

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞARAPLARDA MANTAR TADI VE KOKUSU SORUNUNUN BELİRLENMESİ

Didehan ÖZHAN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2006

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ŞARAPLARDA MANTAR TADI VE KOKUSU SORUNUNUN BELİRLENMESİ

Didehan ÖZHAN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. R. Ertan ANLI

Çalışmada, mantar tadı sorununa yol açan bileşenler şarap ve mantarlarda GC-ECD yöntemleri kullanılarak saptanmıştır. Ayrıca, sorunun temelini oluşturan 2,4,6-trikloroanizol (2,4,6-TCA)' ün, su ve şarap örneklerinde algı eşiği, duyu test ile belirlenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilerek örnekler arasında karşılaştırma yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre; şaraplarda bulunan, 2,4-dikloroanizol, 2,4,6-trikloroanizol, 2,3,4,6-tetrakloroanizol, pentakloroanizol, 2,4,6- triklorofenol, 2,3,4,6-tetraklorofenol ve pentaklorofenol miktarları sırasıyla; 0,83-2,00 ng/L, 2,50-2,62 ng/L, 2,51-6,67 ng/L, 2,50-2,62 ng/L, 0,91-1,12 ng/L, 3,15-4,05 ng/L ve 0,25-0,73 ng/L arasında; mantarlarda bulunan, 2,4,6-trikloroanizol, 2,3,4,6-tetrakloroanizol, pentakloroanizol, 2,4,6-triklorofenol ve pentaklorofenol miktarları ise sırasıyla; 2,49-2,53 ng/g, 1,13-1,30 ng/g, 2,49-2,53ng/g, 0,01-0,09 ng/g ve 0,01-0,06 ng/g arasında değişmektedir. Yerel şarap üretici firmalardan sağlanan iki şarapta ve bu şaraplara ait mantarlarda ise önemli düzeyde 2,4,6-TCA saptanmıştır.

2006, 37 sayfa

Anahtar Kelimeler: Şarap, mantar, mantar tadı ve kokusu, TCA, TCP, GC-ECD

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF CORK TAINT PROBLEM IN WINES

Didehan ÖZHAN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. R. Ertan ANLI

In this study, the compounds responsible for cork taint, in wines and cork stoppers, were determined by using GC-ECD methods. In addition, 2,4,6-trichloroanisole is the primary compound responsible for cork taint, whose olfactory threshold, in water and wines, were detected by sensorial test. The results were assessed statistically and the samples were compared.

According to the research results; 2,4-dichloroanisole, 2,4,6-trichloroanisole, 2,3,4,6-tetrachloroanisole, pentachloroanisole, 2,4,6-trichlorophenol, 2,3,4,6-tetrachlorophenol and pentachlorophenol levels of wines ranged from 0,83 to 2,00 ng/L, 2,50 to 2,62 ng/L, 2,51 to 6,67 ng/L, 2,50 to 2,62 ng/L, 0,91 to 1,12 ng/L, 3,15 to 4,05 ng/L and 0,25-0,73 ng/L; 2,4,6-trichloroanisole, 2,3,4,6-tetrachloroanisole, pentachloroanisole, 2,4,6-trichlorophenol and pentachlorophenol levels of corks ranged from 2,49 to 2,53 ng/g, 1,13 to 1,30 ng/g, 2,49 to 2,53ng/g, 0,01 to 0,09 ng/g and 0,01 to 0,06 ng/g respectively. High level 2,4,6-TCA was detected in two wines and their cork stoppers supplied by national wineries.

2006, 37 pages

Key Words: Wine, cork, cork taint, TCA, TCP, GC-ECD

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında araştırmalarımı yönlendiren, tecrübe, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek bilimsel çalışma yetilerimi geliştirmeme katkıda bulunan danışman hocam Sayın Doç. Dr. R. Ertan ANLI' ya, pratik çözümleri, geniş bilgi ve deneyimleriyle çalışmamın kromatografik kısmının gerçekteştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, kromatografi uzmanı yüksek kimyager Sayın Nilüfer VURAL' a ve diğer BİTAUM personeline, istatistiksel değerlendirme aşamasında yardımını aldığım Sayın Doç. Dr. Muhip ÖZKAN' a ve Araş. Gör. Özgür KOŐKAN' a, materyal ve kaynak desteği için Sayın Őefik ALPER ve AMORİM-SANATER Őirketler Grubu'na, laboratuarda birlikte çalıştığım tüm arkadaşlarıma ve çalışmalarım süresince beni destekleyen sevgili aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Didehan ÖZHAN
Ankara, Ocak 2006

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	2
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1 Materyal.....	18
3.2 Yöntem.....	18
3.2.1 Mantarlanmış Şaraplarda Yapılan Analizler.....	18
3.2.1.1 Duyusal analizler.....	18
3.2.1.2 Kimyasal Analizler.....	19
3.2.1.2.1 Alkol tayini.....	19
3.2.1.2.2 pH değeri tayini	19
3.2.1.2.3 Toplam asit tayini.....	19
3.2.1.2.4 Uçar asit tayini.....	19
3.2.1.2.5 Toplam ve serbest SO ₂ tayinleri	19
3.2.1.2.6 Kuru madde tayini.....	20
3.2.1.2.7 Kül tayini.....	20
3.2.1.2.8 İndirgen şeker tayini.....	20
3.2.1.3 Klorofenol ve kloroanizol tayinleri.....	20
3.2.1.3.1 Enstrümental analizler.....	20
3.2.1.3.2 Kimyasallar ve ayıraçlar.....	21
3.2.1.3.3 SPME (Katı Faz Mikro Ekstraksiyon) işlemi	21
3.2.2 Mantarlarda yapılan analizler.....	21
3.2.2.1 Klorofenol ve kloroanizol tayinleri.....	22
3.2.2.1.1 Enstrümental analizler.....	22
3.2.2.1.2 Kimyasallar ve ayıraçlar.....	22
3.2.2.1.3 Örneklerin analize hazırlanması.....	23
3.2.4 İstatistiksel değerlendirme.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	24
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	31
KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ.....	37

SİMGELER DİZİNİ

ECD	Elektron Yakalama Dedektörü
GC	Gaz kromatografisi
GC-ECD	Gaz Kromatografisi Elektron Yakalama Dedektörü
MSD	Kütle Spektrometre Dedektörü
SDE	Eş Zamanlı Distilasyon Ekstraksiyon
SPME	Katı Faz Mikro Ekstraksiyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Mantar ağacının enlemesine kesitinde dokuların şematik görünümü	4
Şekil 2.2 2,4,6-Trikloroanizol.....	9
Şekil 2.3 2,3,4,6-Tetrakloroanizol.....	10
Şekil 2.4 Pentakloroanizol.....	10
Şekil 2.5 Guaiacol.....	10
Şekil 2.6 1-octen-3-ol.....	11
Şekil 2.7 1-octen-3-one.....	11
Şekil 2.8 Geosmine.....	11
Şekil 2.9 Poliklorofenollerin, polikloroanizollere dönüşümü.....	13
Şekil 4.1 Standart klorofenol ve kloroanizoller.....	28
Şekil 4.2 Şarap 3' te belirlenen klorofenol ve kloroanizoller.....	29
Şekil 4.3 Şarap 3' e klorofenol ve kloroanizol ilavesiyle elde edilen kromatogram.....	29
Şekil 4.4 P1 Mantarında belirlenen klorofenol ve kloroanizoller.....	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Suda 2,4,6-TCA duyusal değerlendirme sonuçları.....	24
Çizelge 4.2 Şarapta 2,4,6-TCA duyusal değerlendirme sonuçları.....	24
Çizelge 4.3 Kimyasal analiz sonuçları	25
Çizelge 4.4 Şaraplarda klorofenol ve kloroanizol miktarları	25
Çizelge 4.5 Mantarlarda klorofenol ve kloroanizol miktarları	26
Çizelge 4.6 Şaraplarda klorofenol ve kloroanizol miktarlarının istatistik gösterimi.....	26
Çizelge 4.7 Mantarlarda klorofenol ve kloroanizol miktarlarının istatistik gösterimi...	27

1. GİRİŞ

Mantar, günümüzde şarap şişelerinin kapatılmasında kullanılan en önemli doğal materyaldir. Mantar, mantar meşesinin (*Quercus suber* L.) gövdesi ve kabuk tabakası arasında kalan suberofellodermik (kendini yenileyebilen) tabakadan üretilir.

Mantar tadı, şaraplarda karşılaşılan en önemli sorunlardan biridir. Bu soruna yol açan bileşenler, başta 2,4,6-trikloroanizol (2,4,6-TCA) olmak üzere, 2,3,4,6-tetrakloroanizol (2,3,4,6-TeCA), pentakloroanizol (PCP), guaiacol, 2-methylisoborneol, geosmine, 1-octen-3-one, 1-octen-3-ol' dür.

Farklı kaynaklardan gelebilen bu önemli sorun üzerinde dünyada birçok araştırma yapılmıştır. İşlenmemiş mantarlar düşük konsantrasyonda bile olsa pentaklorofenol, tetraklorofenol ve kloranizol içerirler. Bu bileşenlerin düzeyi klorla muamele sonucu artmakta ve yüksek miktarları ise şarapta istenmeyen mantar tadına neden olmaktadır. Özellikle mantar üzerinde yerleşmiş bulunan küflerin faaliyetiyle metilasyon sonucu mantardaki tetraklorofenol ve kloranizol düzeyi yükselmekte ve yine metilasyonla triklorofenol, trikloroanizole dönüşmektedir. Anizol grubundan 2, 4, 6-trikloroanizol, düşük dozlarda, istenmeyen mantar kokusuna neden olmaktadır. Mantar tadı sorunu şarabın yıllandırıldığı ahşap fiçılardan, şarap şişelerinin taşındığı tahta paletlerden ve binanın ahşap konstrüksiyonundan da kaynaklanabilir.

Mantar tadı sorununa neden olan en önemli bileşen 2, 4, 6- trikloroanizoldür. 2, 4, 6-trikloroanizol doğada su, toprak, sebze ve meyvelerde sıklıkla rastlanan zararsız bir madde olmasına rağmen, şaraba küflü ve tahtamsı bir tat ve koku vermesi nedeniyle şarapları içilemez hale getirir.

Bu çalışmada, dünya şaraplarında olduğu gibi ülkemiz şaraplarını da tehdit eden mantar tadı sorunu araştırılmış; şarap ve mantar örneklerinde GC-ECD yöntemi ile soruna neden olan bileşenler belirlenerek, sorunun boyutu ortaya konulmuştur. Ayrıca, duyu analizi ile algı eşikleri belirlenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Şarap üretimiyle birlikte şarapların saklanması için ambalaj ve kapak ihtiyacı da belirlemiştir. Eski Yunanlılar bu amaçla mantar, Mısırlılar ise balmumu ve reçine gibi bileşikler kullanmışlardır. Şarapların saklanmasında ve taşınmasında amforalar uzun yüzyıllar kullanılmıştır. Yapılan arkeolojik kazılarda içinde şarap tortusu olan amforalar bulunmuştur (<http://www.hayyam.com>, 2004).

Cam şişeler antik geçmişine karşın şarap üreticileri tarafından 17. yüzyıldan sonra kullanılmaya başlamıştır. O zamana kadar şarap şişelerinin ağzı tahta ya da kenevir gibi yetersiz ve kalitesiz malzemelerle kapatılırken, şişe tıpası olarak meşe ağacının mantarını ilk kullanan Keşiş Dom Oudrat olmuştur. Ancak bu buluştan sonra, gerek şampanya, gerekse diğer şarap çeşitlerini şişelendikten sonra uzun süre bozulmadan saklamak mümkün olabilmıştır (Fidan ve Anlı 2000).

Şarap mantarı, mantar meşesi (*Quercus suber* L.) olarak adlandırılan ve yüzyıllarca yaşayabilen, kseroofil yani kabuğunu yenileyebilme özelliğine sahip, bir tür meşe ağacından elde edilmektedir. Mantar meşesi ağacının düzenli ve sürekli büyüyebilme yeteneği, bu ağacın periyodik olarak kullanılmasını ve endüstri için iyi bir hammadde olmasını sağlamaktadır (Pereira 1988).

