:00	3.3	1518				
26.03.05	16:00	3.3	1518				
27.03.05	16:00	3.3	1511				
28.03.05	9:30	3.3	1506				
28.03.05	11:00	3.3	1506				
28.03.05	14:00	3.3	1505				
28.03.05	16:00	3.3	1505				
29.03.05	09:00	3.3	1500				
29.03.05	11:00	3.3	1500				
29.03.05	13:00	3.3	1499				
29.03.05	16:00	3.3	1498				
30.03.05	10:30	3.3	1494				
30.03.05	13:00	3.3	1494				
30.03.05	16.00	3.3	1493				
30.03.05	18:00	3.3	1493				
31.03.05	10:30	3.3	1489				
31.03.05	13:00	3.3	1489				
31.03.05	16:00	3.3	1488				
01.04.05	10:00	3.3	1485				
01.04.05	13:00	3.3	1485				
01.04.05	16:00	3.3	1485				
02.04.05	16:00	3.3	1483				
02.04.05	17:30	3.3	1483				
03.04.05	15:00	3.3	1482	996	15.34/10 ⁴	12.12	5.8

Çizelge Ek 2.7. Elma Şarabı-7 (T=18 °C, pH=4, SO₂:150mg/L)

TARİH	ZAMAN (st)	pH	AĞIRLIK (g)	YOĞUNLUK (g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	ABSORBANS	GLİKOZ (g/L)
23.03.05	16:00	4	1515	1047	23.52/10 ⁴	18.18	18
24.03.05	10:00	4	1514				
24.03.05	13:00	3.9	1513				
24.03.05	16:00	3.9	1512				
25.03.05	10:30	3.9	1504				
25.03.05	13:00	3.9	1503				
25.03.05	16:00	3.9	1502				
25.03.05	18:00	3.9	1501				
26.03.05	12:30	3.9	1496				
26.03.05	15:00	3.8	1495				
26.03.05	16:00	3.8	1493				
27.03.05	16:00	3.6	1488				
28.03.05	09:30	3.8	1483				
28.03.05	11:00	3.8	1483				
28.03.05	14:00	3.8	1482				
28.03.05	16:00	3.7	1482				
29.03.05	09:00	3.8	1477				
29.03.05	11:00	3.8	1477				
29.03.05	13:00	3.8	1476				
29.03.05	16:00	3.7	1475				
30.03.05	10:30	3.7	1472				
30.03.05	13:00	3.7	1472				
30.03.05	16:00	3.8	1470				
30.03.05	18:00	3.8	1470				
31.03.05	10:30	3.8	1467				
31.03.05	13:00	3.8	1467				
31.03.05	16:00	3.8	1467				
01.04.05	10:00	3.7	1464				
01.04.05	13:00	3.8	1464				
01.04.05	16:00	3.7	1464				
02.04.05	16:00	3.6	1462				
02.04.05	17:30	3.7	1462				
03.04.05	15:00	3.7	1460	1000	15.13/10 ⁴	11.46	6.8

Çizelge Ek 2.8. Elma Şarabı-8 (T=18 °C, pH=3, SO₂:150mg/L)

TARİH	ZAMAN (st)	pH	AĞIRLIK (g)	YOĞUNLUK (g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	ABSORBANS	GLİKOZ (g/L)
23.03.05	16:00	3	1510	1047.94	2352/10 ⁴	18.18	18
24.03.05	10:00	3.1	1509				
24.03.05	13:00	3.1	1509				
24.03.05	16:00	3.1	1507				
24.03.05	18:00	3.1	1506				
25.03.05	10:30	3.1	1500				
25.03.05	13:00	3.1	1499				
25.03.05	16:00	3.1	1498				
25.03.05	18:00	3.1	1494				
26.03.05	12:30	3.1	1490				
26.03.05	15:00	3.1	1489				
26.03.05	16:00	3.1	1489				
27.03.05	16:00	3.1	1482				
28.03.05	09:30	3.1	1478				
28.03.05	11:00	3.1	1477				
28.03.05	14:00	3.1	1476				
28.03.05	16:00	3.1	1476				
29.03.05	09:00	3.1	1472				
29.03.05	11:00	3.1	1472				
29.03.05	13:00	3.1	1470				
29.03.05	16:00	3.1	1470				
30.03.05	10:30	3.1	1466				
30.03.05	13:00	3.1	1466				
30.03.05	16:00	3.1	1464				
30.03.05	18:00	3.1	1464				
31.03.05	10:30	3.2	1461				
31.03.05	13:00	3.1	1461				
31.03.05	16:00	3.1	1460				
01.04.05	10:00	3.1	1459				
01.04.05	13:00	3.1	1458				
01.04.05	16:00	3.2	1458				
02.04.05	16:00	3.2	1457				
02.04.05	17:30	3.2	1457				
03.04.05	15:00	3.2	1457	1003	15.88/10 ⁴	12.1	6.6

Çizelge Ek 2.9. Elma Şarabı-9 (T=21.5 °C, pH=3.5, SO₂:100mg/L orta nokta deneyi)

TARİH	ZAMAN (st)	AĞIRLIK (g)	pH	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	YOĞUNLUK (g/L)	GLİKOZ (g/L)	ABSORBANS
27.04.05	15:00	523	3.5	24.56/10 ⁻⁴	1052.382	18	21.17
28.04.05	10:00	523	3.4				
28.04.05	12:00	522	3.4				
28.04.05	15:00	522	3.4				
28.04.05	17:00	522	3.4				
29.04.05	10:00	519	3.4				
29.04.05	12:00	519	3.4				
29.04.05	15:00	519	3.4				
29.04.05	17:00	518	3.4				
30.04.05	13:00	516	3.3				
01.05.05	15:00	514	3.3				
01.05.05	17:00	514	3.3				
02.05.05	10:00	512	3.3				
02.05.05	12:00	512	3.3				
02.05.05	14:30	512	3.4				
03.05.05	11:00	510	3.4				
03.05.05	15:00	510	3.4				
04.05.05	13:00	509	3.4				
04.05.05	15:30	509	3.4				
05.05.05	11:00	508	3.4				
05.05.05	13:00	508	3.4				
05.05.05	15:00	508	3.4				
06.05.05	11:00	508	3.4				
06.05.05	15:30	508	3.4				
07.05.05	15:00	508	3.4				
08.05.05	14:30	507	3.4	13.75/10 ⁻⁴	985.2	7.6	13.74

Cizelge Ek 2.10.Elma Şarabı-10 (T=21.5 °C, pH=3.5, SO₂:100mg/L orta nokta deneyi)

TARİH	ZAMAN (st)	AĞIRLIK (g)	pH	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	YOĞUNLUK (g/L)	GLİKOZ (g/L)	ABSORBANS
27.04.05	15:00	498	3.5	24.56/10 ⁻⁴	1052.382	18	21.17
28.04.05	10:00	498	3.4				
28.04.05	12:00	497	3.4				
28.04.05	15:00	497	3.4				
28.04.05	17:00	497	3.4				
29.04.05	10:00	494	3.4				
29.04.05	12:00	494	3.4				
29.04.05	15:00	494	3.4				
29.04.05	17:00	493	3.4				
30.04.05	13:00	491	3.4				
01.05.05	15:00	488	3.3				
01.05.05	17:00	488	3.3				
02.05.05	10:00	487	3.3				
02.05.05	12:00	487	3.3				
02.05.05	14:30	487	3.4				
03.05.05	11:00	485	3.4				
03.05.05	15:00	485	3.4				
04.05.05	13:00	484	3.4				
04.05.05	15:30	484	3.4				
05.05.05	11:00	483	3.4				
05.05.05	13:00	483	3.4				
05.05.05	15:00	483	3.4				
06.05.05	11:00	483	3.4				
06.05.05	15:30	483	3.4				
07.05.05	15:00	483	3.4				
08.05.05	14:30	482	3.4	14.84/10 ⁻⁴	984.6	7.7	14.02

Çizelge Ek 2.11. Elma Şarabı-11 (T=21.5 °C, pH=3.5, SO₂:100mg/l orta nokta deneyi)

TARİH	ZAMAN (st)	AĞIRLIK (g)	pH	VİSKOZİTE (kg/m.sn)	YOĞUNLUK (g/L)	GLİKOZ (g/L)	ABSORBANS
27.04.05	15:00	522	3.5	24.56/10 ⁻⁴	1052.382	18	21.17
28.04.05	10:00	522	3.5				
28.04.05	12:00	522	3.5				
28.04.05	15:00	521	3.5				
28.04.05	17:00	521	3.5				
29.04.05	10:00	519	3.4				
29.04.05	12:00	519	3.4				
29.04.05	15:00	518	3.4				
29.04.05	17:00	518	3.4				
30.04.05	13:00	516	3.4				
01.05.05	15:00	514	3.4				
01.05.05	17:00	514	3.4				
02.05.05	10:00	512	3.4				
02.05.05	12:00	512	3.4				
02.05.05	14:30	512	3.4				
03.05.05	11:00	510	3.4				
03.05.05	15:00	510	3.4				
04.05.05	13:00	509	3.4				
04.05.05	15:30	509	3.4				
05.05.05	11:00	508	3.4				
05.05.05	13:00	508	3.4				
05.05.05	15:00	508	3.4				
06.05.05	11:00	508	3.4				
06.05.05	15:30	508	3.4				
07.05.05	15:00	508	3.5				
08.05.05	14:30	507	3.5	14.28/10 ⁻⁴	987.4	8	12.94

Ek 2.1. Birinci grup deneyler için hesaplamalar

Beyaz (Yeni sıkılmış) elma suyu :

Yoğunluk hesabı:

V=25ml (piknometre hacmi)

m=26.4206g (piknometreye doldurulan elma suyu ağırlığı)

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1056.824 \text{ g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg/m.sn} \times \frac{1056.824 \text{ g/L} \times 12.36 \text{ sn}}{1000 \text{ g/L} \times 5 \text{ sn}} = 25.6 \times 10^{-4} \text{ kg/m.sn}$$

Burada ; μ_k : üzüm suyu ve ya şarap viskozitesi

μ_{ds} : distile su viskozitesi (20°C'de)

ρ_k : üzüm suyu ve ya şarap yoğunluğu

$\rho_{d.s}$: distile suyun yoğunluğu

t_k : üzüm suyu ve ya şarap için zaman

t_{ds} : distile su için zaman

1 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

V=25ml

m=24.9451g

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 997.804 \text{ g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg/m.sn} \times \frac{997.804 \text{ g/L} \times 7 \text{ sn}}{1000 \text{ g/L} \times 5 \text{ sn}} = 13.689 \times 10^{-4} \text{ kg/m.sn}$$

2 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

V=25ml

m=25.0279gr

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1001.116 \text{ gr/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{1001.116 \text{ g / L} \times 7 \text{ sn}}{1000 \text{ g / L} \times 5 \text{ sn}} = 13.74 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

3 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=24.8866\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 995.464\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{995.464 \text{ g / L} \times 7 \text{ sn}}{1000 \text{ g / L} \times 5 \text{ sn}} = 13.66 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

4 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=25.064\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1002.56\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{1002.56 \text{ g / L} \times 7 \text{ sn}}{1000 \text{ g / L} \times 5 \text{ sn}} = 13.75 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

Ek 2.2. İkinci grup deneyler için hesaplamalar

Beyaz elma suyu için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=26.1985\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1047.94\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{kg / m.sn} \times \frac{1047.94 \text{g / L} \times 11.45 \text{sn}}{1000 \text{g / L} \times 5 \text{sn}} = 23.52 \times 10^{-4} \text{kg / m.sn}$$

5 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=24.9793\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 999.18\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{kg / m.sn} \times \frac{999.18 \text{g / L} \times 7.62 \text{sn}}{1000 \text{g / L} \times 5 \text{sn}} = 14.92 \times 10^{-4} \text{kg / m.sn}$$

6 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=24.90\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 996\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{996 \text{ g / L} \times 7.86 \text{ sn}}{1000 \text{ g / L} \times 5 \text{ sn}} = 15.34 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

7 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25 \text{ ml}$$

$$m=25 \text{ g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1000 \text{ g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{1000 \text{ g / L} \times 7.72 \text{ sn}}{1000 \text{ g / L} \times 5 \text{ sn}} = 15.13 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

8 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25 \text{ ml}$$

$$m=25.07 \text{ g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1003 \text{ g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{1003 \text{ g / L} \times 8.08 \text{ sn}}{1000 \text{ g / L} \times 5 \text{ sn}} = 15.88 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

Ek 2.3. Merkez nokta deneyleri için yapılan hesaplamalar

9 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=24.6309\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 985.2\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{985.2\text{g/L} \times 7.12\text{sn}}{1000\text{g/L} \times 5\text{sn}} = 13.75 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

10 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=24.616\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 984.6\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{984.6\text{g/L} \times 7.69\text{sn}}{1000\text{g/L} \times 5\text{sn}} = 14.84 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

11 nolu şarap için yapılan hesaplar:

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=24.6848\text{g}$$

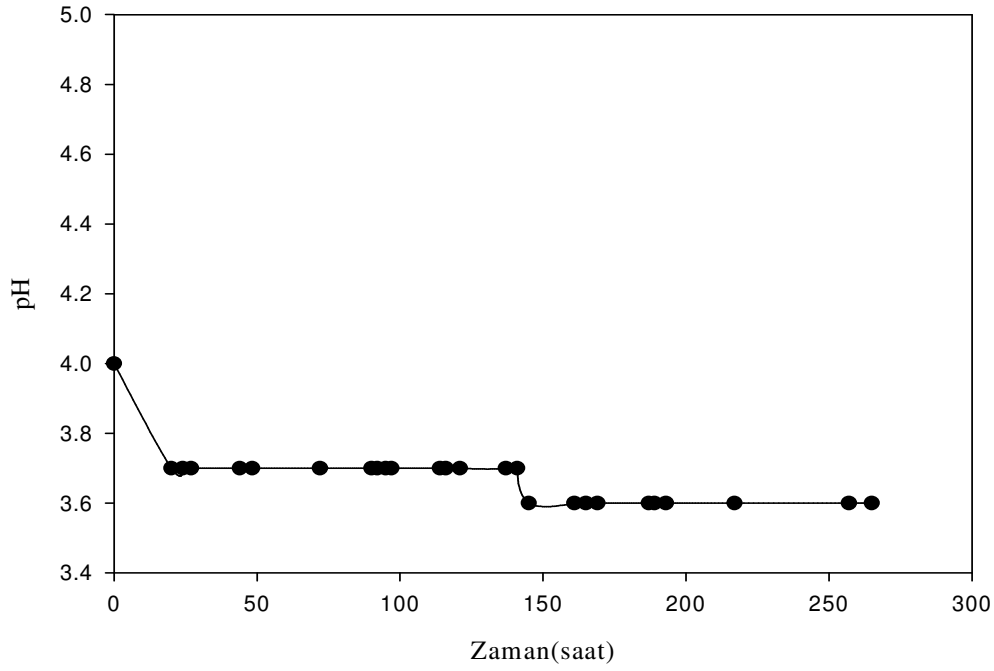
$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 987.4\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

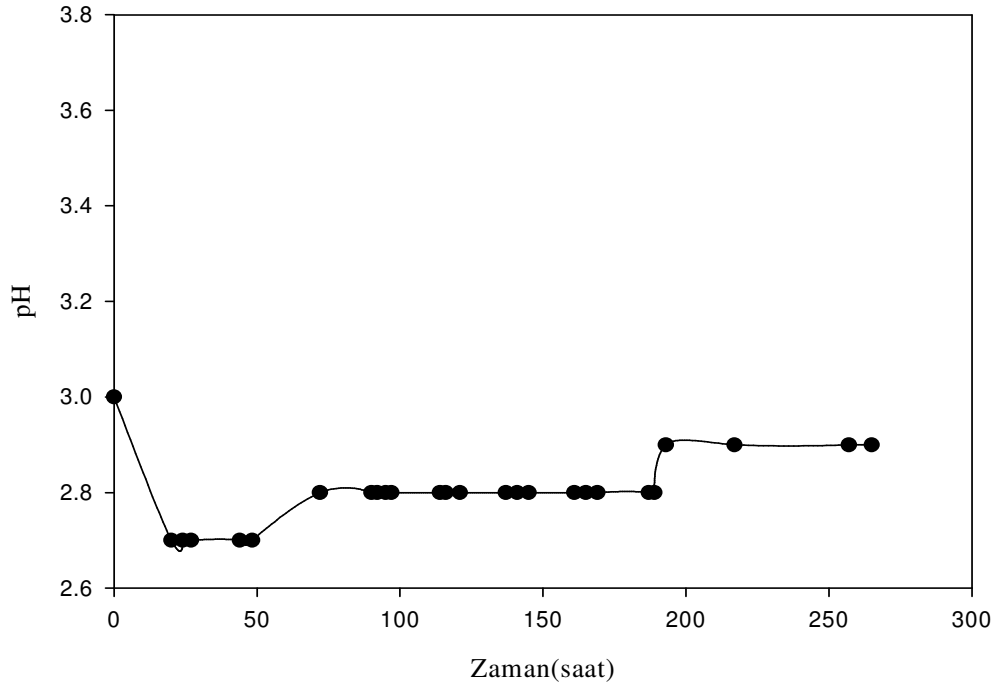
$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{987.4\text{g/L} \times 7.38\text{sn}}{1000\text{g/L} \times 5\text{sn}} = 14.28 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

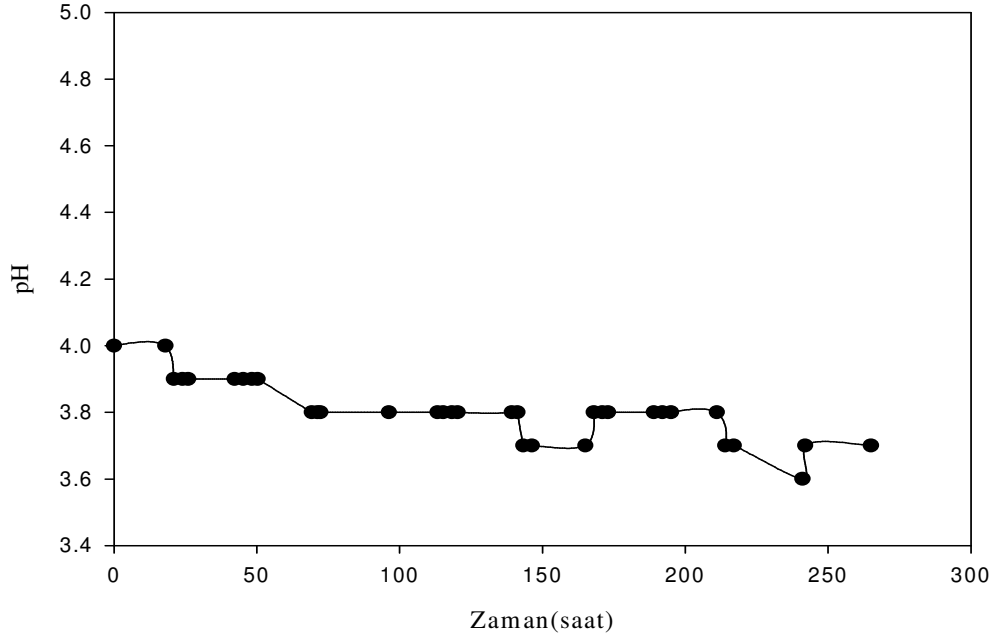
Ek 2.4. Beyaz elma şarabından elde edilen grafikler



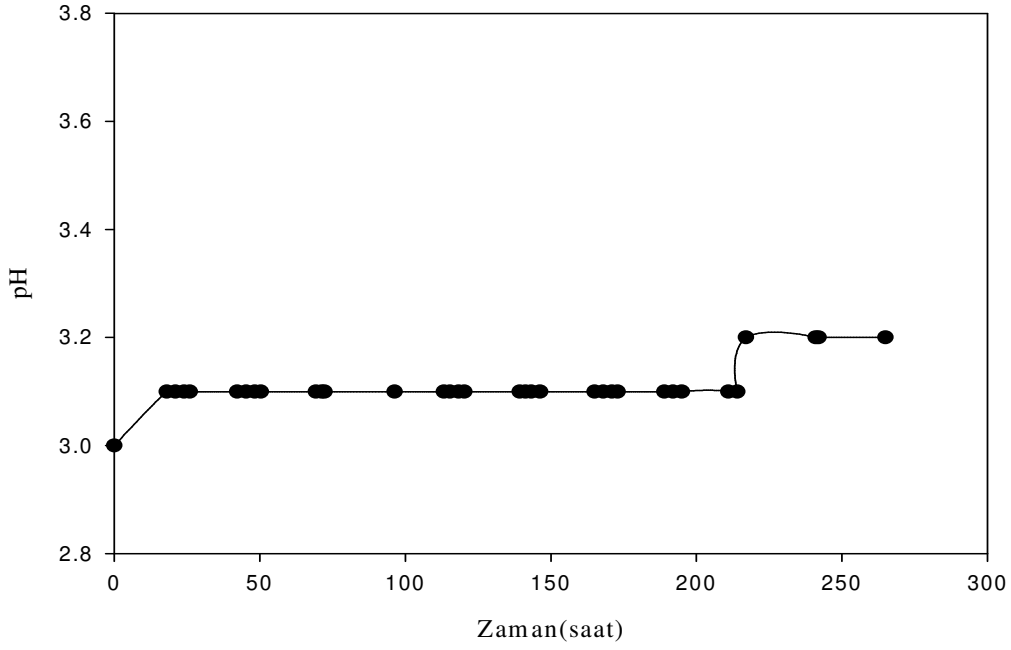
Şekil Ek 2.1.. 3 nolu deneyde pH değişimi



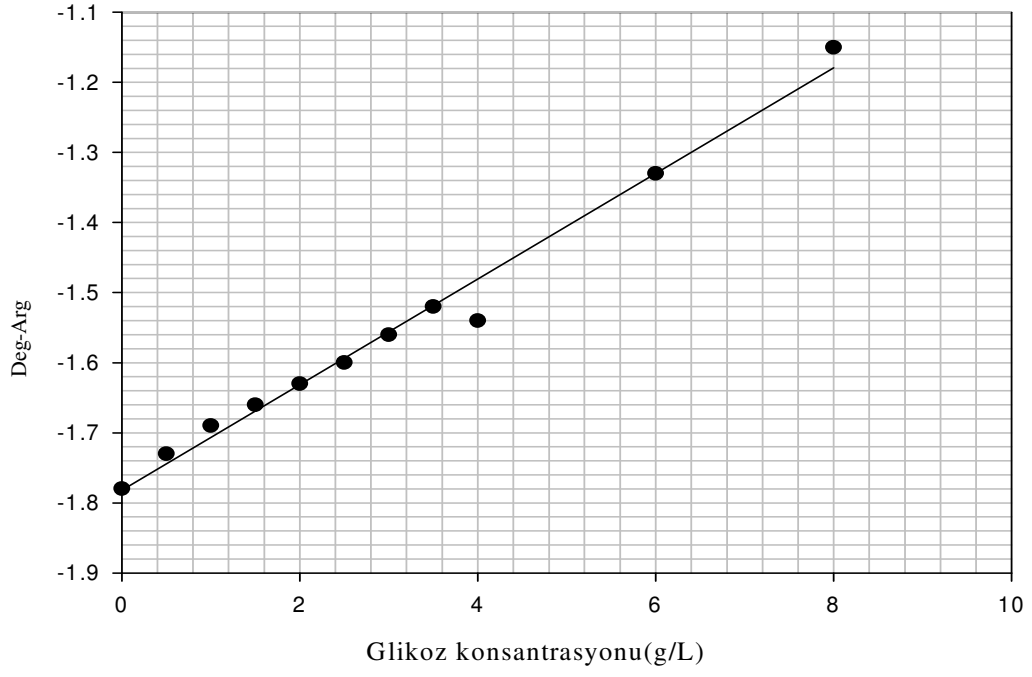
Şekil Ek 2.2 .4 nolu deneyde pH değişimi



Şekil Ek 2.3 7 nolu deneyde. pH değişimi



Şekil Ek 2.4. 8 nolu deneyde pH değişimi



Şekil Ek 2.5. Glikoz derişimi kalibrasyon grafiği

EK 3. Hasandede Üzümü ile Yapılan Optimizasyon Deneyine Ait Ölçümler

Çizelge Ek 3.1. Deney no.1. 12°C, 50ppm SO₂

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)	CANLI HÜCRE(cfu/ml)
15.09.2005	17:00	664	1078	94.10 ⁵
16.09.2005	17:00	664		
17.09.2005	16:30	664		
18.09.2005	16:15	662		
19.09.2005	17:00	660		
20.09.2005	17:00	660		
21.09.2005	17:00	658		
22.09.2005	17:30	657		
23.09.2005	17:00	655		34.10 ⁷

Çizelge Ek 3.2. Deney no.2. 18°C, 50ppm SO₂

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)	CANLI HÜCRE(cfu/ml)
15.09.2005	17:00	640	1078	94.10 ⁵
16.09.2005	17:00	640		
17.09.2005	16:30	637		
18.09.2005	16:15	635		
19.09.2005	17:00	632		
20.09.2005	17:00	630		
21.09.2005	17:00	628		
22.09.2005	17:30	626		
23.09.2005	17:00	624		280.10 ⁷

Çizelge Ek 3.3. Deney no.3. 24°C, 50ppm SO₂

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)	CANLI HÜCRE(cfu/ml)
15.09.2005	17:00	682	1078	94.10 ⁵
16.09.2005	17:00	681		
17.09.2005	16:30	676		
18.09.2005	16:15	672		
19.09.2005	17:00	667		
20.09.2005	17:00	663		
21.09.2005	17:00	659		
22.09.2005	17:30	657		
23.09.2005	17:00	651		84.10 ⁷

Çizelge Ek 3.4. Deney no.4.30°C, 50ppm SO₂

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)	CANLI HÜCRE(cfu/ml)
15.09.2005	17:00	674	1078	94.10 ⁵
16.09.2005	17:00	669		
17.09.2005	16:30	662		
18.09.2005	16:15	656		
19.09.2005	17:00	650		
20.09.2005	17:00	645		
21.09.2005	17:00	640		
22.09.2005	17:30	636		
23.09.2005	17:00	633		106.10 ⁷

Çizelge Ek 3.5. Deney no.5.18°C, 0ppm SO₂

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)	CANLI HÜCRE(cfu/ml)
15.09.2005	17:00	692	1078	94.10 ⁵
16.09.2005	17:00	692		
17.09.2005	16:30	686		
18.09.2005	16:15	681		
19.09.2005	17:00	676		
20.09.2005	17:00	672		
21.09.2005	17:00	668		
22.09.2005	17:30	664		
23.09.2005	17:00	660		100.10 ⁷

Çizelge Ek 3.6. Deney no.6.18°C, 100ppm SO₂

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)	CANLI HÜCRE(cfu/ml)
15.09.2005	17:00	709	1078	94.10 ⁵
16.09.2005	17:00	709		
17.09.2005	16:30	703		
18.09.2005	16:15	698		
19.09.2005	17:00	693		
20.09.2005	17:00	688		
21.09.2005	17:00	684		
22.09.2005	17:30	680		
23.09.2005	17:00	676		76.10 ⁷

Çizelge Ek 3.7. Deney no.7.18°C, 150ppm SO₂

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)	CANLI HÜCRE(cfu/ml)
15.09.2005	17:00	675	1078	94.10 ⁵
16.09.2005	17:00	675		
17.09.2005	16:30	668		
18.09.2005	16:15	664		
19.09.2005	17:00	660		
20.09.2005	17:00	656		
21.09.2005	17:00	652		
22.09.2005	17:30	649		
23.09.2005	17:00	645		156.10 ⁷

Çizelge Ek 3.8. Deney no.8.Oda sıcaklığı, Küürtsüz, Aşılama yok(25°C)

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)
15.09.2005	17:00	689	1078
16.09.2005	17:00	689	
17.09.2005	16:30	688	
18.09.2005	16:15	680	
19.09.2005	17:00	673	
20.09.2005	17:00	667	
21.09.2005	17:00	662	
22.09.2005	17:30	658	

Ek 4. Narince Üzümü ile Yapılan Deneylerin Ölçümleri

Çizelge Ek 4.1. Deney no.1N.18°C, 50ppm SO₂

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)
29.09.2005	15:30	700	1060	31.2/10 ⁴
30.09.2005	15:30	699		
01.10.2005	16:30	689		
02.10.2005	15:00	681		
03.10.2005	15:30	674		
04.10.2005	15:30	670		
05.10.2005	15:30	666		
06.10.2005	15:30	664		

Çizelge Ek 4.2. Deney no.2N.Oda sıcaklığı, 50ppm SO₂

TARİH	SAAT	AĞIRLIK(g)	YOĞUNLUK(g/L)	VİSKOZİTE (kg/m.sn)
29.09.2005	15:30	712	1060	31.2/10 ⁴
30.09.2005	15:30	707		
01.10.2005	16:30	692		
02.10.2005	15:00	684		
03.10.2005	15:30	678		
04.10.2005	15:30	675		
05.10.2005	15:30	673		
06.10.2005	15:30	672		

Ek 4.1. Hasandede üzümü ve Narince üzümü için yapılan hesapmalar

Hasandede Üzümü;

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=26.95\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1078\text{g/L}$$

Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn} \times \frac{1078\text{g / L} \times 47\text{sn}}{1000\text{g / L} \times 5\text{sn}} = 99,3 \times 10^{-4} \text{ kg / m.sn}$$

Narince Üzümi

Yoğunluk hesabı:

$$V=25\text{ml}$$

$$m=26.52\text{g}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow \rho = 1060\text{g/L}$$

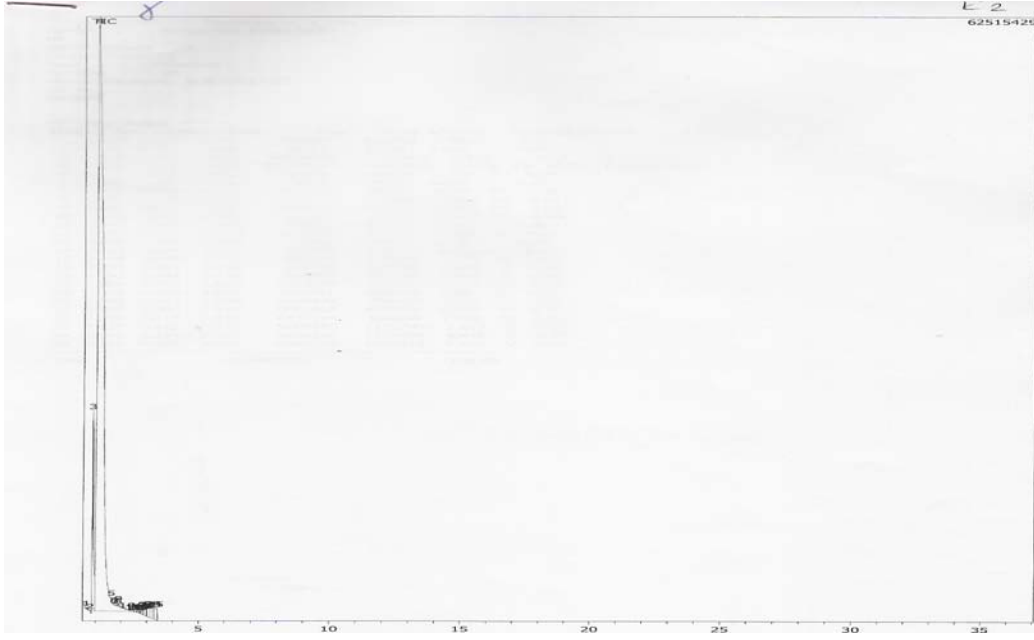
Viskozite hesabı:

$$\frac{\mu_k}{\mu_{ds}} = \frac{\rho_k \times t_k}{\rho_{ds} \times t_{ds}} \Rightarrow$$