Mantar meşesi ağacı en yoğun biçimde Batı Akdeniz çanağında yer alan ülkelerde; başta Portekiz olmak üzere İspanya, Güney ve Batı Fransa kıyıları, Korsika ve Balear Adaları, Batı İtalya, Sicilya ve Sardunya Adaları, Fas, Cezayir ve Tunus gibi Kuzey Afrika ülkelerinde yetişmektedir. Mantar meşesi ormanları dünya üzerinde 2,2 milyon hektarlık bir alanı kaplamaktadır. Bu sahanın; % 33' ü Portekiz' de, % 23' ü İspanya' da, % 21' i Cezayir' de, % 10' u İtalya' da, % 9' u Fas' ta, % 3' ü Tunus' ta, % 1' i Fransa' da bulunmaktadır. En kaliteli mantar İspanya' nın Katalanya, Andalus, Estremadura bölgelerinde ve Portekiz' de yetişen meşelerden elde edilmektedir. Portekiz yılda 170.000 tonluk şarap mantarı üretimiyle bu sektörde diğer ülkelerin toplamından daha fazla paya sahiptir (Aktan ve Kalkan 2000, <http://www.hayyam.com>, 2004, <http://www.amorimcork.com>, 2005).

Ülkemizde 1900' lü yılların başında mantar meşesi yetiştirmek için denemeler yapılmıştır. İzmir Torbalı' da bugün bu dönemlerden kalma birkaç tane mantar meşesi ağacı bulunmaktadır (Aktan ve Kalkan 2000).

Yükseklik, sıcaklık ve yağış, mantar ağacının yetişmesinde etkili olan başlıca koşullardır. Derine inen kazık kökü, gövdesini saran kalın mantar tabakası ve her zaman yeşil küçük sert yapraklarıyla kuraklığa dayanıklı, ışık isteği yüksek bir ağaç türü olan mantar meşesinin en uygun yetiştirme ortamında yağış 600-800 mm³ arasında değişmekte; yıllık ortalama yağışın 400 mm³ ün altında olduğu bölgelerde yetişmemektedir. Aslında mantar meşesi en kaliteli mantarı kurak ve fakir topraklar üzerinde üretmektedir. Şişe mantarı üretiminin kalitesi için ideal yağış ortalaması 600-700 mm³ tür (Aktan ve Kalkan 2000, Alper 2005a).

Kıyıda başlayarak deniz seviyesinden 1600 metre yüksekliğe kadar çıkan geniş bir yükselti basamağında görülebilen mantar meşesi ağacı en iyi ürünlerini 600-700 metre yükseklikteki alanlarda oluşturmaktadır. İber Yarımadası' nda 800-900 metreye kadar çıkabilen mantar meşesi ağacı, Sicilya Adası' nda 300-500 metre yükseklikte yetişmektedir. Portekiz' deki ağaçlar genellikle 200 metre yükseklikte Tagus Nehri havzasında yer almaktadır (<http://www.hayyam.com> 2004, Alper 2005a).

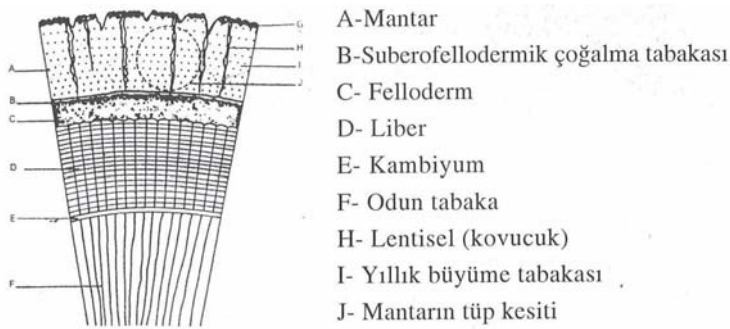
Mantar meşesi ağacı soğuğa duyarlı olduğundan -5 °C' nin altında yaşayamamaktadır. Portekiz' de hava sıcaklığının kışın bile 10°C' nin altına inmemesi bu bölgeyi mantar meşesi yetiştiriciliği için en uygun ortam haline getirmektedir (<http://www.hayyam.com> 2004).

Mantar meşesi ağacı çok çeşitli toprak türleri üzerinde gelişebilmektedir. Ana taşı birinci jeolojik devirden dördüncü jeolojik devre kadar olan bütün silisli, granitik topraklarla şist, feldispat, gnays ve pilyosen kumları üzerinde yetişebilmekte, ancak kalker ana kayalar üzerinde iyi bir gelişim gösterememektedir. Derin kumlu ve hafif nemli topraklar mantar meşesi üretimi için en uygun alanlarken, drenajı kötü topraklar ya da çok kumlu ve çok killi topraklar ile belirli dönem su altında kalan topraklar mantar meşesi yetiştirmek için uygun alanlar olarak kabul edilmemektedir. İspanya' da doğal

mantar meşesi ormanları genellikle granitler ve fillişler üzerinde bulunmaktadır. Portekiz’ de yaz sıcaklığının çok yüksek olduğu bölgelerde podsol topraklar üzerinde de gelişebilmektedir (Alper 2005a).

Yetiştirme ortamını fazlasıyla seven mantar meşesi ağaçları mantar üretmemektedir. Mantar meşesi ağacında mantar kabuğunun oluşabilmesi için ağacın bir miktar kuraklık, güneş yakması ve don etkisi gibi güç doğa koşullarında kalması gereklidir. Mantar meşesi ağacı her yaşta kök ve su sürgünü verme yeteneğinde olduğundan; kesim, yangın, erken don ya da başka bir nedenle ortaya çıkabilecek tahribatlara dayanıklıdır (Alper 2005a).

Mantar meşesi ağacının kabukları her 9 yılda bir soyularak şişe mantarına işlenmektedir. Mantar tabakası aslında ölü bir tabaka olup, fellojen adı verilen suberofellodermik dış çoğalma tabakasıyla gelişimini sürdürmektedir. Ağaç gövdesinden enlemesine kesit alındığında, üç tabaka ile karşılaşılır; mantar (suber), fellojen (dış çoğalma tabakası veya suberofellodermik tabaka) ve odun tabakası. B ve E arasında gösterilen kısım ana tabaka olarak adlandırılmaktadır. Ana tabaka her yıl iç kısımdan liber, dış kısımdan fellojenin eklenmesiyle artış göstermektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Mantar ağacının enlemesine kesitinde dokuların şematik görünümü (Fidan ve Anlı 2000)

Mantar meşesi ağacı dikildikten 5-6 yıl sonra kabuk üretmeye başlamakta, 15 yaşına geldiğinde 10 metre yüksekliğe ve yerden 1.20 metre yükseklikte 22 cm çapa ulaşmaktadır. Ağacın hasat için gerekli olgunluğa ulaşması için 25 yıl geçmesi gerekmektedir. Bu yaştaki ağacın yerden 1.20 metre yükseklikteki çapı 70 cm' ye ulaşmış olacak ve böylece ilk hasadı (bakir mantar-virgin cork) yapılabilecektir. İlk hasattaki kabuk ince ve şekilsiz olduğundan tıpa amaçlı olarak kullanılamamaktadır. Ancak küçük doğal diskler kesilebilir, granüle dönüştürülerek bloklar haline ve normal ya da kauçuklu levhalar haline getirilerek conta sanayi, inşaat sanayi ve zemin kaplama sanayinde kullanılmaktadır (Alper 2005a).

Mantar meşesi 25 yaşındaki ilk hasadından sonra, her 9 senede bir yeniden hasat edilmektedir. Şarap ve şampanya endüstrisindeki doğal mantar tıplarının üretimi için iki 9 sene (18 sene) daha geçmesi gerekmekte; yani ağaç yaklaşık olarak 40 yaşına ulaştıktan sonra tıpa üretimi için elverişli kalınlıkta kabuk üretmektedir. Mantar meşesi ağacının (*Quercus suber* L.) ekonomik olarak en verimli dönemi ise 25-150 yaşları arasındadır. Bu dönemde 16 kez hasat yapılmakta ve her seferinde de 60-80 kg civarında kabuk alınmaktadır. Mantar meşesi ağacı (*Quercus suber* L.) 250-400 seneye kadar uzanabilen bir ömre sahiptir ve yetişkin bir ağaç ömrü boyunca bir tonun üzerinde kabuk üretebilmektedir (Alper 2005a).

Portekiz' de mantar meşesi ormanları kanunlar ile çok sıkı olarak korunmaktadır. Yasalara göre; gerekli budama ve ekonomik ömrünü yitiren ağaçların resmi izin ile kesimlerinin dışında, mantar meşesi ağacının kesilmesi kesinlikle yasaktır (Alper 2005a).

Mantar meşesinden doğal mantar üretimi, mantar ormanlarının çok dikkatli olarak işlenmesi ile başlamaktadır. Mantar meşesi ağacından kabuk hasadı ağaçların en hızlı büyüdükleri aylar olan Haziran-Ağustos aylarında özel kancalı baltalarla, gövdedeki en derin yarıktan kesime başlanarak yapılmaktadır. Yatay olarak çizilen ağaç kabukları, ağaca zarar vermeden plakalar halinde ayrılmaktadır. Kesilerek alınacak olan kısım dış kabuktur ve kambiyuma asla zarar verilmemesi gerekmektedir. Soyulan mantar plakalarının boyları 0.5-2.0 m ve kalınlıkları 20-100 mm olmaktadır. 20 yaşındaki

ağaçtan 3 kg mantar elde edilirken, 150 yaşında meşe mantarından 200 kg kadar ürün alınmaktadır (Aktan ve Kalkan 2000, Fidan ve Anlı 2000, Alper 2005a).

Hasat yapıldıktan sonra kırmızı bir kambiyum tabakası ortaya çıkmakta, yıllar ilerledikçe bu tabaka kahverengimsi bir renk almakta ve 9 yıl içerisinde yeniden hasat yapılacak ölçüde dış kabuk oluşmaktadır (Alper 2005a).

İstenilen kalınlığa gelerek hasat edilen mantar kabukları, doğada kurutulmaya bırakılmakta 6 ay kadar süreyle güneş ışığı ve yağmur altında tutularak olgunlaşması sağlanmaktadır. Böylece ham tat kaybolup polifenoller okside olmakta, doku gevşeyerek yumuşayıp düzleşmektedir. Bu sürenin sonunda mantarlar istiflenip su tanklarında yüksek basınçlı su ile yıkanarak bünyelerindeki toz ve bakteriler temizlenmektedir. Kurutma odalarında kurutulup sınıflandırıldıktan sonra iki hafta daha dinlendirilmektedir. İstenilen tıpa ölçülerine uygun dilmeler çıkartılmakta, bu dilmelerden de tıpa kesimleri silindirik zımbalama ile yapılmaktadır. Kesimi yapılan tıplar alt ve üst yüzeylerinden istenilen tam ölçüye ulaşana kadar zımparalanmaktadır. Kesin ölçülerde ortaya çıkan tıplar hidrojen peroksit ile yıkayıp ozon gazı ile işleme uğratarak mantardan şaraba geçebilecek ve şarapta kontaminasyona neden olabilecek mikroorganizmalardan arındırılmaktadır. Mantar tıplarının üzerlerine istenilen logolar yakma metodu ile basılıp son olarak da şişeye giriş ve çıkışı kolaylaştırmak için parafin ya da silikonla kaplanarak 1000' er adetlik steril torbalarda ambalajlanmakta, torbalar da 5000 adetlik kolilere yerleştirilerek sevk edilmektedir (Aktan ve Kalkan 2000, Fidan ve Anlı 2000, Alper 2005a).

Mantar tıplar, 15-20 °C sıcaklık ve % 40-70 nem oranı ile sabitlenmiş, kokudan ve küften arındırılmış, her türlü kimyasal ve temizlik ürününden uzak bir ortamda tutulmalıdır.

Şaraphanelerde mantar tıplarının uzun dönem depolanmaları önerilmemektedir. En uygun depo şartlarında bile önerilen süre en fazla 6 aydır. Mantar tıplar sevkiyattan hemen sonra kullanılmalıdır. Mantar torbaları antiseptik ve antioksidan olarak kükürtdioksit (SO₂) ile korunmaktadır. Polietilen ambalaj torbaları mantar tıplarının

kullanımı esnasında açılmalı, ağzı açılmış fakat kullanılmamış mantar tıplar 1000' er adetlik torbalar için 0.5-4 gram olacak şekilde tekrar kükürtdioksitletlenmelidir (Anonim 2006).