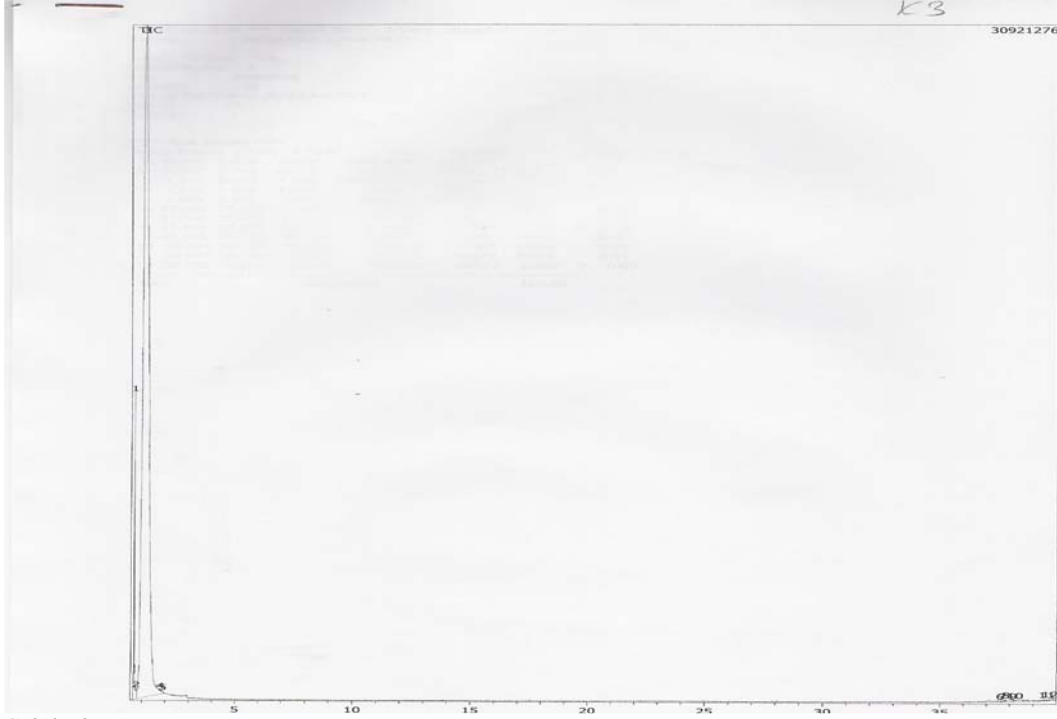
$$\mu_k = 9,8 \times 10^{-4} \text{kg / m.sn} \times \frac{1060 \text{g / L} \times 15 \text{sn}}{1000 \text{g / L} \times 5 \text{sn}} = 31,2 \times 10^{-4} \text{kg / m.sn}$$

Ek 5. GC/MS Analiz Sonuçları

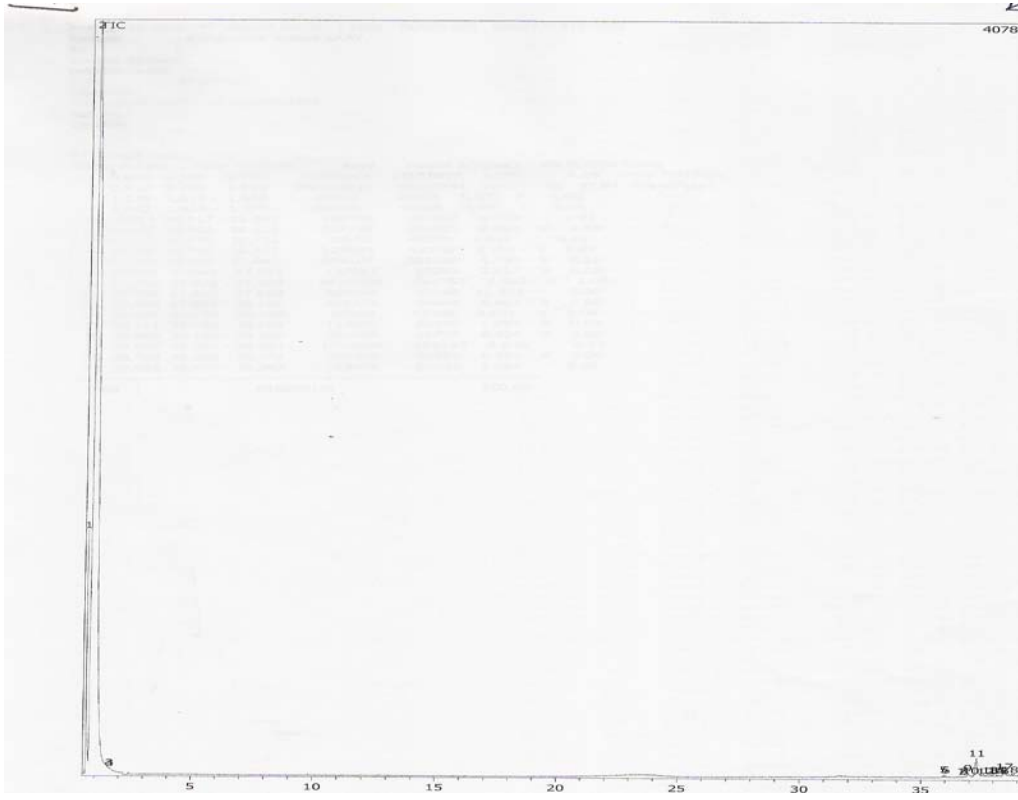
Ek 5.1. Laboratuvar ölçekli kontrol çalışmasında günlük alkol oluşumunun GC/MS ile analiz sonuçları