Mantar endüstrisi, şarap ve şişe sanayisindeki çeşitliliğe bağlı olarak farklı ölçü ve özellikte mantar tıpa çeşitleri geliştirmiştir. Mantar tıplar; naturel (doğal) mantar tıpa, aglomere (yığma) mantar tıpa, kolmate (dolgulu) mantar tıpa, kapsüllü mantar tıpa, çok parçalı mantar tıpa, teknik mantar tıpa, şampanya ve köpüren şaraplar için mantar tıpa olarak gruplandırılmaktadır (Anonim 2006).

Naturel (doğal) mantar tıplar tek parça mantar dilmelerden üretilmekte, aglomere (yığma) mantar tıplar ise doğal mantar tıpa üretiminden kalan mantar granüllerinin yapıştırıcıyla birbirlerine bağlanıp preslenmesi ve tekrar silindirik zımbalama işleminden geçirilmesiyle elde edilmektedir. Kolmate mantar tıplar, mantar yüzeyindeki lentisellerin mantar tozu ve yapıştırıcıyla doldurulması ile üretilmektedir. Çok parçalı mantar tıplar, birkaç doğal mantarın birbirine yapıştırılmasıyla; teknik mantar tıplar ile şampanya ve köpüren şaraplar için mantar tıplar aglomere mantar gövdeye doğal mantar disklerin yapıştırılmasıyla; kapsüllü mantar tıplar ise doğal ya da kolmate mantar gövdeye PVC, metal, cam gibi maddelerin takılmasıyla elde edilmektedirler (Fidan ve Anlı 2000, Anonim 2006).

Mantarlar, kuru veya nemlendirilmiş olarak kullanılmakta veya isteğe göre empregne edilmektedir. Burada amaç çözünür tanenli maddelerin ve mantar tozunun şaraba geçmesini önlemek ve kayganlık sağlamaktır (Aktan ve Kalkan 2000).

Mantar, şarap endüstrisinde şişedeki şarabı en iyi şekilde koruyan kapak olarak kabul edilmektedir. Sıvı veya gazlara karşı geçirgen olmayan bir yapı gösterir. Hücre membranı gözeneklerinden osmoz yoluyla sıvı geçişi son derece sınırlıdır. Mantar sürtünme katsayısı yüksek bir maddedir. Buna karşın yüzey kalınlığı çok düşüktür. Böylece şişe boynuna çok iyi yapışmakta ve şişe boynundaki düzensizlikleri gidermektedir. Dışarıdan gelen etkilere karşı cam yüzeyinde iyi bir kapama yapmaktadır. Bu özellik mantarın kesim sonunda üst yüzeyinde bulunan hücrelerin,

birçok mikroskobik vantuz oluşturması şeklinde açıklanabilir. Bir santimetreküp mantarda içi hava dolu 40 000 000 adet hücre mevcuttur. Bu özelliğinden ötürü sıkıştırılarak şişe boynuna yerleştirilebilir ve ilk ölçüdeki çapına dönüş yapma kabiliyeti ile şişe boynuna mükemmel bir uyum sağlar. şişelerin depolanması esnasında şişelerde oluşacak genleşme ve daralma hareketlerine uyum gösterir ve her zaman için mükemmel bir tıpalama vazifesi görür. Oldukça hafif bir materyaldir. Kimyasal ve fiziksel yapısı mantara geçirgensizlik, esneklik ve çürümelere karşı dirençli bir yapı, neme ve oksidasyona karşı dayanıklılık kazandırmaktadır (Fidan ve Anlı 2000, Anonim 2006).

Mantar, bu özellikleri ile şarap endüstrisinde eşsiz karakteristikte bir şişe kapama materyalidir. Kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri ile modern şarap endüstrisinin taleplerini en iyi şekilde karşılayabilen tek üründür. Birçok malzemeden benzeri yapılmış, fakat yerini tutabilecek hiçbir ürün elde edilememiştir.

Kullanılan mantarın kalitesi şarap kalitesi açısından oldukça önemlidir. İyi bir şişe mantarı yavaş yetişen, kuvvetli ve elastik olmalıdır. Sert, odunsu ve yumuşak olan şişe mantarları uygun değildir. Düşük kalitede mantar kullanımında gözenekler arasındaki parçacıkların kırılıp şarabın içerisine dökülmesiyle şarap polifenol kazanmakta, özellikle beyaz şaraplarda tortulanmalara ve bulanmalara neden olmaktadır. Mantarın fiziksel yapısından ve farklı nem oranından gelen sertlik ya da aşırı yumuşaklık, mikrobiyolojik sorunlar ve işleme hataları da şarap kalitesini olumsuz etkilemektedir (Fidan ve Anlı 2000, Aktan ve Kalkan 2000).

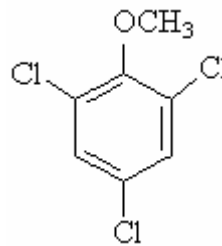
Nemli şaraphanelerde mantarlar fazla küflenmekte ve büyük zarar görölmektedir. Mantarların korunmasında güve ve kurtlarla da mücadele etmek gerekmektedir. Mantarların kuru ve havalandırılmalı ortamlarda saklanması uygun olmaktadır. Mantar güveleri ve kurtları şişeli şarap mahzenlerinde önemli zararlara neden olmaktadır. Bu zararlılar; şaraphane güvesi, şarap güvesi, mantar güvesi, tohum güvesi ve tutkal güvesi gibi adlar almaktadırlar. Mantar güvesi (*Nemapogon cloacellus*) ve şaraphane güvesi (*Dryadaula pactolia*) nemli ve karanlık mahzenleri tercih etmektedirler. şarap güvesi (*Oenophiliv flavum*) ise hem nemli hem de kuru şaraphane ortamlarında yaşamaktadır.

Mantar kurtları ve karıncalar da mantarları kemirerek zarar vermektedirler. Şaraphanelerde güveler ile mücadele, ortamı bunların yaşamına uygun olmayacak hale getirmek veya ilaçlamak suretiyle yapılmaktadır (Aktan ve Kalkan 2000).

Mantar tadı sorunu; şarapta küflü ve tahtamsı bir kokuyla kendini belli eden, şarap endüstrisinin en önemli sorunlarından biridir. Avrupa’ da şarapların % 0,5-2’ si, Avustralya’ da % 1-5,5’ i, dünya genelinde ise % 2,5-5’ i mantar tadı sorunuyla karşı karşıyadır ve bu sorun nedeniyle ortaya ortaya çıkan ekonomik kayıp 10 milyar doları bulmaktadır (Lee ve Simpson 1993, Fuller 1995, Leske *et al.* 1995, Heyes 1995). 1960’ lı yıllarda % 0,2 oranında görülen mantar tadı sorununun son yirmi yılda görülme sıklığı önemli ölçüde artmıştır (Fidan ve Anlı 2000, Peña-Neira *et al.* 2000).

Mantar tadı sorunu; mantar dokudan (meşeden) gelen koku ve tat, mantarın kendine özgü tat ve kokusu, küf tadı, 2,4,6-TCA yoluyla gelen tat ve yanlış mantar tadı olarak beş grup altında incelenebilmektedir. Gerçek mantar tadının şarapta iyileştirme özelliği yoktur. Bu nedenle mantarların tadına göre bir sınıflama yapılmamaktadır. Mantarların şarapta meydana getirdiği kayıplardan söz edilebilmektedir. Küflü mantarlar, küflü mahzen kokusu veya ağır hava kötü mantar kokularının oluşmasına neden olur. Bu tür mantarlar şarapları içilemez hale getirir (Aktan ve Kalkan 2000, Fidan ve Anlı 2000).

Tanner *et al.* (1981) mantar tadı sorunundan birinci derecede sorumlu olan bileşiğin 2,4,6-Trikloroanizol (2,4,6-TCA) olduğunu belirtmektedir. 2,4,6-TCA’ nın burun tarafından algılanma eşiği beyaz şaraplarda 4 ng/L (Amon *et al.* 1989) ile 10 ng/L (Tanner *et al.* 1981), kırmızı şaraplarda ise 40 ng/L (Silva *et al.* 2000) ile 50 ng/L (Tanner *et al.* 1981) arasındadır. 2,4,6- Trikloroanizol (2,4,6-TCA) molekülünün yapısı Şekil 2.2’ de görülmektedir.

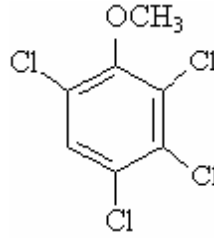


Şekil 2.2 2,4,6-Trikloroanizol

Mantar tadı sorununa; anizoller, guaiacol, geosmine, 2-methylisoborneol, pyrazinler içeren çeşitli kimyasal bileşenler ve 1-octen-3-one ya da 1-octen-3-ol gibi çeşitli alifatik bileşenler yol açmaktadır (Amon *et al.* 1989).

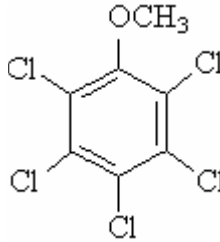
Anizollerden özellikle 2,4,6-Trikloroanizol (2,4,6-TCA) başta olmak üzere 2,3,4,6-Tetrakloroanizol (2,3,4,6-TeCA) ve Pentakloroanizol (PCA)'ün mantar tadı sorununun % 80'inden sorumlu olduğu belirlenmiştir (Butzke *et al.* 1999).

2,3,4,6-Tetrakloroanizol (2,3,4,6-TeCA) molekülünün yapısı Şekil 2.3' de görülmektedir.



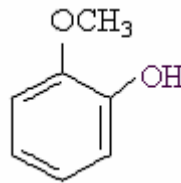
Şekil 2.3 2,3,4,6-Tetrakloroanizol

Pentakloroanizol (PCP) molekülünün yapısı Şekil 2.4' de görülmektedir.



Şekil 2.4 Pentakloroanizol

Guaiacol molekülünün yapısı Şekil 2.5' de görülmektedir.



Şekil 2.5 Guaiacol

1-octen-3-ol molekülünün yapısı Şekil 2.6' da görülmektedir.



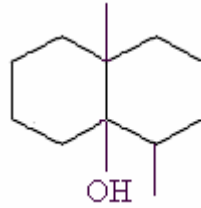
Şekil 2.6 1-octen-3-ol

1-octen-3-one molekülünün yapısı Şekil 2.7' de görülmektedir.



Şekil 2.7 1-octen-3-one

Geosmine molekülünün yapısı Şekil 2.8' de görülmektedir.



Şekil 2.8 Geosmine

Amon *et al.* (1989) mantar tadı sorunundan sorumlu olan diğer bileşiklerin kokularını [2,3,4,6-tetrachloroanisole (TeCA), küf; guaiacol, duman; 1-octen-3-ol ve 1-octen-3-one, yemeklik mantar; 2-methylisoborneol, toprak; geosmine, küf] tanımlamışlardır.

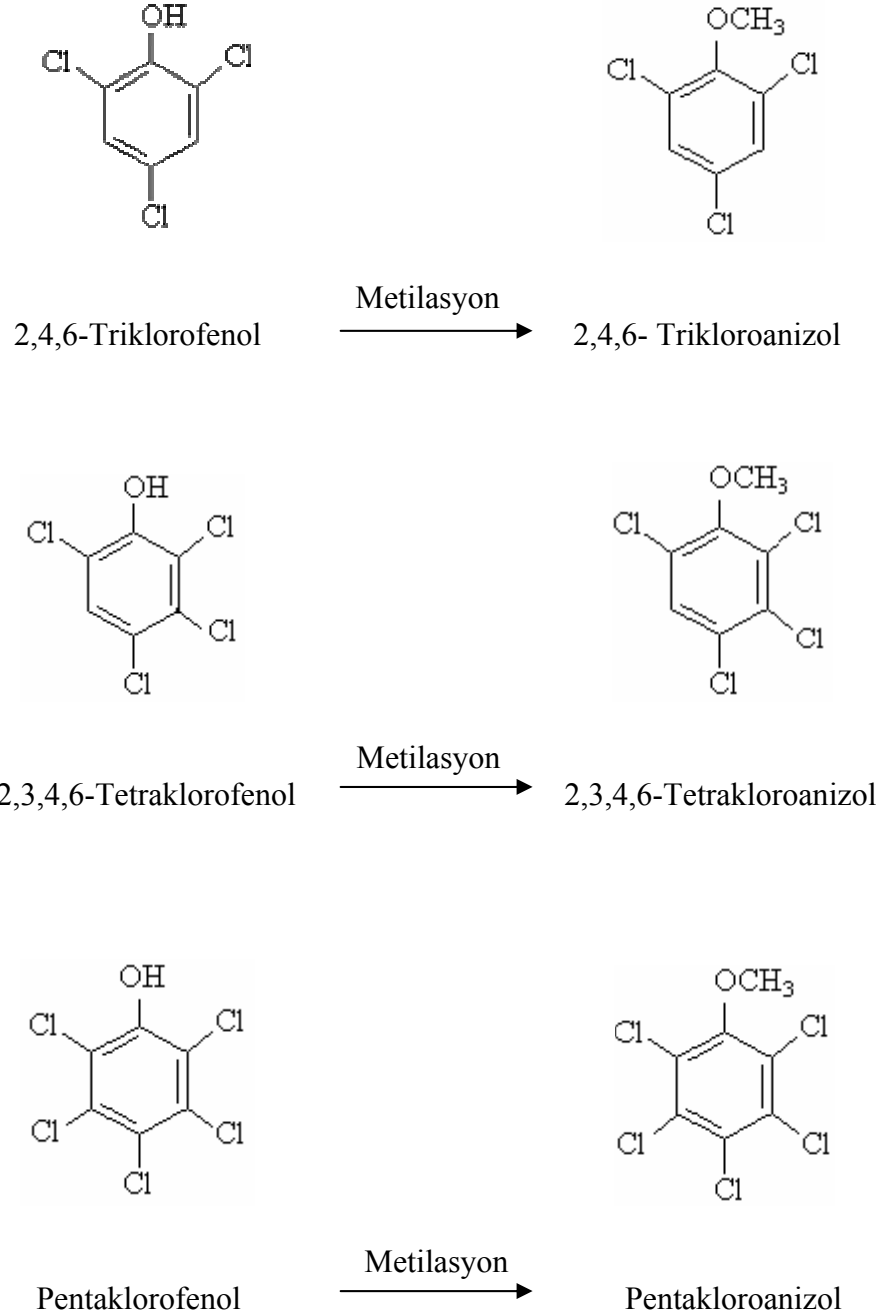
Guaiacol çok sayıda sorunlu şarapta saptanmış ve şarapta genellikle aromasının algılanma eşiğinin altında bir konsantrasyonda bulunmuştur. Bu nedenle, benzer aromaya sahip diğer bileşiklerle birlikte şarap aromasına etki etmektedir. Birlikte daha etkili oldukları için; birkaç komponentin bir arada meydana getirdiği etki, komponentlerin yalnız başlarına etkilerinin toplamından daha fazladır (Amon *et al.* 1989, Simpson 1990). Şarapta düşük miktardaki guaiacol mantar tıpadaki lignin degradasyonundan ya da şarabın yıllandırılmasında kullanılan ahşap fiçilerden

kaynaklanmaktadır (Simpson 1990). Duncan (1995)' a göre henüz bilinmeyen bazı bileşikler de şaraplarda mantar tadı sorununa katkıda bulunabilmektedir.

Farklı araştırmacılar tarafından şarapta 2,4,6-TCA' nın birikmesine neden olan faktörler, mantardaki ve dolayısıyla şaraptaki kloroanizoller ve klorofenoller araştırılmıştır (Amon *et al.* 1989, Simpson 1990, Lee and Simpson 1993, Bertrand and Barrios 1994, Sponholz and Munoz 1994). Poliklorofenolik biyositlerin mantar meşesi ormanında kullanılması; mantar tıpa prosesi sırasında klorinle beyazlatma; fiçuların hipokloritle yıkanması; ahşap paletlerde, ambalaj materyallerinde ve konteynırlarda klorofenolik biyositlerin kullanılması; şarap mahzenindeki çevresel kontaminasyonlar mantar tadı sorununun temel nedenleri olarak gösterilmektedir. Bu tip durumlarda şarap mahzenlerinde dezenfeksiyon için gerekli olan biyositlerin ya da deterjanların kullanımıyla fungal metilasyon oluşmakta ve böylece klorofenoller kloroanizollere dönüşmektedir. Mahzenlerden, mantar ve fiçulardan izole edilen küfler bir detoksifikasyon mekanizması gibi kloroanizol biyosentezi yoluyla toksik klorofenolleri kendi çevrelerinden uzaklaştırabilmektedirler (Ballschmitter *et al.* 1977, Navascués 1998).

2,4,6-TCA' nın biyosentezi ile ilgili oldukça az çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte, toksik olmayan anizollerin, farklı mikroorganizmaların bir kısım normal detoksifikasyon reaksiyonuna aracılık eden yüksek dereceden toksik klorofenol prekürsörlerinin (ön bileşen) o-metilasyonu ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. Klorofenollerin normal detoksifikasyon olayı gibi o-metilasyonunun çevresel önemi de çeşitli araştırmacılar tarafından araştırılmıştır (Cserjesi and Johnson 1972, Allard *et al.* 1987, Neilson *et al.* 1988). Halojenli fenol ve tiyofenollerrin metilasyonu ile anizol ve tiyoanizollerin oluşumunda *Rhodococcus*, *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* türleri rol oynamaktadır (Allard *et al.* 1987, Neilson *et al.* 1988). Bu reaksiyon prokaryotlarla sınırlanamaz. Nitekim, PCP' nin *Trichoderma virgatum* ile o-metilasyonu (Cserjesi and Johnson 1972); çeşitli küf türlerinin 2,3,4,6-TeCA üretimi (Gee and Peel 1974); çeşitli fenolik bileşenlerin, *Saccharomycopsis lipolytica* mayası (Drotar *et al.* 1987), *Euglena gracilis* (Drotar and Fall 1985) ve *Tetrahymena thermophila* (Drotar and Fall 1986) protozoanları ile S-metilasyonu saptanmıştır. Aynı zamanda, bazı küf türleri gıda ambalaj materyallerinden izole edilmiş (Tindale *et al.* 1989, Whitfield *et al.* 1991) ve

içme suyundan izole edilen küf ve Actinomyceteslerin 2,4,6-TCP' yi metilleyerek 2,4,6-TCA oluşturdukları belirlenmiştir (Nystrom *et al.* 1992). Poliklorofenollerin polikloroanizollere dönüşümü Şekil 2.9' da görülmektedir.



Şekil 2.9 Poliklorofenollerin, polikloroanizollere dönüşümü

Bazı *Rhodococcus* ve *Acinetobacter* türlerinde S-adenozil-L-metiyonin' e (SAM) bağlı metiltransferaz, anizol oluşumunda rol oynamaktadır (Neilson *et al.* 1988). Bununla birlikte, klorometanın ağaç çürüten bir küf olan *Phellinus pomaceus*' un anizol biyosentezi için metil vericisi (donör) olduğu saptanmıştır (Harper *et al.* 1989, McNally and Harper 1991, Álvarez-Rodríguez *et al.* 2002).

Bazı araştırmacılar 2,4,6-TCA' nın oluşumunu açıklayan başka kuramsal mekanizmalar da öne sürmüşlerdir. Tanner *et al.* (1981) 2,4,6-TCA' nın pentaklorofenol (PCP), tetraklorofenol (TeCP), heksaklorosikloheksan ya da heksaklorobenzen gibi yüksek klorinli bileşenlerin katabolizması sonucu meydana gelebileceğini; Maujean *et al.* (1985) günümüzde terk edilmiş bir yöntem olan mantarın hipokloritle yıkanmasında bu bileşiğin meydana geldiğini ve bu durumda mantarda bulunan mikroorganizmalar tarafından klorofenollerin metillenmiş olabileceğini; Neidleman and Geigert (1986) ise 2,4,6-TCA' nın fenol veya anizolden klorinasyonla sentezlenmiş olabileceğini belirtmişlerdir.

Mantar ekosistemi çok karmaşıktır. Üretim işleminin çeşitli basamaklarında mantarla ilgili mikrobiyal saptamalar yapmak zordur (Lee and Simpson 1993). Son zamanlara kadar 2,4,6-TCA oluşumundan sorumlu mikroorganizmaları tanımlayan ve biyokimyasal iz yolları ya da dönüşüm mekanizmalarını gösteren ayrıntılı çalışmalar yapılmamıştır. Bu durum, özellikle mantar bozulmalarından sorumlu olan filamentli küfler için geçerlidir. Bununla birlikte belirli bir küf türünün gelişmesi ile mantarda görülen anizoller arasında tam olarak bir ilişki yoktur (Álvarez-Rodríguez *et al.* 2002).

Buser *et al.* (1982), şaraptaki mantar tadı sorunuyla 2,4,6-TCA varlığı arasındaki ilişkiyi saptamıştır (Alzaga *et al.* 2003). Bununla birlikte, şarapta bütün 2,4,6-TCA varlığı mantardan kaynaklanmaz. Taşıma, depolama ve işleme de son ürünlerdeki 2,4,6-TCA konsantrasyonunu arttırabilmektedir (Pawliszyn 1997). Ayrıca Hervé (1999) mantardaki tüm 2,4,6-TCA varlığının şarabı kontamine etmeyebileceğini, çünkü toplam 2,4,6-TCA' nın sadece bir kısmının dağılabildiğini belirtmiştir (Alzaga *et al.* 2003).

1996 yılında Avrupa Mantar Konfederasyonu (European Cork Confederation) tarafından düzenlenen bir çalışma olan QUERCUS Projesinde mantardaki kusurların nedenleri ve kaynakları araştırılmıştır. 2,4,6-TCA' nın, mantar tadı sorunu olan

şarapların % 80' inden sorumlu olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, şaraplarda gerçek mantar sorunu ender görülmektedir. Her ne kadar sorunun tek sorumlusu mantar olarak görülse de mantar tadı sorununa neden olan bileşenlerin farklı kaynaklardan ortaya çıkabileceğini gösteren kanıtlar bulunmaktadır (Lee and Simpson 1993, Silva *et al.* 2000).

Maya, küf ve bakteri gibi çeşitli mikroorganizmalar 2,4,6-TCA oluşumunda yer almaktadır (Lee and Simpson 1993, Ribéreau-Gayon *et al.* 2000). Fungisit, biyosit ve herbisit kullanımı; pentaklorofenol (PCP), 2,3,4,6-tetraklorofenol (2,3,4,6-TeCP) ve 2,4,6-triklorofenol (2,4,6-TCP) içeren tahta koruyucuları (Lee ve Simpson 1993, Silva *et al.* 2000); mantar nakliyesinde kullanılan kartonlardan gelen kontaminasyonlar (Peña-Neira *et al.* 2000); mantar beyazlatma amacıyla hipoklorit kullanımı (Lee and Simpson 1993, Silva *et al.* 2000) şarapta 2,4,6-TCA varlığına sebep olmaktadır.

2,4,6-TCA' nın şaraptaki tat ve koku eşikleri oldukça düşüktür. Ancak, kusurun saptanması için gerekli konsantrasyon şarabın özelliklerine ve bileşimine bağlıdır (Alzaga *et al.* 2003). 2,4,6-TCA için algı eşiği 0,03-10,0 ng/L arasında (Evans *et al.* 1997, Ribéreau-Gayon *et al.* 1998) iken, şarapta kusur oluşturduğu düşünülen 2,4,6-TCA konsantrasyonu daha yüksek 10-40 ng/L arasındadır (Silva *et al.* 2000). Bu algı eşiği şarap tipi (beyaz, kırmızı vb) gibi çeşitli faktörler ve tadımcının algı kapasitesiyle yakından ilgilidir. Ayrıca, tadımcının bir günde yapabileceği organoleptik denemelerin sayısı sınırlıdır. Tüm bu faktörler 2,4,6-TCA' nın algı limiti konusunda belirsizliğe yol açar (Alzaga *et al.* 2003).

Şarapta ve mantarda 2,4,6-TCA varlığını saptamak için farklı analitik yöntemler geliştirilmiştir. Uçuculuğu nedeniyle 2,4,6-TCA' nın belirlenmesinde en etkili yöntem gaz kromatografisidir (GC). Seçici iyon modunda kütle spektrometre dedektörü (MSD) (Evans *et al.* 1997, Butzke *et al.* 1998) veya elektron yakalama dedektörü (ECD) (Riu *et al.* 2002) ile beraber kullanılmaktadır. Katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) çözücüsüz olması, maliyet verimi ve yüksek seciciliği nedeniyle geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olabilmektedir (Alzaga *et al.* 2003).