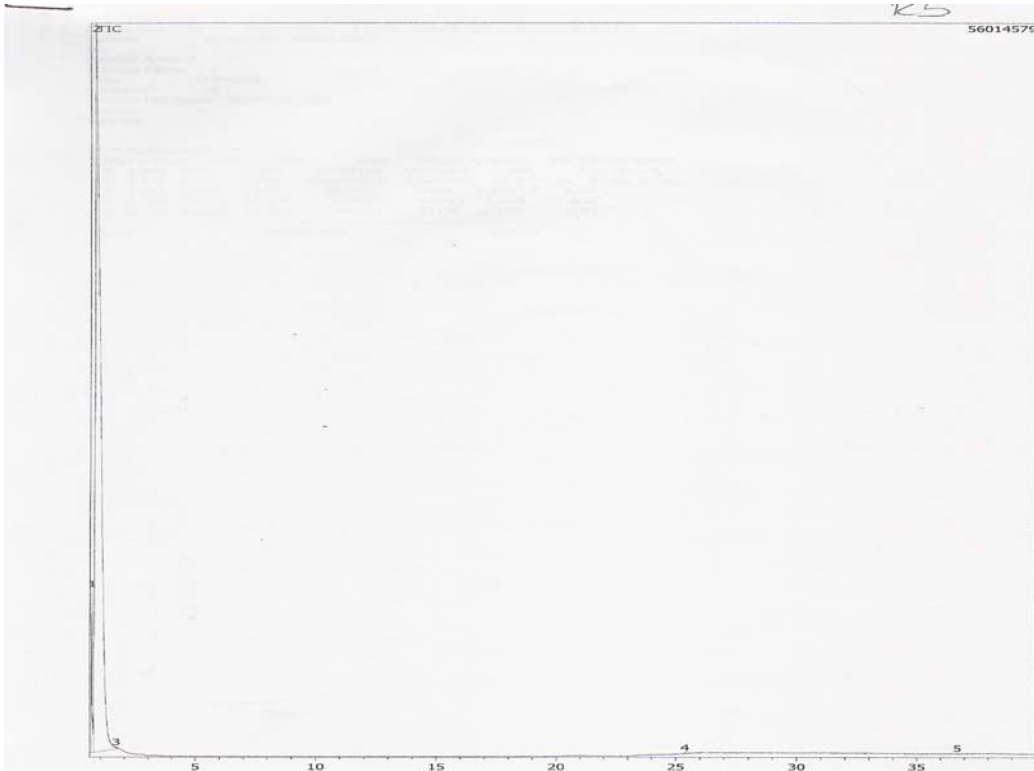
Şekil Ek 5.1. 1. gün etil alkol



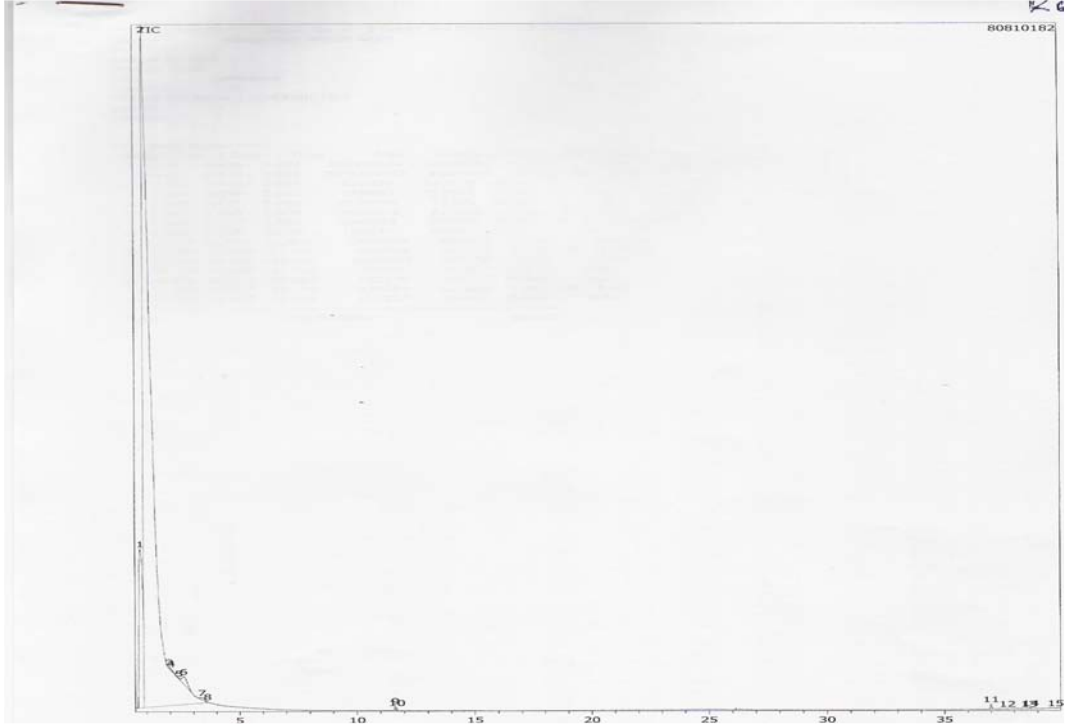
Şekil Ek 5.2. 2. gün etil alkol



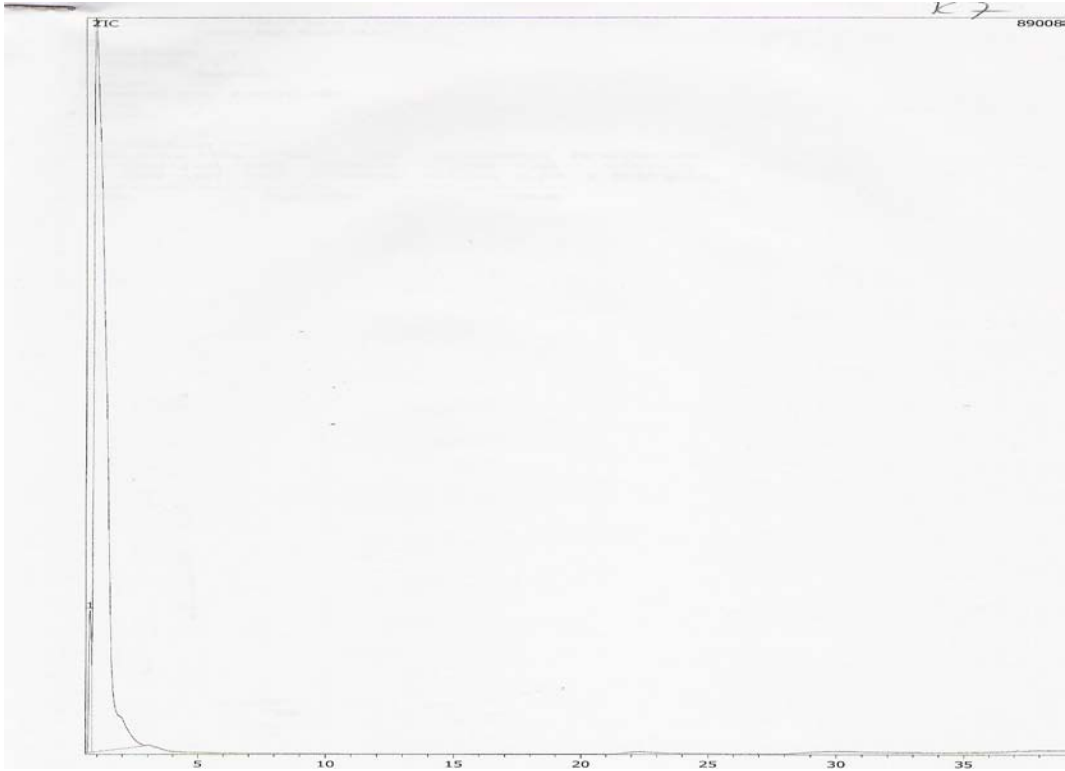
Şekil Ek 5.3. 3. gün etil alkol



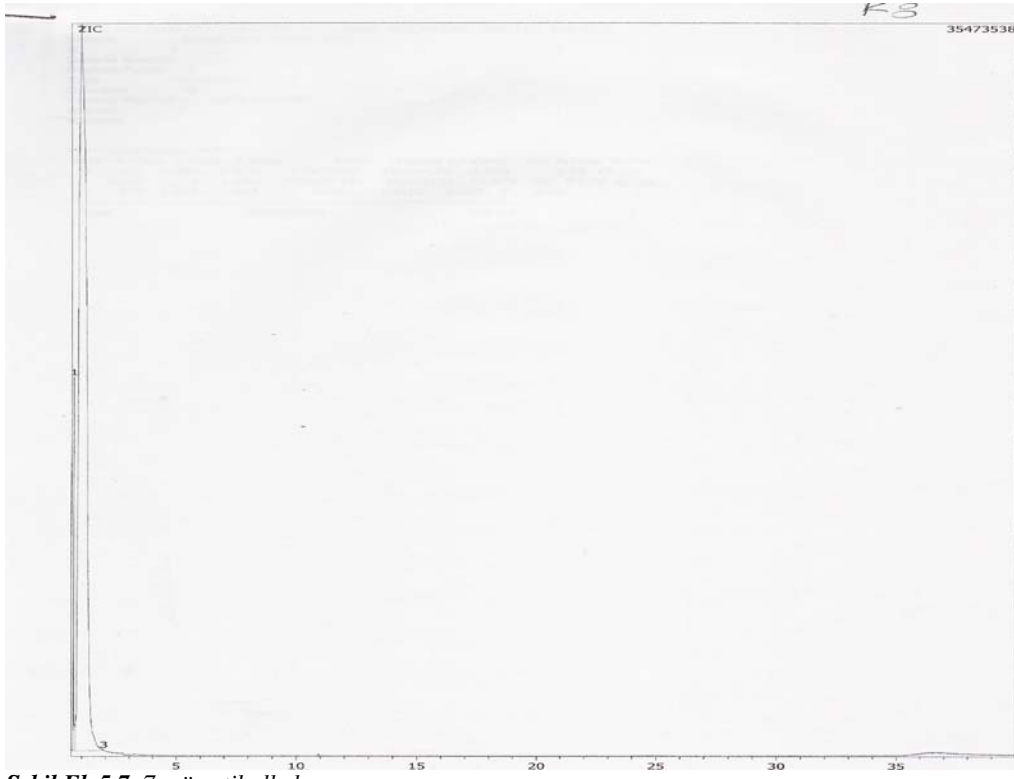
Şekil Ek 5.4. 4. gün etil alkol



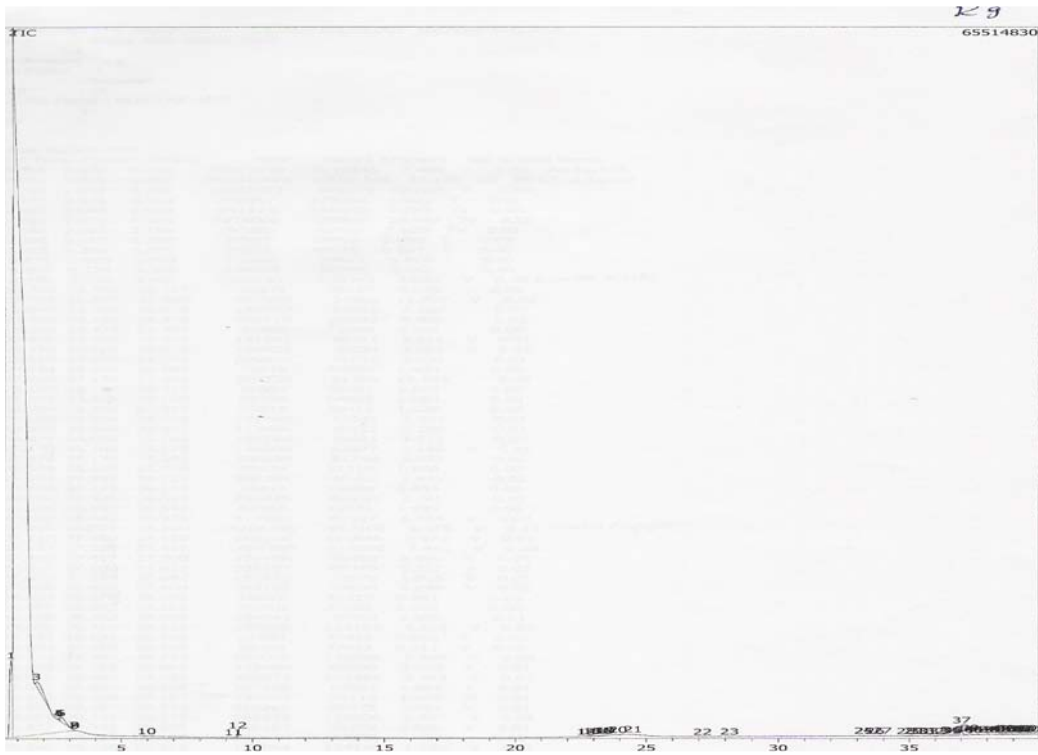
Şekil Ek 5.5. 5. gün etil alkol



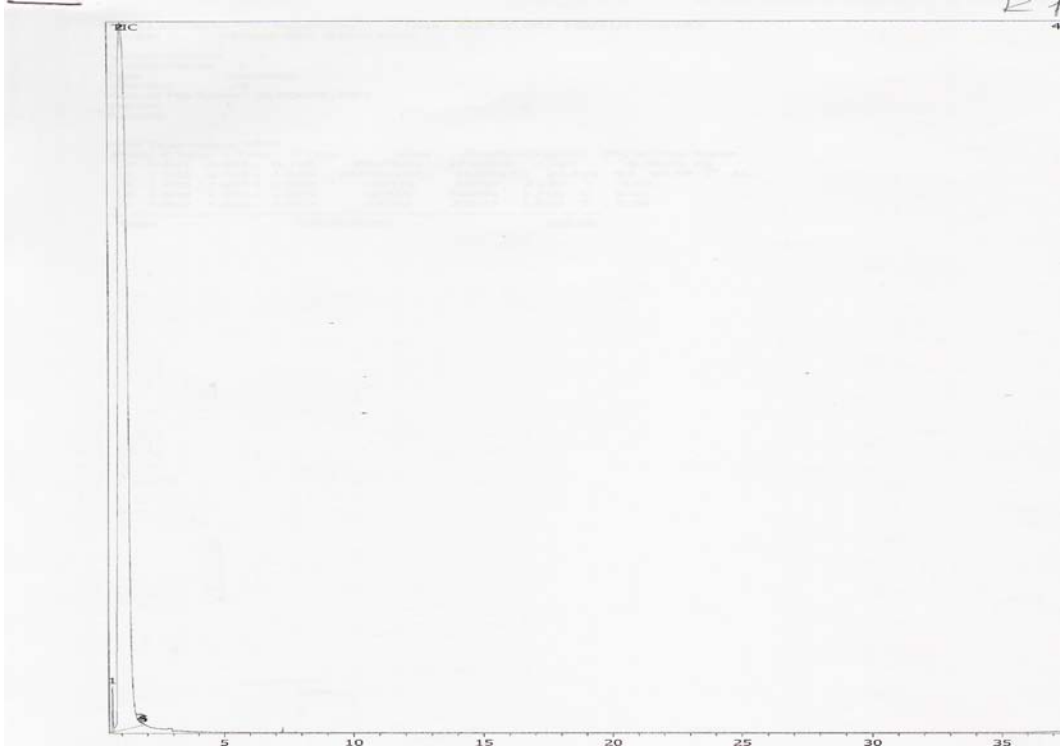
Şekil Ek 5.6. 6. gün etil alkol



Şekil Ek 5.7. 7. gün etil alkol

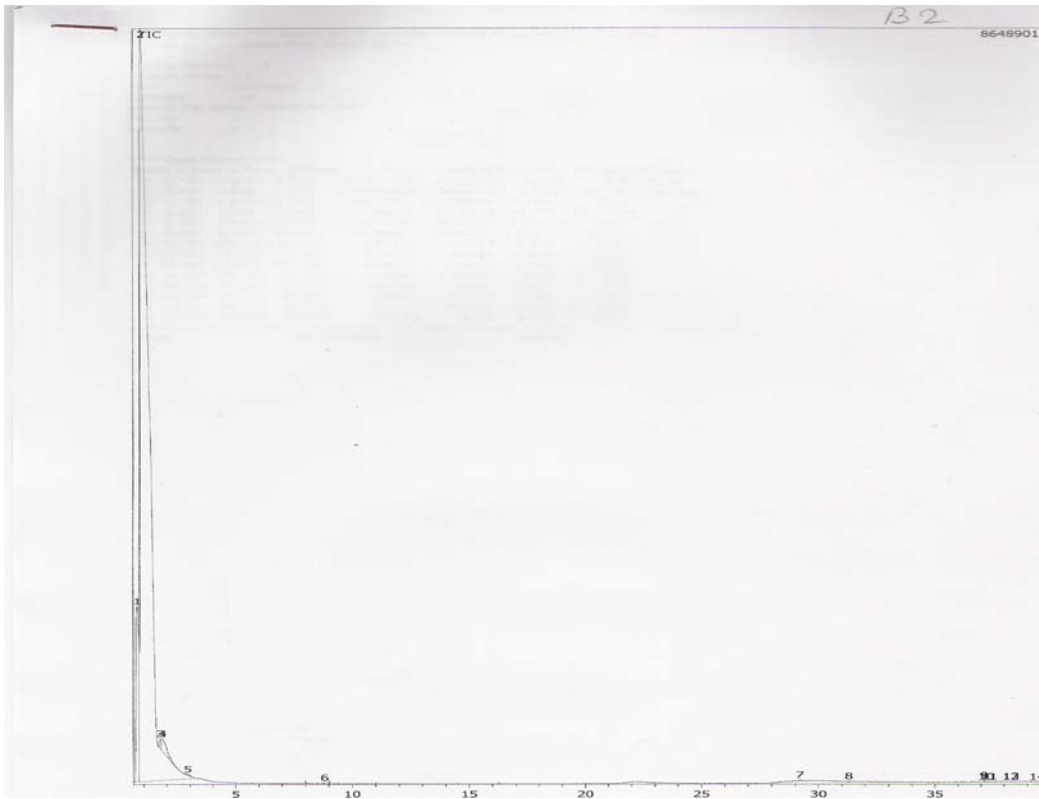


Şekil Ek 5.8. 8. gün etil alkol

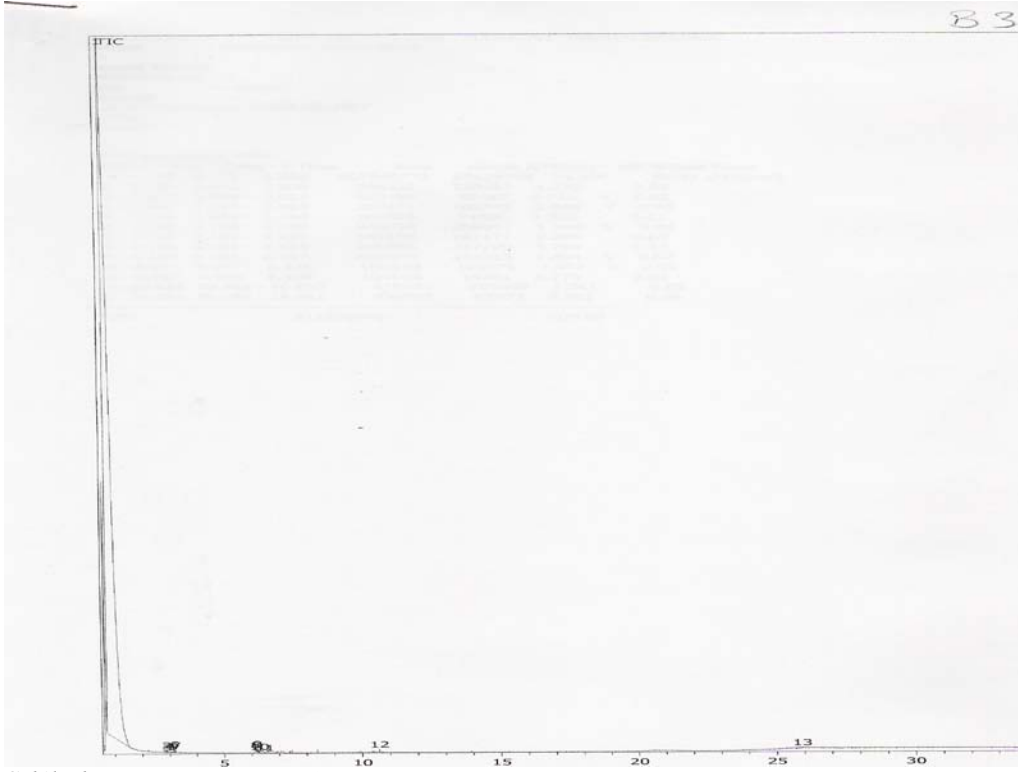


Şekil Ek 5.9. 9. gün etil alkol

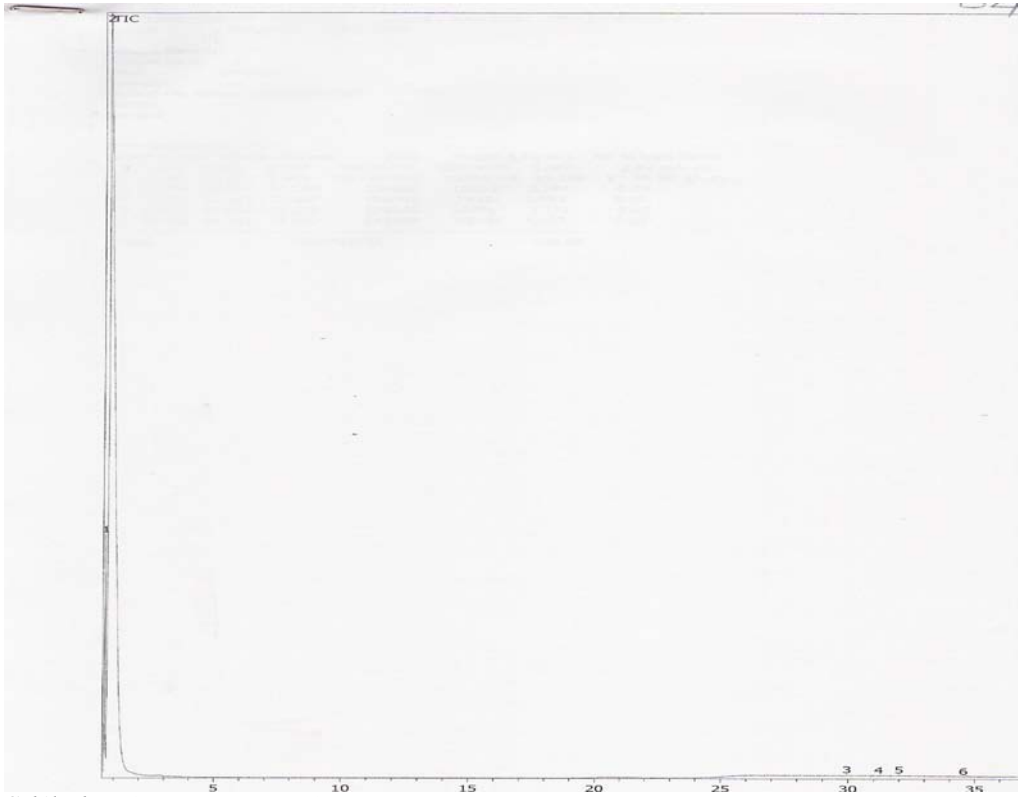
Ek 5.2. Pilot ölçekte yapılan dinamik deneyinde günlük etil alkol oluşumunun GC/MS ile analiz sonuçları