Şaraplarda 2,4,6-TCA' nın normal konsantrasyonlarının ng/L seviyelerinde olduğu göz önünde bulundurulduğunda, analitik saptamadan önce, ön konsantrasyon uygulamak

gerekmektedir. Çünkü gaz kromatografisi-elektron yakalama dedektörü (GC-ECD) bile yeterince hassas değildir. Distilasyon, çözücü ekstraksiyonu, eş zamanlı distilasyon-ekstraksiyon (SDE) veya Soxhlet gibi klasik yöntemler çok zaman almakta, büyük hacimde örnek ve çözücü gerektirmektedirler ve analiz kaybına eğilimlidirler (Buser *et al.* 1982, Amon *et al.* 1989, Peña-Neira *et al.* 2000, Riu *et al.* 2002). Bu nedenle, katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) bu tekniklere alternatif olarak görülmektedir. Çözücü gerektirmemekte, hazırlık süresi, çözücü kullanımı ve maliyetten kazandırmaktadır (Pawliszyn 1997, Riu *et al.* 2002).

Şaraplarda 2,4,6-TCA analizinde kütle spektrometre dedektörü (MSD) (Evans *et al.* 1997, Butzke *et al.* 1998) ya da ECD (Michel 1996) ile birleştirilmiş SPME-GC kullanan bazı uygulamalar sunan daha önceki çalışmalarda bulunan sonuçlar beyaz ve kırmızı şaraplarda 2,4,6-TCA konsantrasyonunu belirlemek için tepe boşluğu (headspace HS) SPME ve GC-ECD kullanan bir yöntemi geçerli kılmıştır (Riu *et al.* 2002).

Mantar tadı sorununu azaltmak için öncelikle bu soruna neden olan faktörleri ortadan kaldırmak gerekmektedir. Mantarın üretildiği ağaç hasat öncesi iyi kontrol edilmelidir. 2,4,6-TCA toprak ve küflü ortamlardan mantara bulaşabildiği için hasat sırasında gövdenin toprağa yakın olan kısmından ayrılan kabuklar ve kabuk üzerinde yeşilimsi tabakaların olduğu kısımlar ayrılmalı ve tıpa üretimi için kullanılmamalıdır. Ayrıca, mantar ağacı kabuk tabakalarının olgunlaştırılması sırasında *Streptomyces'* lerle kontamine olması engellenmelidir (Fidan ve Anlı 2000).

Mantar tıparları şaraba geçebilecek ve şarapta kontaminasyona neden olabilecek mikroorganizmalardan arındırmak için 115 °C' de 60 dakikalık bir sterilizasyon veya ışın uygulaması gibi yöntemler kullanılmaktadır. Son yıllarda mantar tadı sorunundan korunmak için geliştirilen bir sistem de DELFIN (Direct Environmental Load Focussed Inactivation) sistemidir. Bu sistem; bir çeşit mikro dalga fırın ortamında mantar tıpanın sterilizasyonuna dayanır. Üretimin ileri safhalarında mantar tıparlar hidrojen peroksit (H₂O₂) ve Ozon (O₃) uygulamasıyla (ROSA sterilizasyon süreci) mantar tadı sorunundan tamamen olmasa da oldukça önemli bir oranda arındırılmaktadır. TCA bu aşamalar sonucunda trilyonda 2-4 düzeyine indirgenmekte ve tat alma duyularıyla

algılanamamaktadır. Hidrojen peroksit ile uygulamasında temizleyici, beyazlatıcı ajanın asla aşırı ölçülerde kullanılmaması gerekmektedir. Aşırı hidrojen peroksit uygulaması şarapta oksidasyona sebep olmaktadır (Aktan ve Kalkan 2000, Alper 2005b).

Doksanlı yıllarda (1992-1996) “Avrupa Mantar Konfederasyonu” tarafından hayata geçirilen QUERCUS Projesi, altı ülke ve pek çok bağımsız laboratuvar katılımıyla başlatılmış ve şarapta karşılaşılan tat bozukluklarının giderilmesi konusunda daha kapsamlı araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bu projede, geçmiş çalışmaların ışığı altında yeni gelişmeler de tartışılmıştır. Özellikle 2,4,6-TCA, 2,3,4,6-TeCA ve PCA’ dan kaynaklanan sorunlar incelenip anlaşılır hale getirilmiştir. Proje; 2,4,6-TCA oluşumuna neden olan etkenlerin anlaşılmasını, ne şekilde şaraba geçtiklerinin belirlenmesini mümkün hale getirmiş ve bu sorunun çözülmesi ile ilgili olarak gerekli formülasyonun gerçekleşmesinde etken olmuştur. ICMP (The International Code of Cork Stopper Manufacturing Practice = Uluslararası Mantar Tıpa Üretim Yönetmeliği) bu amaçla oluşturulmuş bir dizi mantar tıpa üretim normlarını saptamış ve bu sayede tüm sektörde önemli bir kalite gelişimi sağlanmıştır. Bu yönetmelik, 1997’ de uluslararası bir referans olarak kabul edilmiştir ve devamlı geliştirilen dinamik bir değerdir. Proje, tüm yeni buluş ve teknolojik gelişmelerle yakın işbirliği içerisinde (Anonim 2006).

Çalışmalarla, mantar endüstrisinde klorin esaslı ürünler ile tıpanın yıkanması durdurulmuştur. ICMP mantar tıpa imalatının hiçbir aşamasında klorinin kullanılmasına izin vermemektedir. Mantar tıpanın yıkanmasında kullanılan tek ürün hidrojen peroksittir (Anonim 2006).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmada, şarap örneği olarak, 2003 hasat yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Kalecik Bağları' nda yetiştirilmiş olan Kalecik Karası üzüm çeşidinden Ankara Üniversitesi Şarap İşletmesi' nde üretilen şaraplar ve farklı yerel şarap üretici firmalardan sağlanan 50 değişik şarap örneği kullanılmıştır.

Mantar örneği olarak ise; farklı firmalardan sağlanmış olan, kullanım amaçlarına göre farklı tipte mantar tıplar kullanılmıştır. Mantar tıpa tipleri ve kullanılan örnek çeşitleri şu şekildedir:

- N. Naturel (doğal) mantar tıpa: N
- A. Aglomere (yığma) mantar tıpa: A1, A2, A3, A4
- T. 1+1 Teknik mantar tıpa: T1, T2
- P. Çok parçalı doğal mantar tıpa: P1, P2, P3
- C. Kolmate (dolgulu) mantar tıpa: C1, C2
- S. Şampanya ve köpüklü şaraplar için mantar tıpa: S
- K. Kapsüllü mantar tıpa: K1, K2
- M. Teknik mantar tıpa (disksiz): M1, M2

3.2 Yöntem

3.2.1 Mantarlanmış şaraplarda yapılan analizler

3.2.1.1 Duyusal analizler

En az 5 tadımcının katılımıyla sonuçların değerlendirilmesi ilkesi göz önüne alınarak, 5 tadımcı ile duyusal analiz yapılmıştır. Tadım sırasında ortamın aydınlık olması ve ortamda yabancı koku bulunmaması, uygun kadeh seçimi ve tadım zamanı gibi temel kurallara özen gösterilmiştir (Anlı ve Fidan 1998).

Farklı konsantrasyonlarda 2,4,6-TCA şarap ve su örneklerine eklenerek tadımcıların algı eşikleri belirlenmiştir.

3.2.1.2 Kimyasal analizler

3.2.1.2.1 Alkol tayini

Alkol miktarı tayini, Anonymous (1998)' a göre distilasyon yöntemiyle yapılmış olup sonuçlar % h/h olarak verilmiştir.

3.2.1.2.2 pH değeri tayini

pH değeri, Cyberscan 510 marka dijital pH-metre ile tayin edilmiştir.

3.2.1.2.3 Toplam asit tayini

Toplam asit tayini, Anonymous (1998)' a göre vakum altında karbondioksiti alınan şaraba, bromotimol mavisi belirteci kullanılarak, N/10' luk NaOH titre edilerek yapılmış olup sonuçlar, tartarik asit cinsinden, g/L olarak verilmiştir.

3.2.1.2.4 Uçar asit tayini

Uçar asit tayini, Anonymous (1998)' a göre buharlı damıtma ile yapılmış olup sonuçlar, asetik asit cinsinden, g/L olarak verilmiştir.

3.2.1.2.5 Toplam ve serbest SO₂ tayinleri

Her iki tayin de Anonymous (1998)' a göre yapılmış olup sonuçlar mg/L olarak verilmiştir.

3.2.1.2.6 Kuru madde tayini

Kuru madde tayini, Anonymous (1998)' a göre damıtma artığının piknometre ile yoğunluğu saptanıp özel kuru madde çizelgesinden yoğunluk karşılığı olan kuru madde değeri (g/L) bulunarak yapılmıştır.

3.2.1.2.7 Kül tayini

Kül tayini, Anonymous (1998)' a göre 525±25 °C' lik fırında yapılmış olup sonuçlar g/L olarak verilmiştir.

3.2.1.2.8 İndirgen şeker tayini

İndirgen şeker tayini, Anonymous (1998)' a göre, iyodimetrik olarak, N/18 Natiyosülfatla titre edilerek saptanmış olup sonuçlar g/L olarak verilmiştir.

3.2.1.3 Klorofenol ve kloroanizol tayinleri

3.2.1.3.1 Enstrümental analizler

Şaraplarda klorofenol ve kloroanizol analizleri Riu *et al.* (2002) tarafından yayınlanan yönteme göre yapılmıştır.

Araştırmada, Shimadzu GC-14 B gaz kromatografi cihazı ECD sistemi ile birlikte kullanılmıştır. GC' de GL-Science TC-Wax 60 m x 0,32 mm, 0,25 µm boyutlarındaki fused-silica kolon kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1,2 mL/dk hızla akan azot (N₂) gazı kullanılmıştır.

Enjektör sıcaklığı 250 °C; dedektör sıcaklığı 300 °C' dir. Kolon sıcaklık programı: Fırın sıcaklığı ilk 2 dk için 40 °C olup 4°C/dk hızla 150 °C' ye çıkarılmış, burada 1 dakika beklenip ardından 4°C/dk hızla 200 °C' ye çıkarılmış, bu sıcaklıkta da 1 dakika

beklenmiştir. Daha sonra 15°C/dk hızla 220 °C' ye çıkarılmış, bu sıcaklıkta 5 dakika beklenmiştir.

3.2.1.3.2 Kimyasallar ve ayıraçlar

2,4-dikloroanizol, 2,4,6-trikloroanizol, 2,3,4,6-tetrakloroanizol, pentakloroanizol, 2,4,6-triklorofenol, 2,3,4,6-tetraklorofenol ve pentaklorofenol standartları Sigma-Aldrich (Madrid, İspanya), metanol Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmıştır.

Her bir standarttan 1mg tartılıp 10 mL metanolde çözülerek 100 ppm' lik stok çözelti; stok çözeltilerden de 10 ppm ile 0.01 ppm aralığında kalibrasyon çözeltileri hazırlanarak 4 °C' de saklanmıştır.

Geri kazanım için kullanılan çözeltiler ise farklı miktarlardaki 2,4-dikloroanizol, 2,4,6-trikloroanizol, 2,3,4,6-tetrakloroanizol, pentakloroanizol, 2,4,6-triklorofenol, 2,3,4,6-tetraklorofenol ve pentaklorofenol standart çözeltilerinin şarap içerisine ilave edilmesiyle hazırlanmıştır.

3.2.1.3.3 SPME (Katı Faz Mikro Ekstraksiyon) işlemi

50 mL' lik şişelere 20 mL örnek konulup üzerine % 99,8 saflıkta NaCl' den toplam hacimdeki konsantrasyonu 5 M olacak şekilde eklenmiştir. Şişeler silikon kaplama PTFE kapak ile sıkıca kapatılmış ve 25°C sabit sıcaklıkta su banyosuna yerleştirilmiştir. SPME 300 rpm' de manyetik karıştırma ile yapılmış, örnek şişeleri 25°C' de 30 dk dengelenmek üzere bekletilmiştir. Katı faz mikro ekstraksiyon fibri, manuel holder ile şişelerin içine yerleştirilmiş, 30 dk fiberin örnek içindeki maddeleri absorblaması beklenmiştir. Ardından iğne kılıfı içine doğru çekilmiş ve SPME aleti şişeden uzaklaştırılmış, 250°C' de 3 dk termal desorbsiyon için gaz kromatografi cihazının enjeksiyon girişine yerleştirilmiştir.

3.2.2 Mantarlarda yapılan analizler

3.2.2.1 Klorofenol ve kloroanizol tayinleri

3.2.2.1.1 Enstrümental analizler

Mantar tıpalarda klorofenol ve kloroanizol analizleri Peña-Neira *et al.* (2000) tarafından yayınlanan yöntemine göre yapılmıştır.

Araştırmada, Shimadzu GC-14 B gaz kromatografi cihazı ECD sistemi ile birlikte kullanılmıştır. GC' de GL-Science TC-Wax 60 m x 0,32 mm, 0,25 µm boyutlarındaki fused-silica kolon kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1,2 mL/dk hızla akan azot (N₂) gazı kullanılmıştır.

Enjektör sıcaklığı 250 °C; dedektör sıcaklığı 300 °C' dir. Kolon sıcaklık programı : fırın sıcaklığı ilk 2 dk için 40 °C olup 4°C/dk hızla 150 °C' ye çıkarılmış, burada 1 dakika beklenip ardından 4°C/dk hızla 200 °C' ye çıkarılmış, bu sıcaklıkta da 1 dakika beklenmiştir. Daha sonra 15°C/dk hızla 220 °C' ye çıkarılmış, bu sıcaklıkta 5 dakika beklenmiştir.

3.2.2.1.2 Kimyasallar ve ayıraçlar

2,4,6-trikloroanizol, 2,3,4,6-tetrakloroanizol, pentakloroanizol, 2,4,6- triklorofenol ve pentaklorofenol standartları Sigma-Aldrich (Madrid, İspanya), metanol Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmıştır.

Her bir standarttan 1mg tartılıp 10 mL metanolde çözülerek 100 ppm' lik stok çözelti; stok çözeltiden de 10 ppm ile 0.01 ppm aralığında kalibrasyon çözeltileri hazırlanarak 4 °C' de saklanmıştır.

3.2.2.1.3 Örneklerin analize hazırlanması

Mantar tıplar teknik kullanım amaçlarına göre gruplandırılıp, her bir örnekten ortalama 550 mg civarında kesilerek 10 ml hekzan içerisinde 4°C’ de 24 saat bekletilmiş, süzildükten sonra gaz kromatografi cihazında analiz edilmişlerdir.

3.2.4 İstatistiksel değerlendirme

Çalışmada elde edilen sonuçlar tesadüf parsellerinde tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) tekniği ile değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılığın belirlenmesinde ‘Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi’ kullanılmıştır (Düzgüneş vd. 1987).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Duyusal analize katılan 5 tadımcının mantar tadı sorununu tanımlayabilmeleri için öncelikle farklı konsantrasyonlarda 2,4,6-TCA içeren su örnekleri tadımcılara koklatılmıştır. Ardından yine farklı konsantrasyonlarda 2,4,6-TCA içeren şarap örnekleri koklatılarak tadımcıların bu bileşiği tanımlayabildikleri sınır değerler, yani algı eşikleri belirlenmiştir. Tadımcıların su ve şarap örneklerindeki 2,4,6-TCA duyusal değerlendirme sonuçları Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’ de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Suda 2,4,6-TCA duyusal değerlendirme sonuçları

	1 ng/L	2 ng/L	3 ng/L	4 ng/L	6 ng/L	8 ng/L	10 ng/L
Tadımcı 1	-	-	-	+	+	+	+
Tadımcı 2	-	-	-	-	-	+	+
Tadımcı 3	-	-	-	-	-	-	+
Tadımcı 4	-	-	+	+	+	+	+
Tadımcı 5	-	-	-	-	+	+	+

Çizelge 4.2 Şarapta 2,4,6-TCA duyusal değerlendirme sonuçları

	4 ng/L	10 ng/L	20 ng/L	40 ng/L	50 ng/L	60 ng/L	80 ng/L
Tadımcı 1	-	-	-	+	+	+	+
Tadımcı 2	-	-	-	-	-	-	+
Tadımcı 3	-	-	-	-	-	-	+
Tadımcı 4	-	-	-	+	+	+	+
Tadımcı 5	-	-	-	-	-	+	+

Yerel şarap üretici firmalardan sağlanan 50 farklı şarap örneği mantar tadı sorunu açısından incelenmiştir. Bu şaraplardan 2’ sinde 2,4,6,-TCA duyusal olarak tespit edilmiş olup GC-ECD ile yapılan analizler sonucunda şarapların 42 ng/L ve 73 ng/L, bu şaraplara ait mantarların ise 51 ng/g ve 280 ng/g düzeyinde 2,4,6-TCA içerdikleri saptanmıştır.

Şarapların genel özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan kimyasal analizler Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3 Kimyasal analiz sonuçları

Analizler	Şarap 1	Şarap 2	Şarap 3
Alkol (%h/h)	12,8	12,8	12,7
pH	3,76	3,73	3,74
Toplam asit (g/L)*	4,8	4,9	4,85
Uçar asit (g/L)**	0,36	0,38	0,34
Toplam SO ₂ (mg/L)	66	71	68
Serbest SO ₂ (mg/L)	22	27	25
Kuru madde (g/L)	24,6	24,5	24,9
Kül (g/L)	2,01	2,23	2,10
İndirgen şeker (g/L)	1,4	1,4	1,4

* Tartarik asit cinsinden verilmiştir.

** Asetik asit cinsinden verilmiştir.

Şaraplarda belirlenen klorofenol ve kloroanizoller Çizelge 4.4’ de verilmiştir.

Çizelge 4.4 Şaraplarda klorofenol ve kloroanizol miktarları (ng/L)

	Şarap 1	Şarap 2	Şarap 3
2,4-dikloroanizol	0,83	2,00	1,00
2,4,6-trikloroanizol	2,50	2,53	2,62
2,3,4,6-tetrakloroanizol	2,80	2,51	6,67
Pentakloroanizol	2,50	2,53	2,62
2,4,6-triklorofenol	0,94	1,12	0,91
2,3,4,6-tetraklorofenol	3,15	4,05	-
pentaklorofenol	0,73	0,46	0,25

Mantarlarda belirlenen klorofenol ve kloroanizoller Çizelge 4.5’ de verilmiştir.

Çizelge 4.5 Mantarlarda klorofenol ve kloroanizol miktarları (ng/g)

Mantar	2,4,6-TCA	2,3,4,6-TeCA	PCA	2,4,6-TCP	PCP
N	2,50	1,15	2,50	0,04	-
A1	2,50	1,16	2,50	-	-
A2	2,49	1,13	2,50	-	-
A3	2,50	1,16	2,51	0,06	0,01
A4	2,50	1,19	2,50	0,09	-
T1	2,50	1,22	2,50	-	-
T2	2,49	1,15	2,50	-	-
P1	2,51	1,28	2,53	0,05	0,06
P2	2,50	1,21	2,49	-	-
P3	2,53	1,13	2,50	0,06	-
C1	2,51	1,15	2,51	-	0,01
C2	2,51	1,14	2,51	-	0,02
S	2,53	1,30	2,53	0,02	0,06
K1	2,51	1,16	2,51	-	0,02
K2	2,50	1,22	2,49	0,06	-
M1	2,51	1,16	2,51	0,07	0,01
M2	2,51	1,16	2,51	0,01	0,02

Şaraplarda belirlenen klorofenol ve kloroanizoller Duncan Testi' ne göre karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6' da verilmiştir.

Çizelge 4.6 Şaraplarda klorofenol ve kloroanizol miktarlarının (ng/L) istatistik gösterimi

	N	2,4-DCA		2,4,6-TCA		2,3,4,6-TeCA	
		Ort.	St hata	Ort.	St hata	Ort.	St hata
Şarap 1	3	0,83c	0,0203	2,51	0,0321	2,80b	0,0115
Şarap 2	3	2,00a	0,0173	2,53	0,0260	2,51c	0,0203
Şarap 3	3	0,99b	0,0145	2,62	0,0260	3,67a	0,0173

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen iki ortalama arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0.01$).

Çizelge 4.6 Şaraplarda klorofenol ve kloroanizol miktarlarının (ng/L) istatistik gösterimi (devam)

	N	PCA		2,4,6-TCP		PCP	
		Ort.	St hata	Ort.	St hata	Ort.	St hata
Şarap 1	3	2,50b	0,0145	0,94b	0,0173	0,73a	0,0115
Şarap 2	3	2,52b	0,0208	1,12a	0,0260	0,46b	0,0260
Şarap 3	3	2,62a	0,0260	0,91b	0,0203	0,25c	0,0203

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen iki ortalama arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.01$).

Mantarlarda belirlenen klorofenol ve kloroanizoller Duncan Testi' ne göre karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Çizelge 4.7 Mantarlarda klorofenol ve kloroanizol miktarlarının (ng/g) istatistik gösterimi

	N	2,4,6-TCA		2,3,4,6-TeCA		PCA	
		Ort.	St hata	Ort.	St hata	Ort.	St hata
N	3	2,50	0,0145	1,15cd	0,0115	2,50	0,0033
A1	3	2,50	0,0058	1,16cd	0,0153	2,50	0,0088
A2	3	2,49	0,0120	1,13d	0,0115	2,50	0,0058
A3	3	2,50	0,0115	1,16cd	0,0115	2,51	0,0120
A4	3	2,50	0,0203	1,19bc	0,0145	2,50	0,0115
T1	3	2,50	0,0058	1,22b	0,0115	2,50	0,0058
T2	3	2,49	0,0088	1,15cd	0,0145	2,50	0,0173
P1	3	2,51	0,0240	1,28a	0,0145	2,53	0,0088
P2	3	2,50	0,0115	1,21b	0,0145	2,49	0,0033
P3	3	2,53	0,0173	1,13d	0,0173	2,50	0,0033
C1	3	2,51	0,0145	1,15cd	0,0173	2,51	0,0058
C2	3	2,51	0,0145	1,14d	0,0173	2,51	0,0115
S	3	2,53	0,0115	1,30a	0,0115	2,53	0,0058
K1	3	2,51	0,0145	1,16cd	0,0115	2,51	0,0058

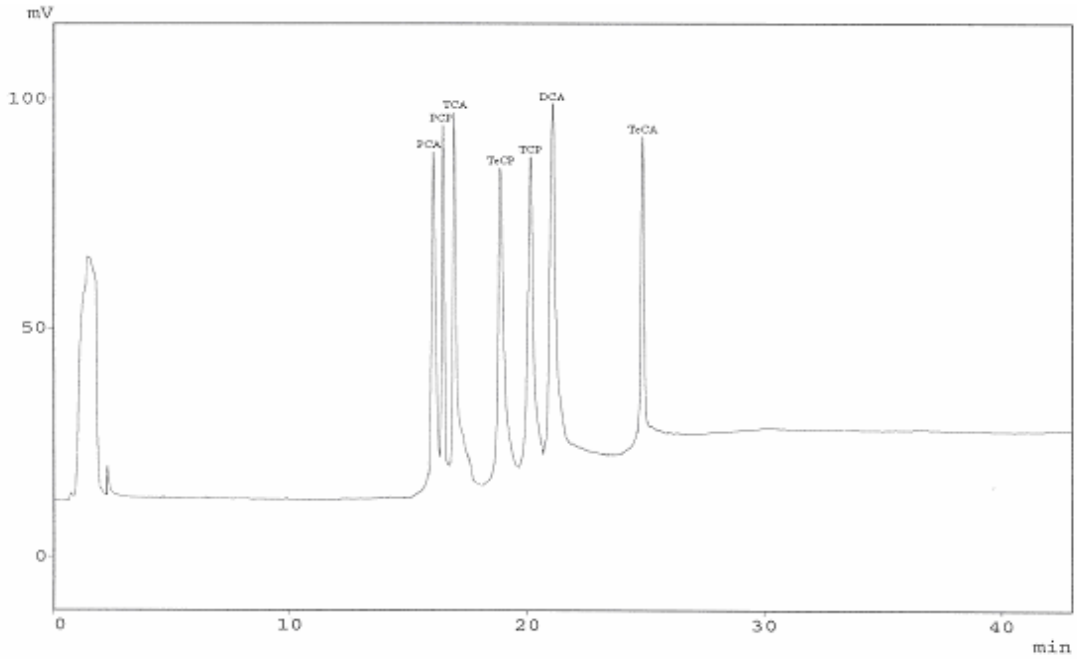
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen iki ortalama arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.01$).