Şekil Ek 5.10. 1. gün etil alkol



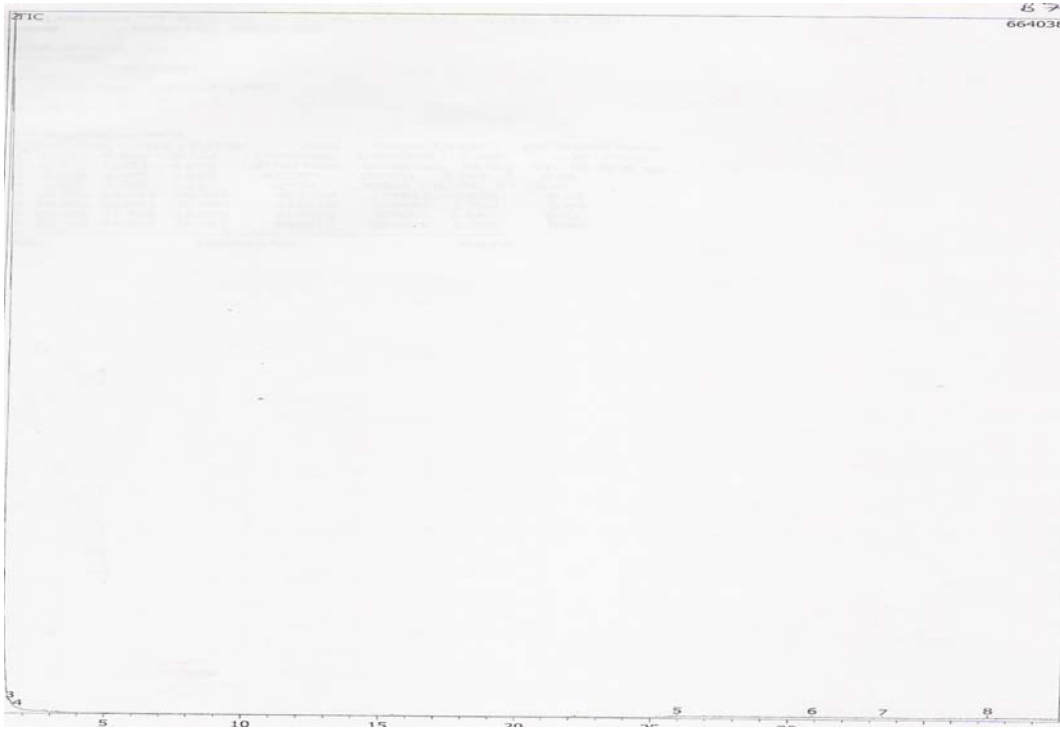
Şekil Ek 5.11. 2. gün etil alkol



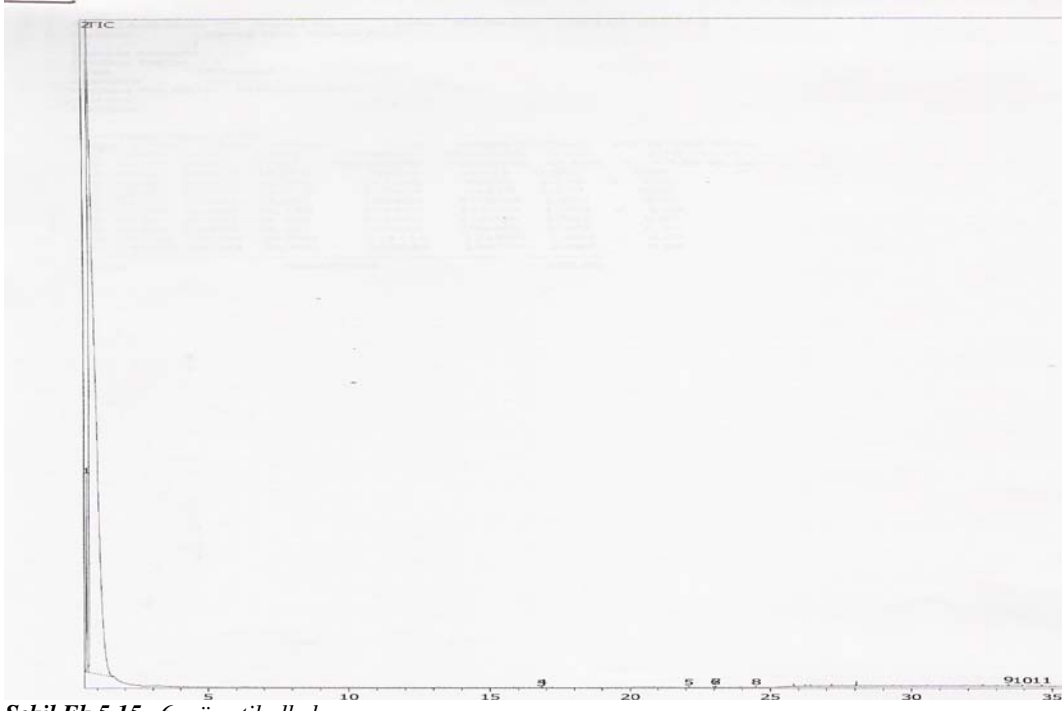
Şekil Ek 5.12. 3. gün etil alkol



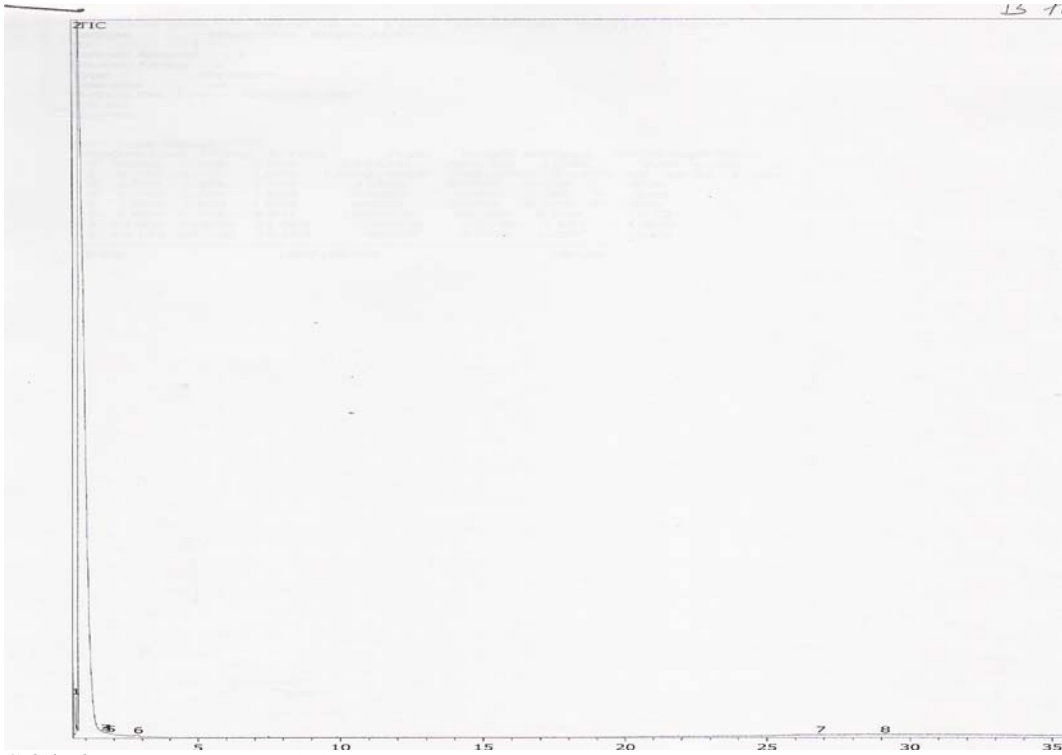
Şekil Ek 5.13. 4. gün etil alkol



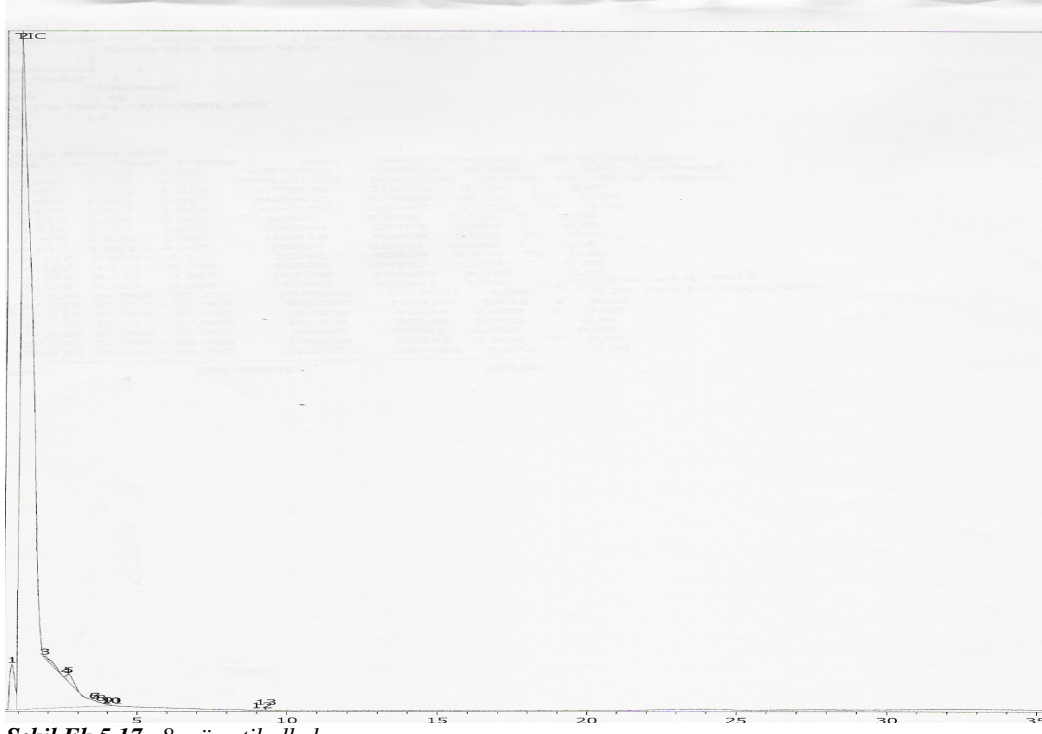
Şekil Ek 5.14. 5. gün etil alkol



Şekil Ek 5.15. 6. gün etil alkol

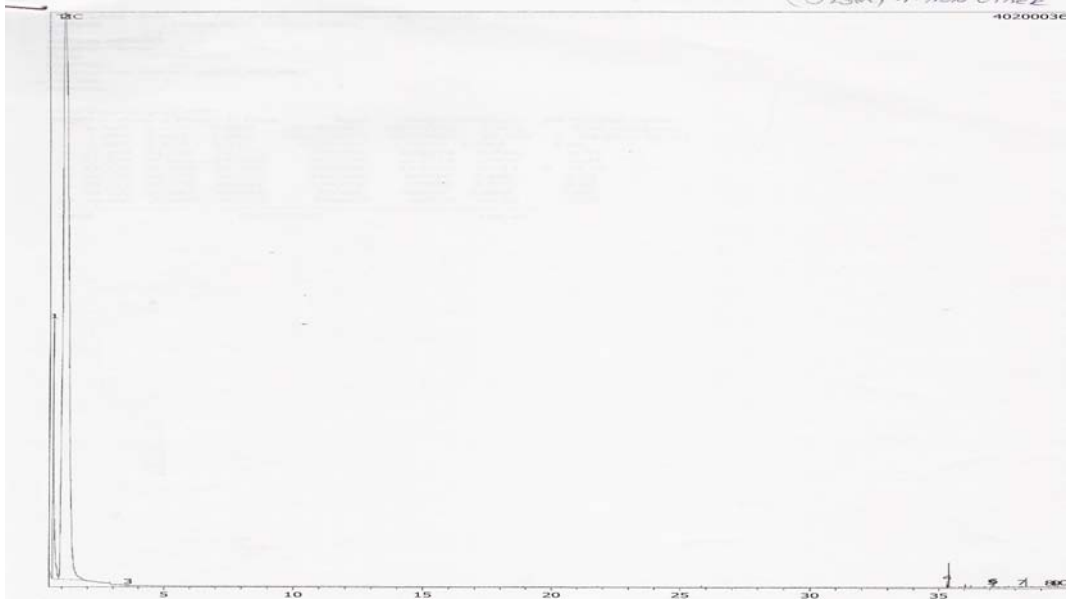


Şekil Ek 5.16. 7. gün etil alkol

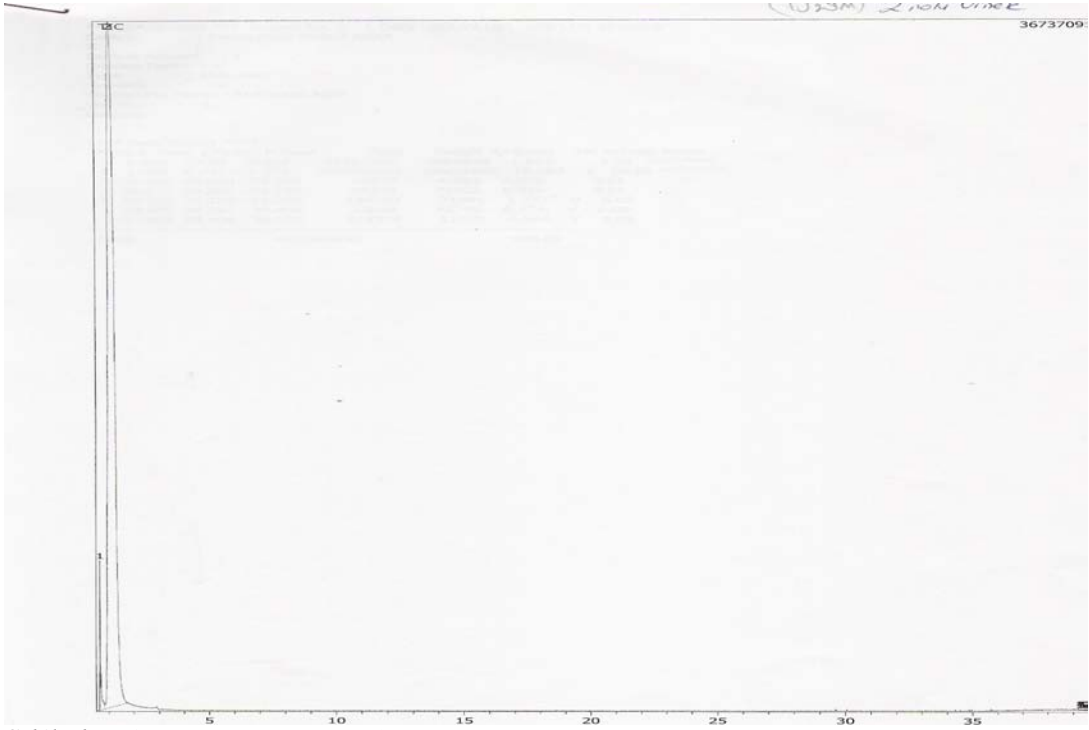


Şekil Ek 5.17. 8. gün etil alkol

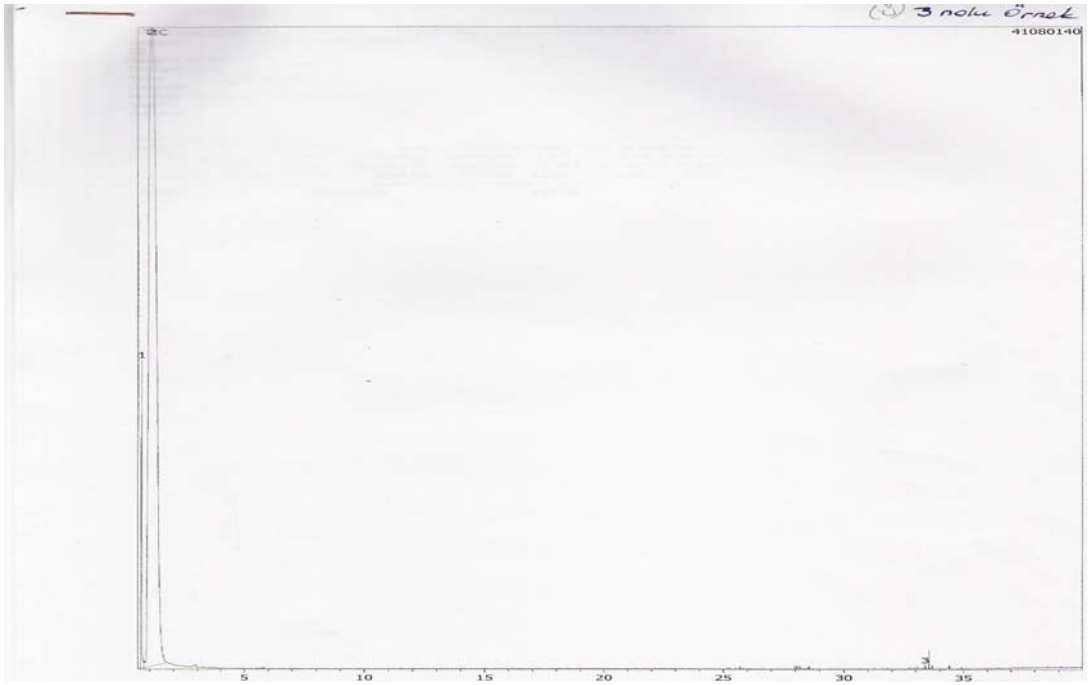
Ek 5.3. Hasandede Üzümü ile yapılan optimizasyon deneyinin GC/MS analiz sonuçları



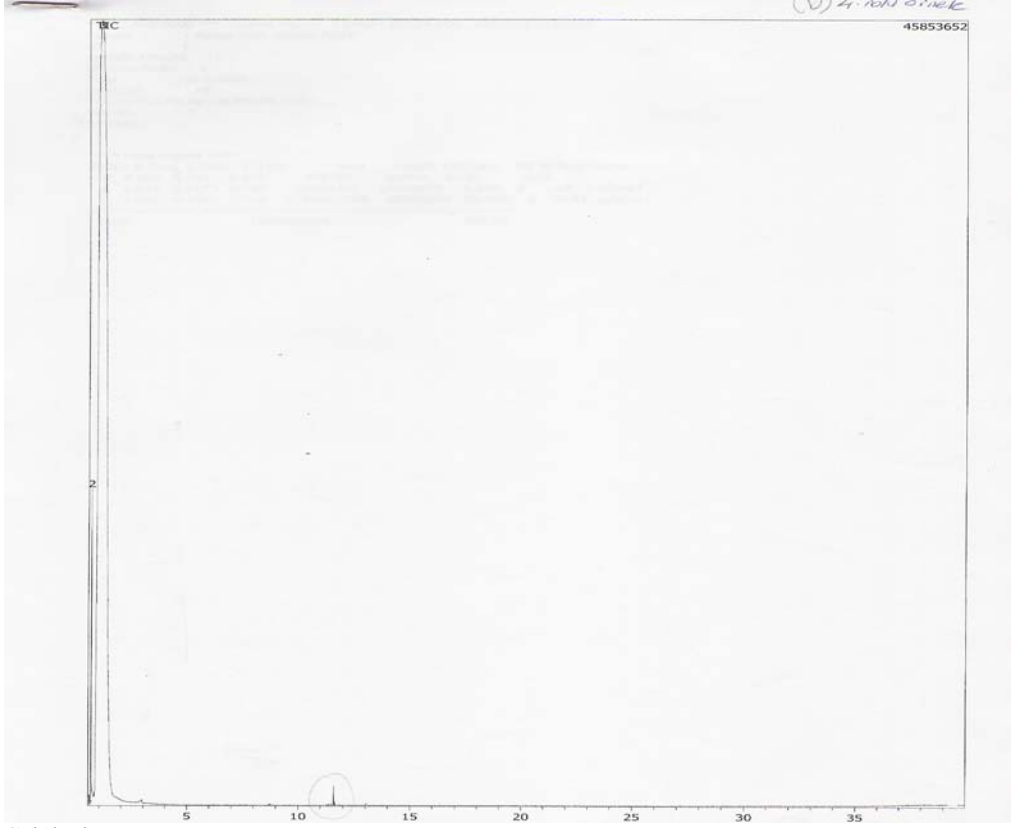
Şekil Ek 5.18. 1 nolu şarap etil alkol analizi