Çizelge 4.7 Mantarlarda klorofenol ve kloroanizol miktarlarının (ng/g) istatistik gösterimi (devam)

	N	2,4,6-TCA		2,3,4,6-TeCA		PCA	
		Ort.	St hata	Ort.	St hata	Ort.	St hata
K2	3	2,50	0,0173	1,22b	0,0115	2,49	0,0088
M1	3	2,51	0,0088	1,16cd	0,0173	2,51	0,0115
M2	3	2,51	0,0145	1,16cd	0,0115	2,51	0,0058

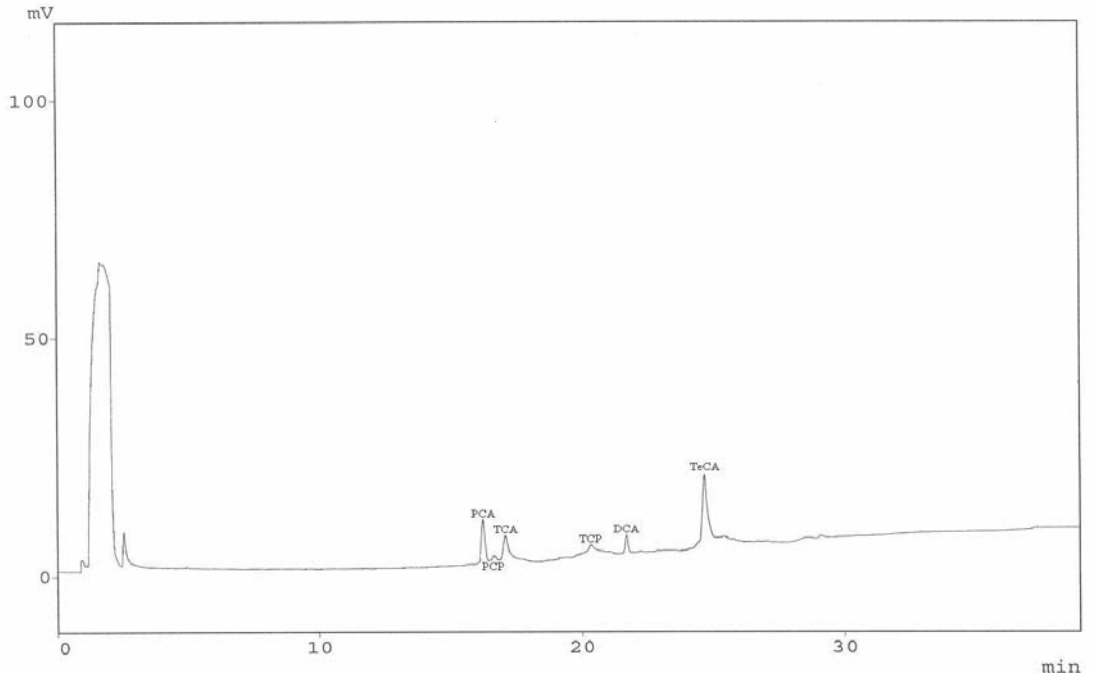
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen iki ortalama arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0.01$).

Standart klorofenol ve kloroanizollerin kromatogramı Şekil 4.1’ de verilmiştir.

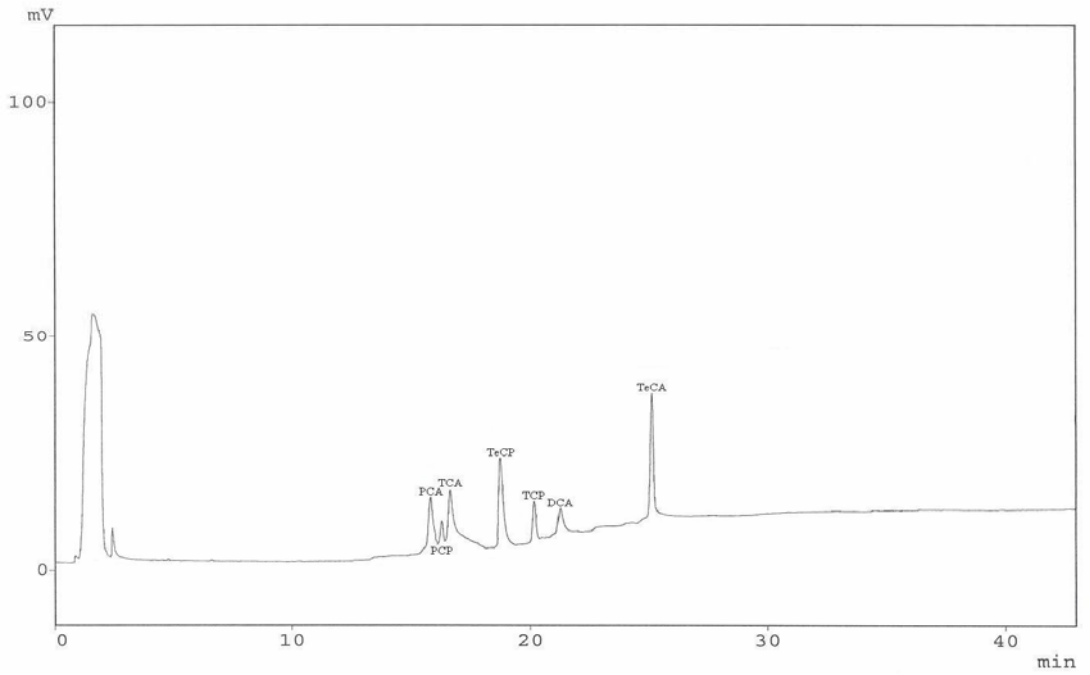


Şekil 4.1 Standart klorofenol ve kloroanizoller

Şarap örneklerinde klorofenol ve kloroanizollerini geri kazanım oranımız % 92 olup, Şarap 3’ te belirlenen klorofenol ve kloroanizollerin kromatogramı Şekil 4.2’ de, şarap 3’ e klorofenol ve kloroanizol ilavesiyle elde edilen kromatogram Şekil 4.3’ de verilmiştir.

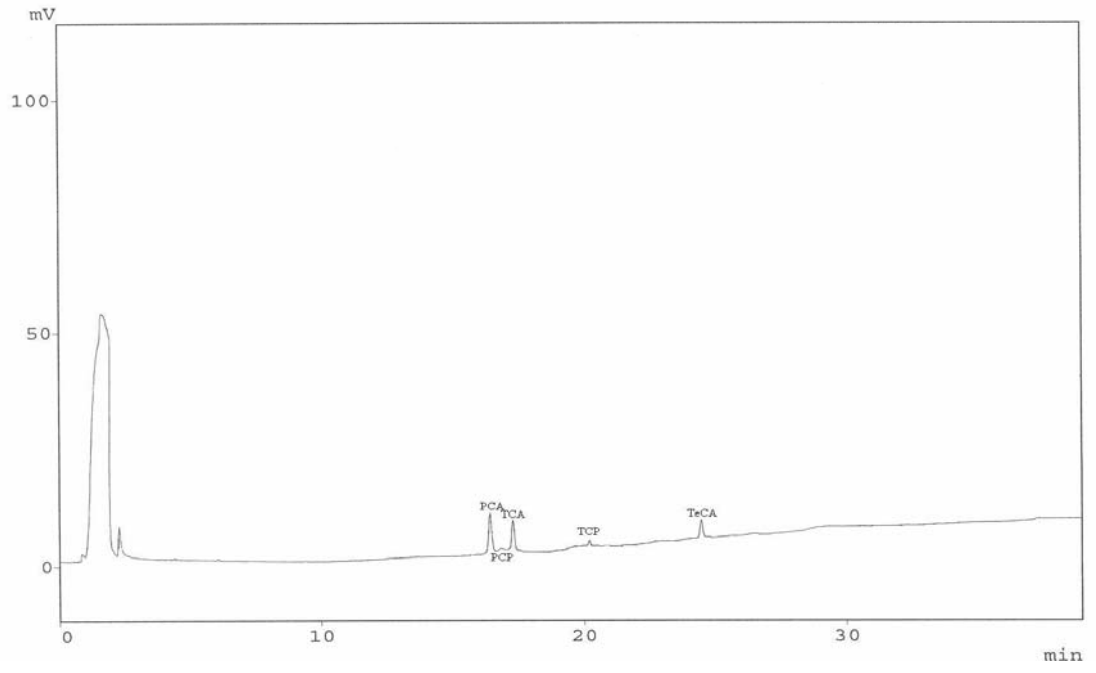


Şekil 4.2 Şarap 3' de belirlenen klorofenol ve kloroanizoller



Şekil 4.3 Şarap 3' e klorofenol ve kloroanizol ilavesiyle elde edilen kromatogram

P1 Mantarında belirlenen klorofenol ve kloroanizollerin kromatogramı Şekil 4.4' de verilmiştir.



Şekil 4.4 P1 Mantarında belirlenen klorofenol ve kloroanizoller

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmada, dünya şaraplarının % 2,5-5' ini etkileyerek, yıllık 10 milyar doları bulan ekonomik kayba neden olan mantar tadı sorunu ve bu soruna yol açan bileşikler çeşitli şarap ve mantar örneklerinde belirlenerek, sorunun Türkiye' deki boyutu ortaya konulmuştur. Ayrıca, şarap örneklerinin özelliklerini belirlemek için genel kimyasal analizler yapılmış ve elde edilen bulgular tamamlayıcı bilgi olarak verilmiştir (Çizelge 4.3).

Duyusal analiz sonuçları göz önünde bulundurulduğunda; tadımcıların 2,4,6-TCA' yı farklı değerlerden itibaren algılamaya başladıkları görülmektedir. Bu farklılığın tadımcıların algı kapasiteleriyle ilgili olduğu belirlenmiştir.

Su ve şarap örneğinde mantar tadı sorununun duysal olarak saptanabilmesi için gerekli konsantrasyonların farklılık gösterdiği Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2' deki duysal değerlendirme sonuçlarında görülmektedir. Tadımcılar algı kapasitelerine göre 2,4,6-TCA' yı suda 3 ng/L' den itibaren algılarken, şarapta 40 ng/L' den itibaren algılamaya başlamışlardır. Bu farklılık ise şarabın özellikleri ve bileşiminin sudan farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Şarap bünyesinde bulunan alkol, şeker, organik asitler, amino asitler, azotlu maddeler, renk maddeleri, enzimler, polipeptitler, polisakkaritler, anyonlar, katyonlar, esterler, kolloidal maddeler ve polifenoller mantar tadı sorununu baskılamakta; böylelikle, mantar tadı sorununun tadımcılar tarafından şarapta algılanma eşiği sudakinden daha yüksek olmaktadır. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da 2,4,6-TCA için algı eşiği 0,03-10,0 ng/L arasında (Ribéreau-Gayon *et al.* 1998, Evans *et al.* 1997) iken, şarapta algılanabilip kusur oluşturduğu düşünülen 2,4,6-TCA konsantrasyonunun daha yüksek olup 10-40 ng/L arasında değer gösterdiği saptanmıştır (Silva *et al.* 2000). Ayrıca 2,4,6-TCA' nın burunda algılanma eşiğinin beyaz şaraplarda 4 ng/L (Amon *et al.* 1989) ile 10 ng/L (Tanner *et al.* 1981), kırmızı şaraplarda ise 40 ng/L (Silva *et al.* 2000) ile 50 ng/L (Tanner *et al.* 1981) arasında olması da şarabın tipi (beyaz, kırmızı

vb.), özellikleri ve bileşiminin algı eşiği üzerindeki etkisini göstermektedir (Alzaga *et al.* 2003).

Ülkemizdeki yerel şarap üretici firmalardan sağlanan 50 farklı şarap örneği öncelikle duyu olarak analiz edilmiş, bu şarapların 2' sinde 2,4,6-TCA saptanması üzerine GC-ECD ile analiz edilmişlerdir. GC-ECD ile yapılan analizler sonucunda şarapların 42 ng/L ve 73 ng/L, bu şaraplara ait mantarların ise 51 ng/g ve 280 ng/g düzeyinde 2,4,6-TCA içerdikleri saptanmıştır. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda mantarların içerdikleri 2,4,6-TCA miktarları ile şaraplarda saptanan 2,4,6-TCA miktarları arasındaki farklılık dikkati çekmektedir. Nitekim, Hervé (1999) mantardaki tüm 2,4,6-TCA varlığının şarabı kontamine etmeyebileceğini, çünkü toplam 2,4,6-TCA'nın sadece bir kısmının dağılabildiğini belirtmiştir (Alzaga *et al.* 2003).