Şekil Ek 5.19. 2 nolu şarap etil alkol analizi



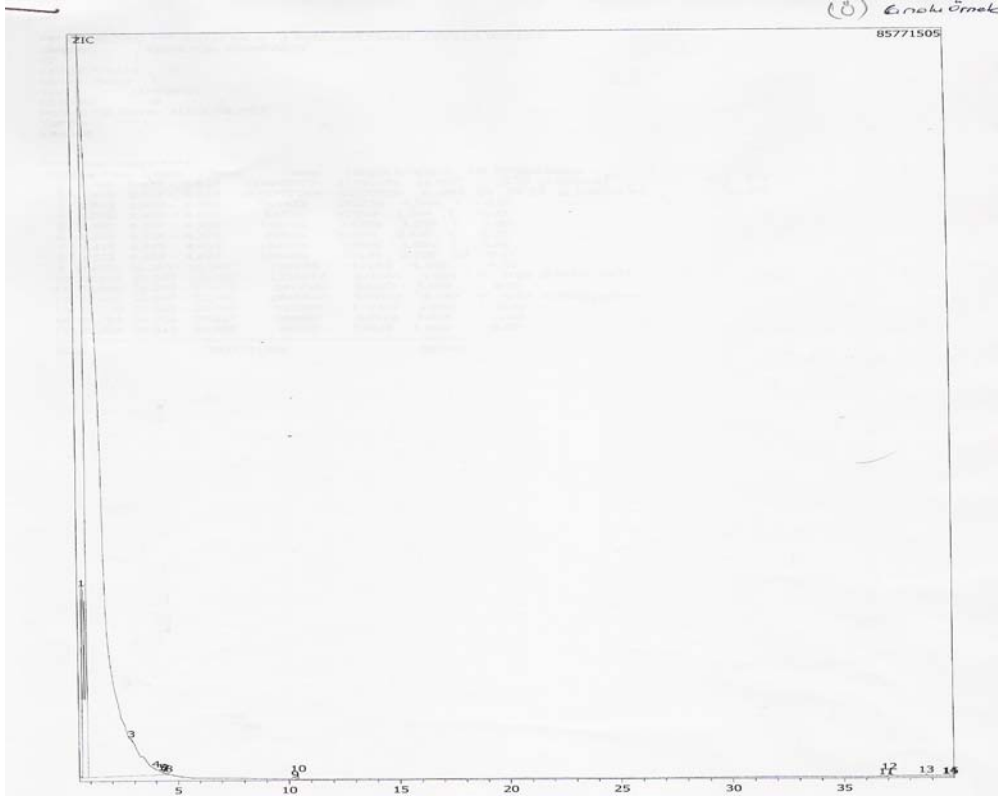
Şekil Ek 5.20. 3 nolu şarap etil alkol analizi



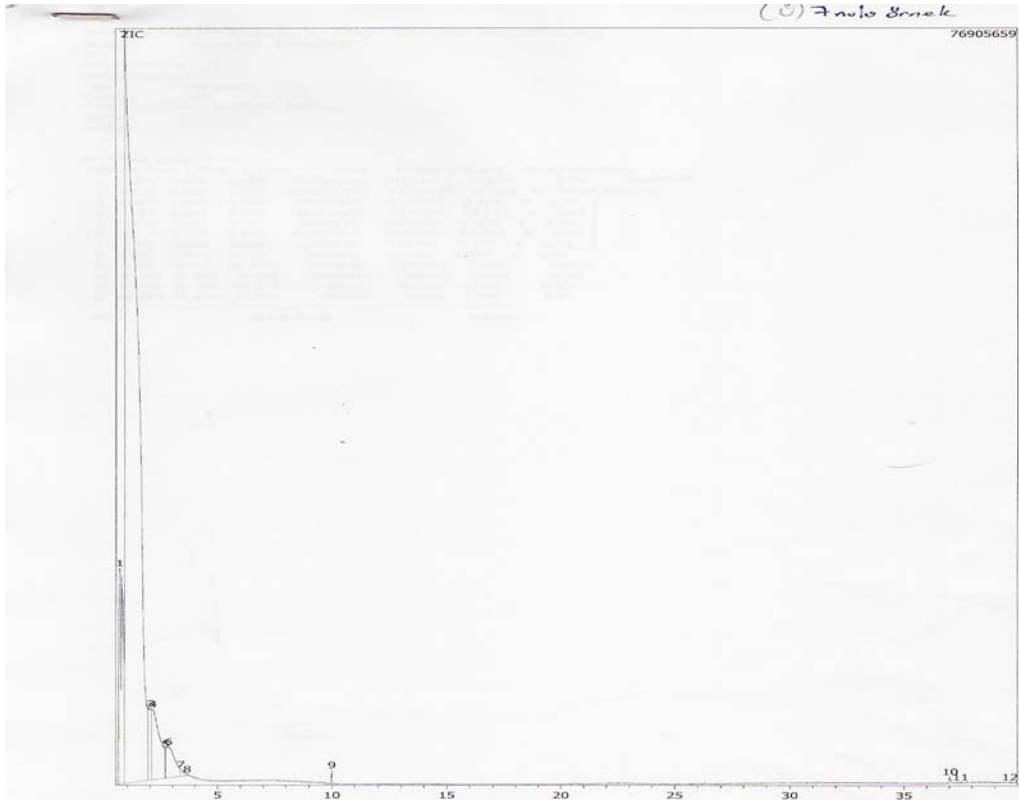
Şekil Ek 5.21. 4 nolu şarap etil alkol analizi



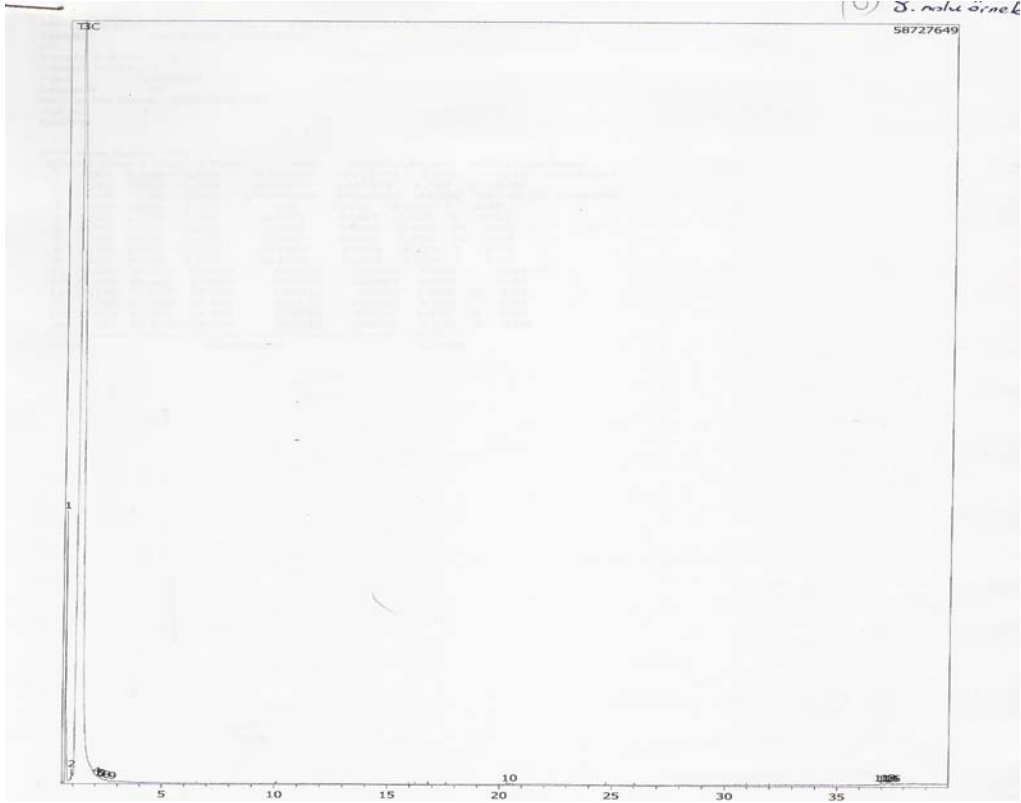
Şekil Ek 5.22. 5 nolu şarap etil alkol analizi



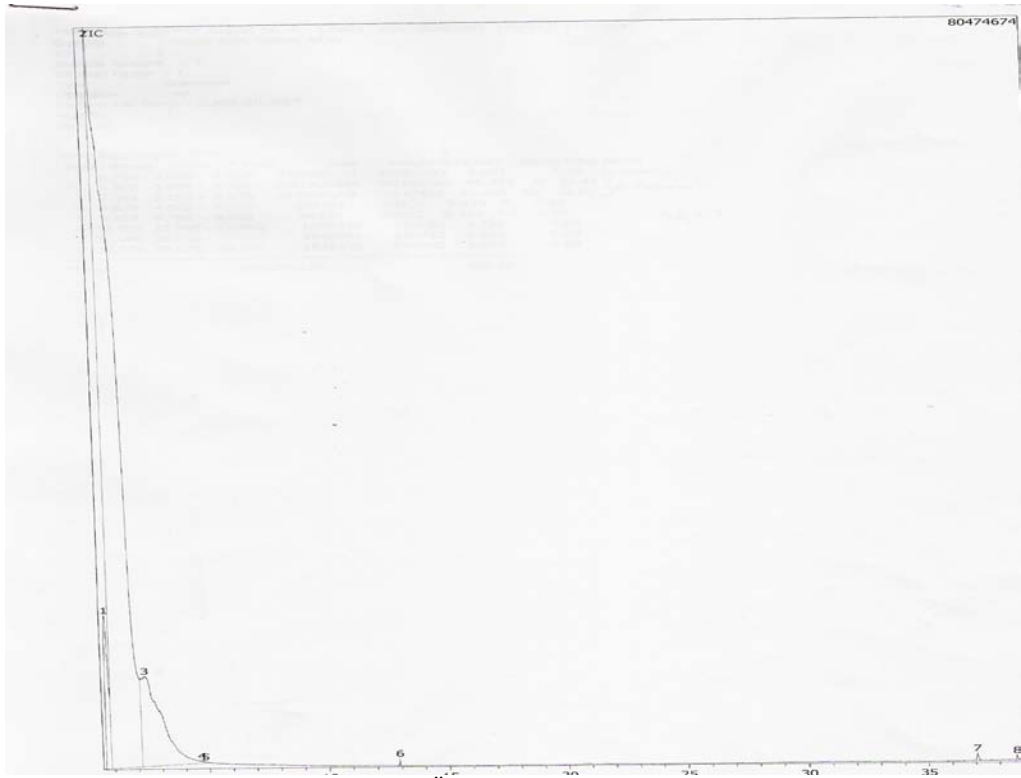
Şekil Ek 5.23. 6 nolu şarap etil alkol analizi



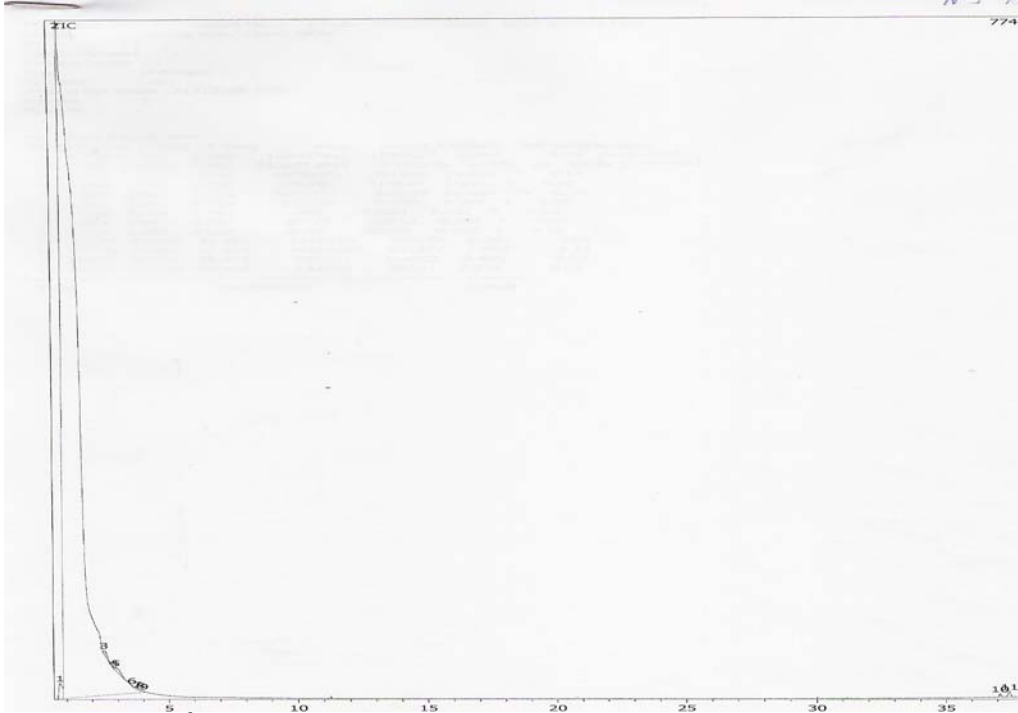
Şekil Ek 5.24. 7 nolu şarap etil alkol analizi



Şekil Ek 5.25. 8 nolu şarap etil alkol analizi

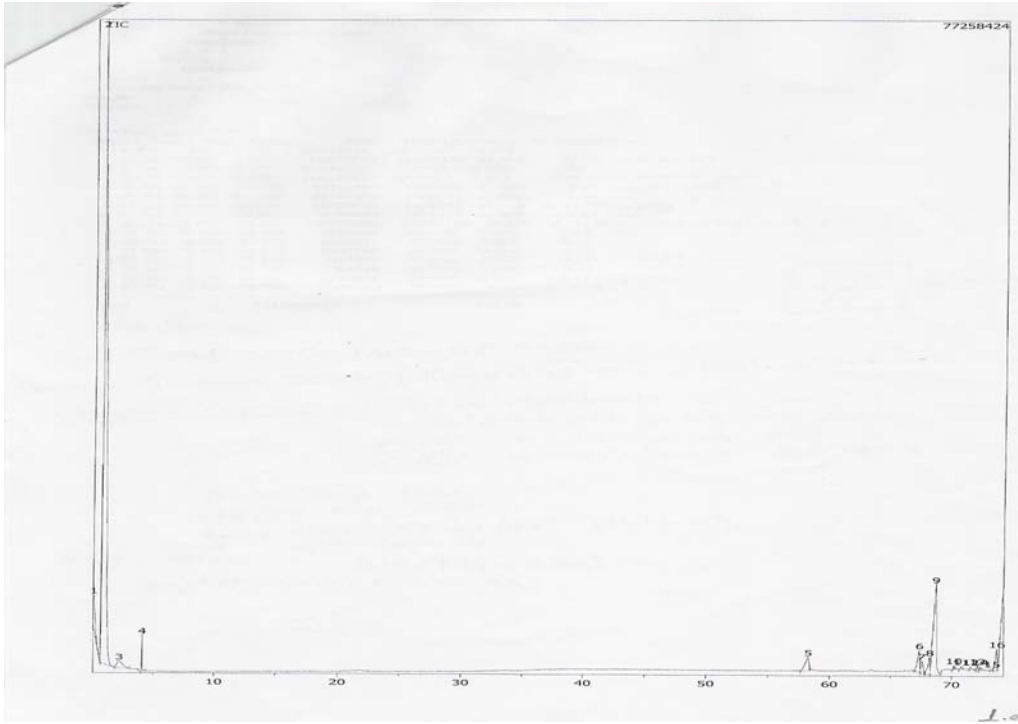


Şekil Ek 5.26. Oda sıcaklığında Narince Üzüümü ile yapılan şarabın etil alkol analizi

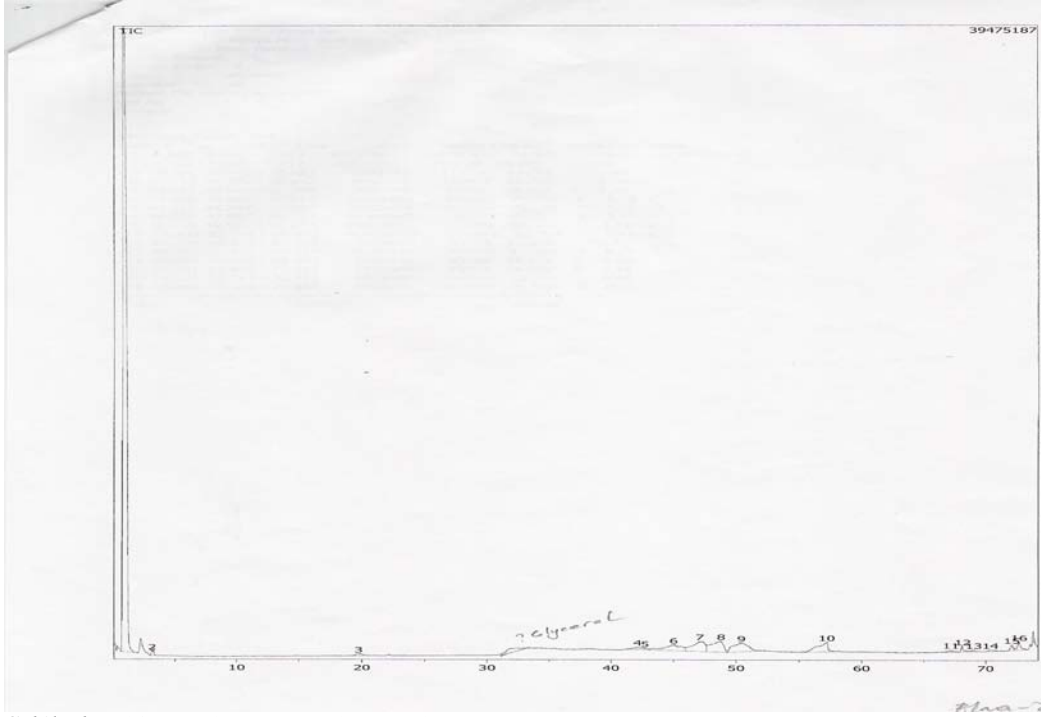


Şekil Ek 5.27. 18°C'de Narince Üzümi ile yapılan şarabın etil alkol analizi

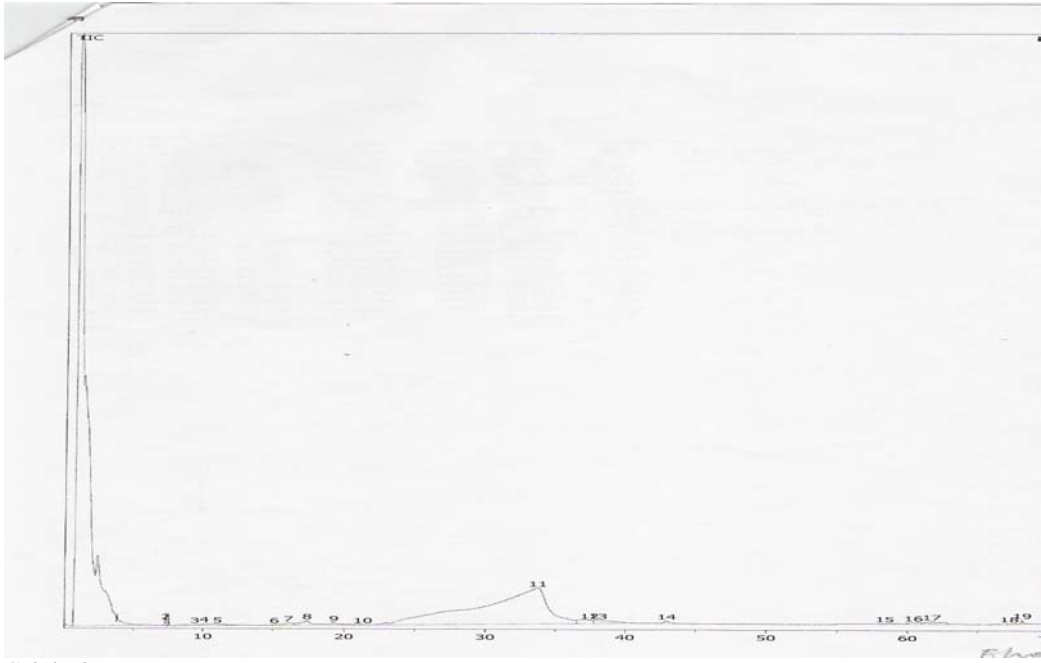
Ek 5.4. Beyaz elma şarabında yapılan optimizasyon deneyinin GC/MS ile analiz sonuçları



Şekil Ek 5.28. 1 nolu elma şarabı etil alkol analizi



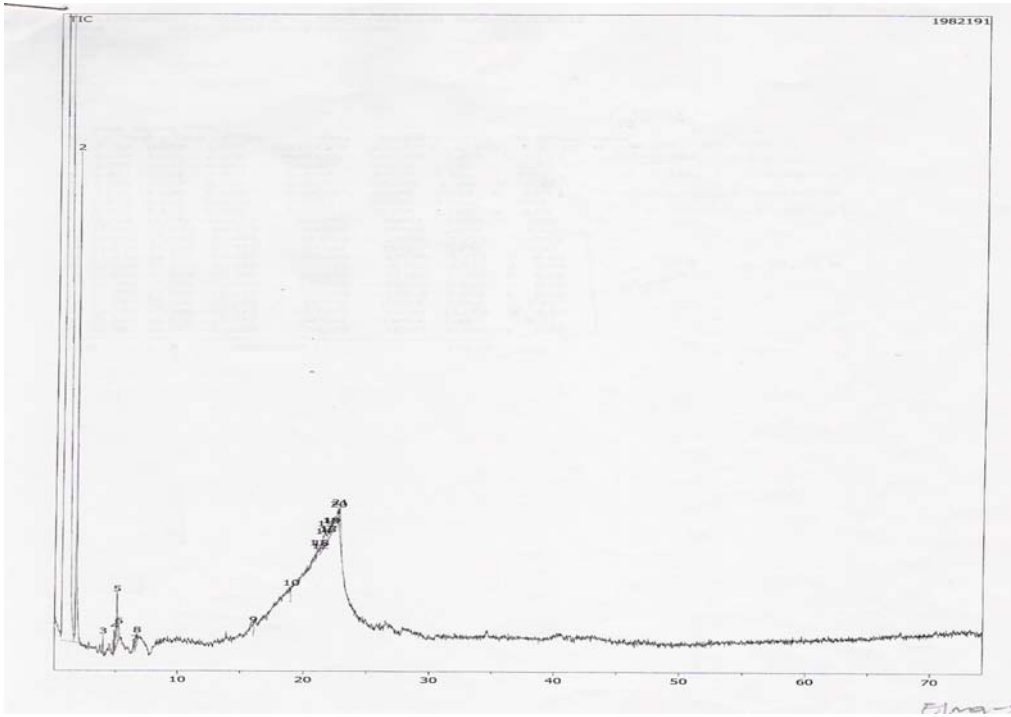
Şekil Ek 5.29. 2 nolu elma şarabı etil alkol analizi



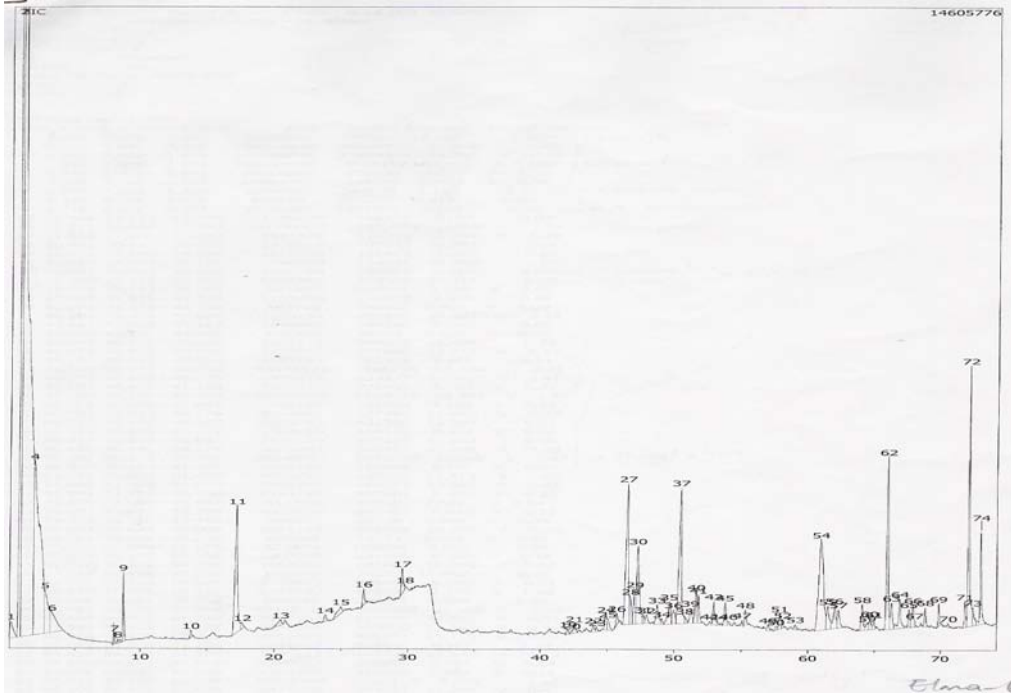
Şekil Ek 5.30. 3 nolu elma şarabı etil alkol analizi



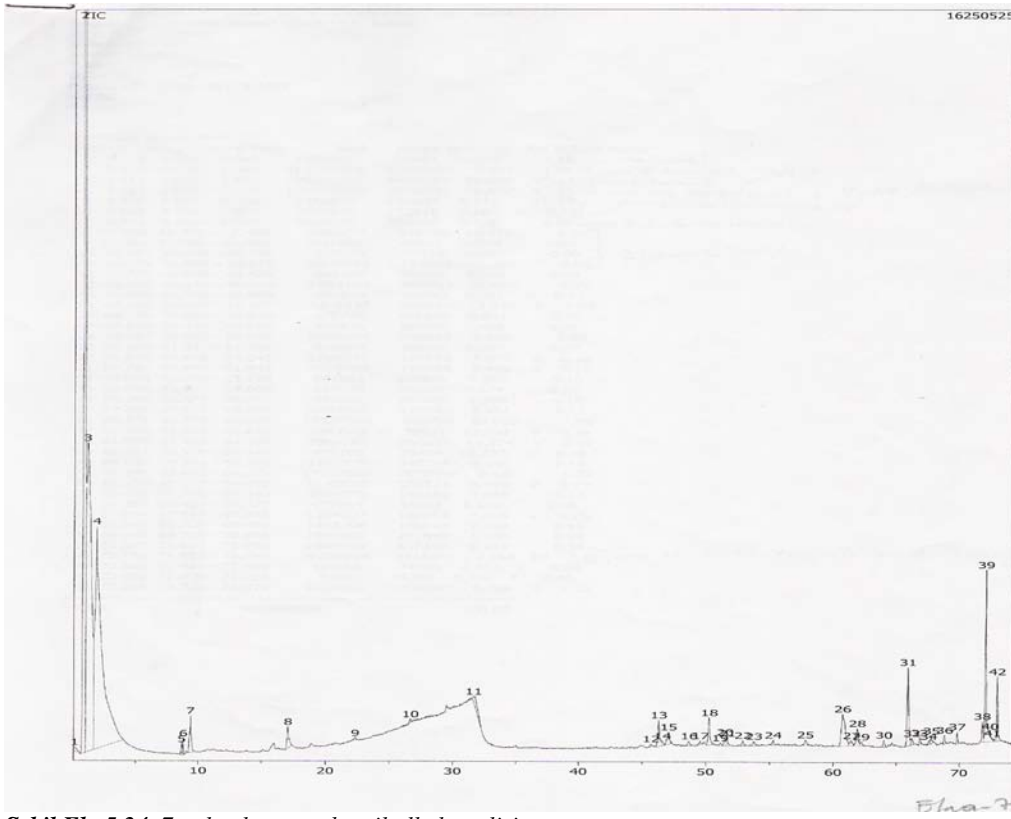
Şekil Ek 5.31. 4 nolu elma şarabı etil alkol analizi



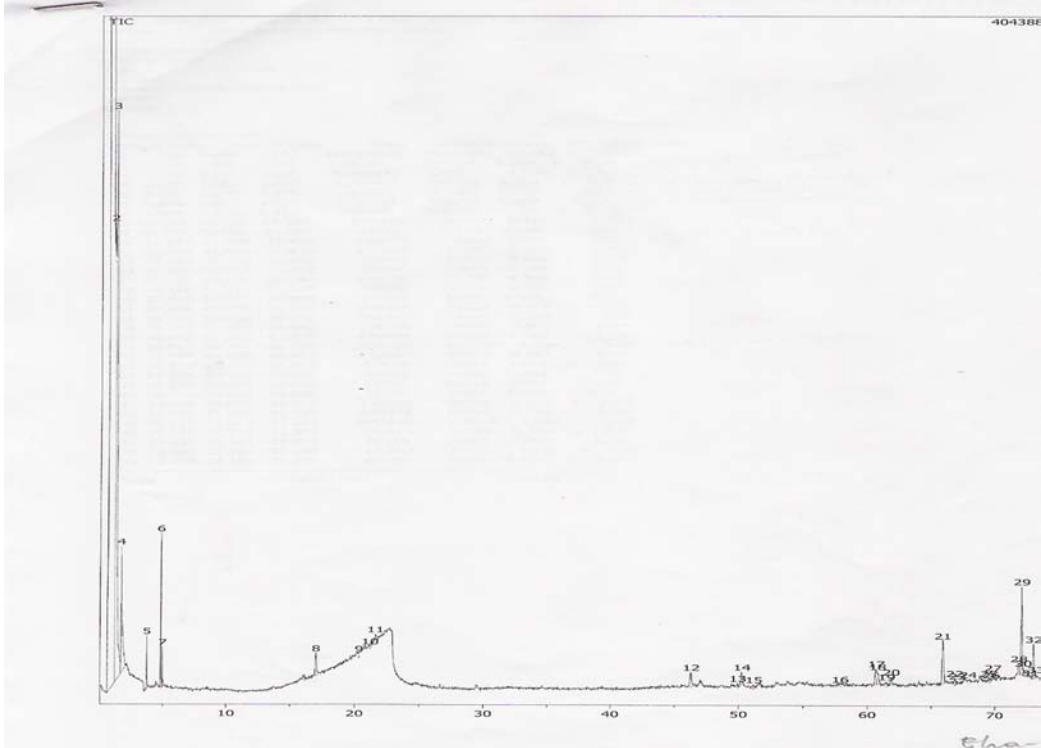
Şekil Ek 5.32 . 5 nolu elma şarabı etil alkol analizi



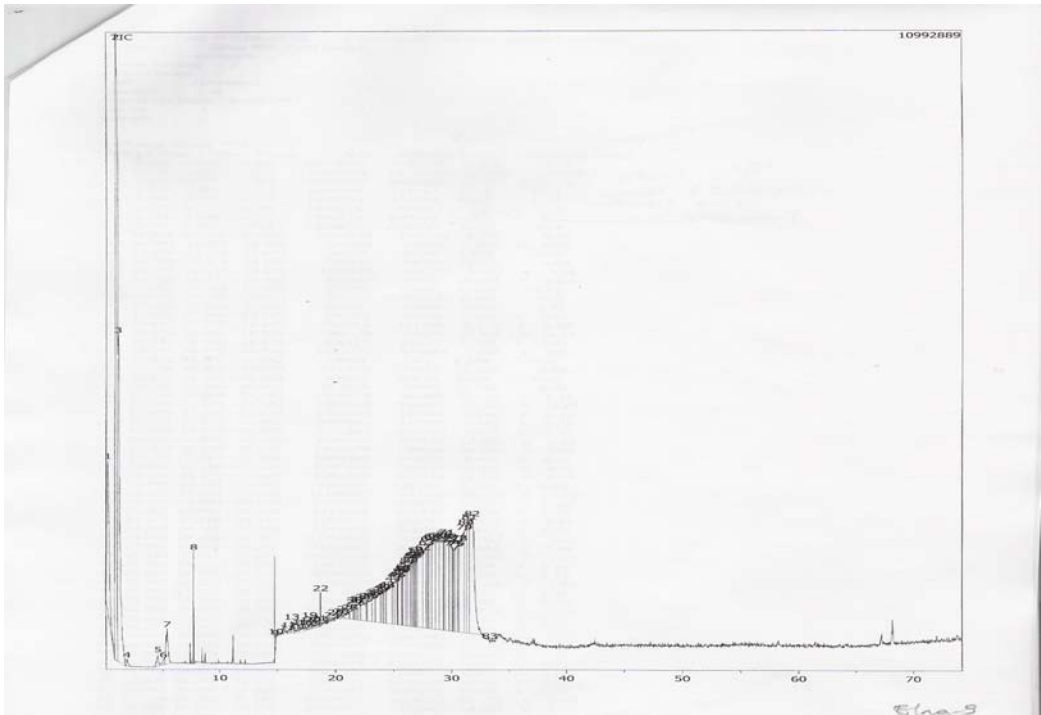
Şekil Ek 5.33. 6 nolu elma şarabı etil alkol analizi



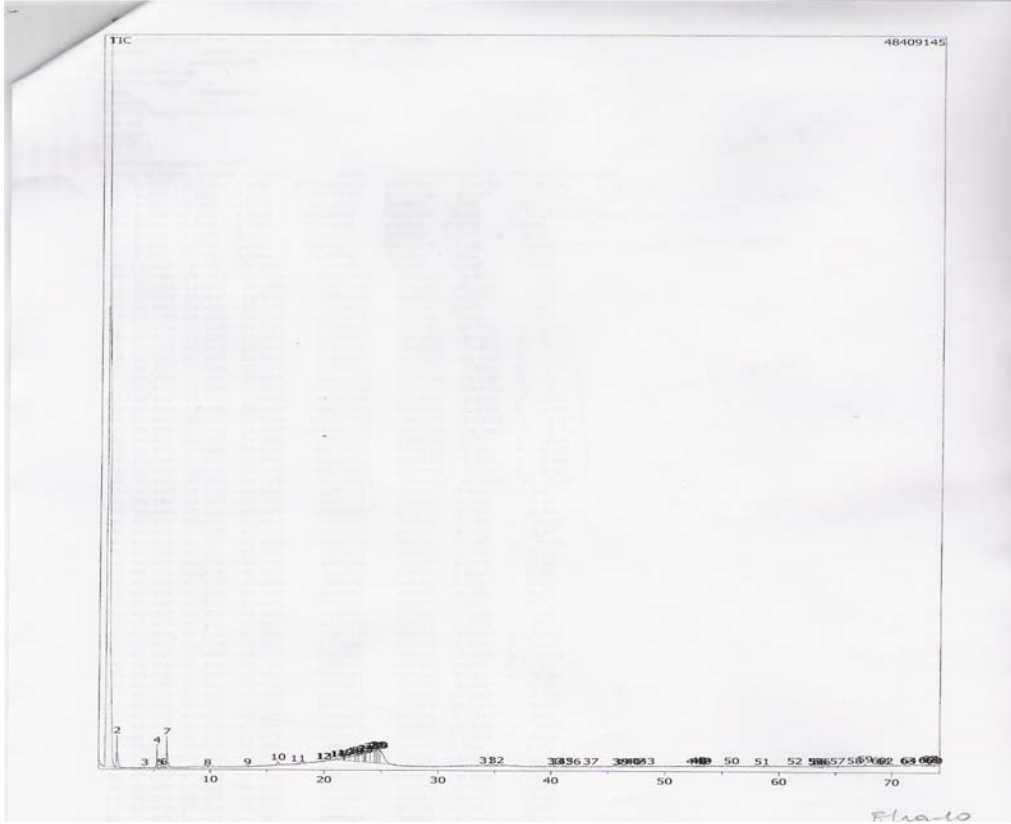
Şekil Ek 5.34. 7 nolu elma şarabı etil alkol analizi



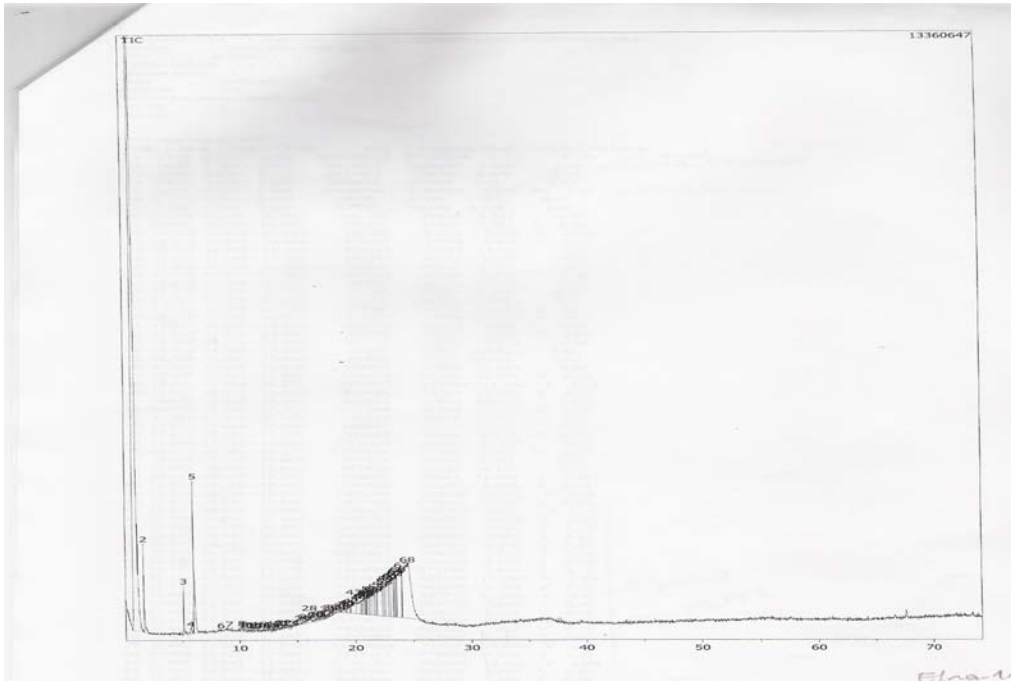
Şekil Ek 5.35. 8 nolu elma şarabı etil alkol analizi



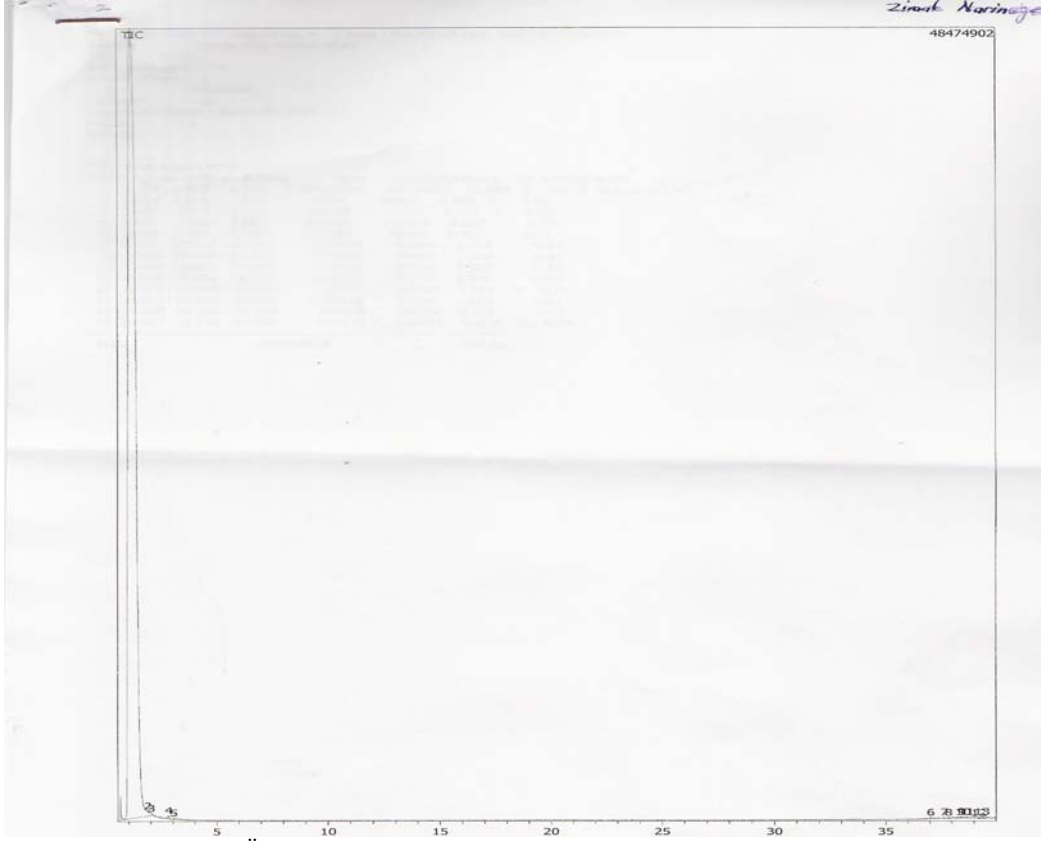
Şekil Ek 5.36. 9 nolu elma şarabı etil alkol analizi



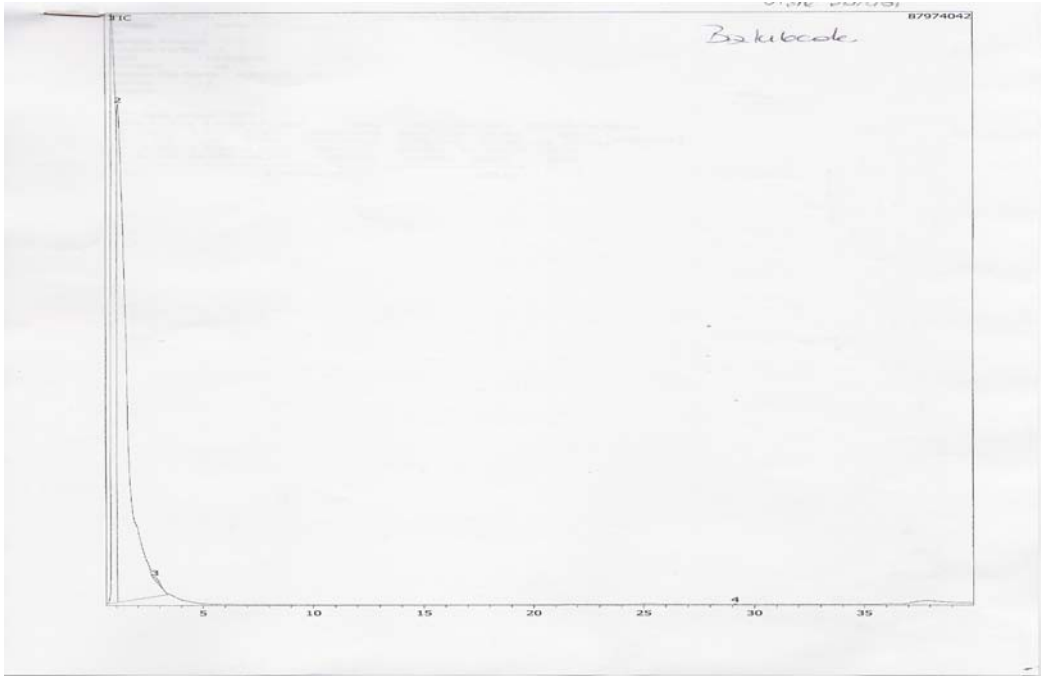
Şekil Ek 5.37. 10 nolu elma şarabı etil alkol analizi



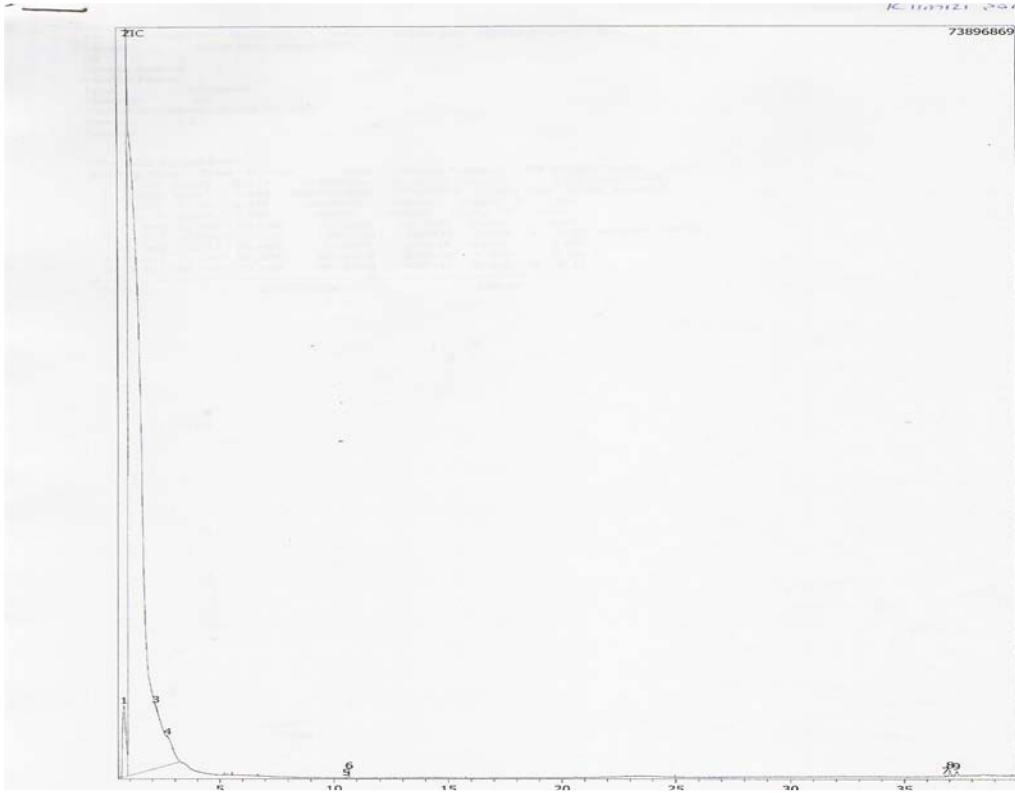
Şekil Ek 5.38. 11 nolu elma şarabı etil alkol analizi



Şekil Ek 5.39. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi tarafından üretilen Narince şarabı analiz sonucu



Şekil Ek 5.40. Vişne şarabında GC/MS analiz sonucu



Şekil Ek 5.41. Kalecik Karası şarabında GS/MS analiz sonucu

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Çorum Sungurlu'da doğdu. İlk, orta, lise öğrenimini Sungurlu Lisesi'nde tamamladı. 1997 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi. 2003 yılında mezun olarak "Biyolog" ünvanı aldı. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü'nde tezli yüksek lisansa başladı.