Kalecik karası şaraplarında GC-ECD ile elde edilen sonuçlarda; şarapların 2,4,6-TCA miktarlarının 2,51 ng/L, 2,53 ng/L ve 2,62 ng/L olduğu ve kırmızı şaraplarda mantar tadı sorununa yol açan 2,4,6-TCA'nın algılanma eşiğinin 40 ng/L (Silva *et al.* 2000) ile 50 ng/L (Tanner *et al.* 1981) arasında olduğu göz önünde bulundurulduğunda, şaraplardaki 2,4,6-TCA miktarlarının soruna yol açacak düzeyde olmadığı tespit edilmiştir. 2,4-DCA, 2,3,4,6-TeCA, PCA, 2,4,6-TCP ve PCP'nin ise şarapta mantar tadı sorununa yol açtıkları düzeyler üzerine karşılaştırmalı bir literatür bulunamamıştır.

Şarapların 2,4,6-TCA miktarları için yapılan varyans analizi sonucunda şarap çeşitleri ortalamaları arasındaki farklar istatistik olarak önemli olmamakla birlikte; 2,4-DCA, 2,3,4,6-TeCA ve PCP miktarları için yapılan varyans analizleri sonucunda, şarap çeşitleri ortalamaları arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Şaraplardaki 2,4-DCA miktarları 0,83-2,00 ng/L, 2,3,4,6-TeCA miktarları 2,51-3,67 ng/L ve PCP miktarları 0,25-0,73 ng/L aralığında değişmektedir.

Şarapların PCA miktarları için yapılan varyans analizi sonucunda, şarap 1 (2.50 ng/L) ve şarap 2 (2.52 ng/L) çeşitleri arasındaki farklılık istatistik olarak önemli olmamakla birlikte, şarap 3 (2,62 ng/L) ile istatistik olarak önemli farklılık göstermektedirler. 2,4,6-TCP miktarları için yapılan varyans analizi sonucunda ise, şarap 1 (0,94 ng/L) ve

şarap 3 (0,91 ng/L) çeşitleri arasındaki farklılık istatistik olarak önemli olmamakla birlikte, şarap 2 (1,12 ng/L) ile istatistik olarak önemli farklılık göstermektedirler.

Mantar çeşitlerinin 2,4,6-TCA ve PCA miktarları için yapılan varyans analizleri sonucunda, çeşitlerin ortalamaları arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmamıştır.

Mantar çeşitlerinin 2,3,4,6-TeCA miktarları için yapılan varyans analizleri sonucunda, N (1,15 ng/g), A1 (1,16 ng/g), A3(1,16 ng/g), T2 (1,15 ng/g), C1 (1,15 ng/g), K1 (1,16 ng/g), M1 (1,16 ng/g), M2(1,16 ng/g) mantarlarının ortalamaları arasındaki farklar istatistik olarak önemli olmamakla birlikte diğer mantar çeşitleri ortalamaları ile gösterdikleri farklar istatistik olarak önem taşımaktadır ($p<0.01$). Aynı şekilde A2 (1,13 ng/g) , P3(1,13 ng/g), C2(1,14 ng/g) mantarlarının ortalamaları arasındaki farklar; T1(1,22 ng/g) , P2 (1,21 ng/g), K2 (1,22 ng/g) mantarlarının ortalamaları arasındaki farklar; P1 (1,28 ng/g), S (1,3 ng/g) mantarlarının ortalamaları arasındaki farklar kendi aralarında istatistik olarak önem taşımamakla birlikte grup ortalamaları ve A4 (1,19 ng/g) mantarı arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuş ($p<0.01$), Duncan Testi sonuçları Çizelge 4.7' de ortalamalar üzerinde gösterilmiştir.

Sonuç olarak; mantar tadı sorununun, dünya şaraplarını olduğu gibi ülkemiz şaraplarını da tehdit eden bir sorun olduğu ortaya konulmuştur. Fakat ülkemizde şarap tüketicisinin bu konu üzerinde yeterince bilinçli olmaması ve konu üzerine henüz hiçbir araştırma yapılmamış olması sorunun ekonomik boyutuyla ilgili gerçekçi bir tahmin yapmayı olanaksız kılmaktadır. Giderek gelişen Türk şaraplarının kalitesini doğrudan etkileyen bu konunun önemi önümüzdeki yıllarda daha da iyi anlaşılacak, giderek artan mantar ithalatında doğru ve zamanında kontrol sistemi geliştirilerek, hatalı mantarların ülkede satışını engellemek mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

- Aktan, N. ve Kalkan, H. 2000. Şarap Teknolojisi. Kavaklıdere Eğitim Yayınları No: 4, 399 s., Ankara.
- Allard, A., Remberger, S.M. and Neilson, A.H. 1987. Bacterial o-methylation of halogen-substitued phenols. Applied and Environmental Microbiology, 53; 839-845.
- Alper, Ş. 2005a. Mantar (*Quercus suber* L.) hakkında. Firma bilgileri (basılmamış). Amorim S.A.-Sanater Mantar Grubu, İzmir.
- Alper, Ş. 2005b. Mantarın (*Quercus suber* L.), mantar tıpanın ve şarabın stoklanma ortamının önemi. Firma bilgileri (basılmamış). Amorim S.A.-Sanater Mantar Grubu, İzmir.
- Álvarez-Rodríguez, M.L., López-Ocaña, L., López-Coronado, J.M., Rodríguez, E., Martínez, M.J., Larriba, G. and Coque, J.J.R. 2002. Cork taint of wines: Role of the Filamentous fungi isolated from cork in the formation of 2,4,6-trichloroanisole by O-methylation of 2,4,6-trichlorophenol. Applied and Environmental Microbiology, 68; 5860-5869.
- Alzaga, R., Ortiz, L., Sánchez-Baeza, F., Pilar-Marco, M. and Bayona, J.M. 2003. Accurate determination of 2,4,6-trichloroanisole in wines at low parts per trillion by solid-phase microextraction followed by GC-ECD. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51; 3509-3514.
- Amon, J.M., Vandeppeer, J.M. and Simpson, R.F. 1989. Compounds responsible for cork taint in wine. The Australian and New Zealand Wine Industry Journal, 4; 62-69.
- AMORIM, 2003. Web sitesi. <http://www.amorimcork.com>. Erişim Tarihi: 25.10.2005.
- Anlı, R.E. ve Fidan, I. 1998. Şaraplar yarışıyor. Bilim ve Teknik (TUBİTAK), Şubat; 94-97.
- Anonim. 2006. Mantar tıpa kullanım tekniği. İlhan Sanater, İzmir.
- Anonymous. 1998. Cahier de travaux pratiques. Faculté d'Oenologie, 143 p., France.
- Ballschmitter, K., Unglen, C. and Heizmann, P. 1977. Bildung von chlorphenolen durch mikrobielle Umwandlung von Chlorbenzolen. Angewandte Chemie, 89; 680-681.
- Bertrand, A. ve Barrios, M.L. 1994. Contamination de bouchons par les produits de traitement de palettes de stockage des bouteilles. Revue Française d'Œnologie, 149; 29-32.
- Buser, H.R., Zanier, C. and Tanner, H. 1982. Identification of 2,4,6-trichloroanisole as a potent compound causing cork taint in wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 30; 359-362.
- Butzke, C.E., Evans, T.J. and Ebeler, S.E. 1999. Detection of cork taint in wine using automated solid-phase microextraction in combination with GC/MS-SIM. ACS Symposium Series, 714; 208-216.
- Cserjesi, A.J. and Johnson, E.L. 1972. Methylation of pentachlorophenol by *Trichoderma virgatum*. Canadian Journal of Microbiology, 18; 45-49.
- Drotar, A.M., Burton, G.A., Tavernier, Jr. J.E. and Fall, R. 1987. Wide-spread occurrence of bacterial thiol methyltransferases and the biogenic emission of methylated sulfur gases. Applied and Environmental Microbiology, 53; 1626-1631.
- Drotar, A.M. and Fall, R. 1985. Methylation of xenobiotic thiols by *Euglena*

- gracilis*: characterization of a cytoplasmic thiol methyltransferase. *Plant and Cell Physiology*, 26; 847-850.
- Drotar, A. M. and Fall, R. 1986. Characterization of a xenobiotic thiol methyltransferase and its role in detoxification in *Tetrahymena thermophila*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 25; 396-406.
- Duncan, B. 1995. Closure quality control at Southcorp Wines. In: Leske, P.A., and Eglinton, J.M. (eds). Proceedings ASVO enology seminar corks and closures. Australian Society of Viticulture and Enology, pp. 29-30, Adelaide.
- Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F. 1987. Araştırma ve Deneme Metodları, Ankara Üniversitesi Yayın No: 1021, 381 s., Ankara.
- Evans, T.J., Butzke, C.E. and Ebeler, S.E. 1997. Analysis of 2,4,6-trichloroanisole in wines using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 786; 293-298.
- Fidan, I. ve Anlı, R.E. 2000. Özel Şaraplar. Kavaklıdere Eğitim Yayınları No: 3, 175 s., Ankara.
- Fuller, P. 1995. Cork taint: Closing in on an industry problem. *The Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 10; 58-60.
- Gee, J.M. and Peel, J.L. 1974. Metabolism of 2,3,4,6-tetrachlorophenol by microorganisms from broiler house litter. *Journal of General Microbiology*, 85; 237-243.
- Harper, D.B., Hamilton, J.T.G., Kennedy, J.T. and McNally, K.J. 1989. Chloromethane, a novel methyl donor for biosynthesis of esters and anisoles in *Phellinus pomaceus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 55; 1981-1989.
- Hervé, E., Price, S., Burns, G. and Weber, P. 1999. P.ASEV Annual Meeting, Reno, NV.
- Heyes, N. 1995. The Australian cork supply industry: its resources and direction. In: Leske, P.A., and Eglinton, J.M. (eds). Proceedings ASVO enology seminar corks and closures. Australian Society of Viticulture and Enology, pp. 9-10, 28, Adelaide.
- Lee, T.H. and Simpson, R.F. 1993. Microbiology and chemistry of cork taints in wine, *Wine microbiology and biotechnology*. Harwood Academic Publishers, pp. 353-372, Philadelphia.
- Leske, P.A., Bruer, N.G.C. and Sefton, M.A. 1995. A review of cork sensory assessment methods. In: Leske, P.A., and Eglinton, J.M. (eds). Proceedings ASVO enology seminar corks and closures. Australian Society of Viticulture and Enology, pp. 24-26, Adelaide.
- Maujean, A., Millery, P. and Lemaesquier, H. 1985. Explications biochimiques et métaboliques de la confusion entre goût de bouchon et goût de moisi. *Revue Française d'Œnologie*, 99; 55-59.
- McNally, K.J. and Harper, D.B. 1991. Methylation of phenol by chloromethane in the fungus *Phellinus pomaceus*. *Journal of General Microbiology*, 137; 1029-1032.
- Michel, G. 1996. Dosage des chloroanisoles dans les vins par microextraction en phase solide (S.P.M.E.) et chromatographie gazeuse avec détection en capture d'électrons (CG/ECD 63 Ni). *La Revue des Oenologues*, 82; 24-26.
- Navascués, E. 1998. Origen y presencia en vinos alterados de compuestos organoclorados relacionados con el metabolismo microbiano. Thesis. Universidad Complutense de Madrid.

- Neidleman, S.L. and Geigert, J. 1986. Biohalogenations: principles, basic roles and applications. Ellis Harwood, Chichester, United Kingdom.
- Neilson, A.H., Lindgren, C., Hynning, P.A. and Remberger, M. 1988. Methylation of halogenated phenols and thiophenols by cell extracts of gram-positive and gram-negative bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 54; 524-530.
- Nystrom, A., Grimvall, A., Krantzrulcker, C., Savenhed, R. and Akerstrand, K. 1992. Drinking-water off-flavour caused by 2,4,6-trichloroanisole. *Water Science and Technology*, 25; 241-249.
- Pawliszyn, J. 1997. *Solid Phase Microextraction. Theory and Practice*. Wiley-VCH, New York.
- Peña-Neira, A., Fernández de Simón, B., García-Vallejo, M.C., Hernández, T., Cadahía, E. and Suarez, J.A. 2000. Presence of cork-taint responsible compounds in wines and their cork stoppers. *European Food Research and Technology*, 211; 257-261.
- Pereira, H. 1988. Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber*. *Wood Science and Technology*, 22; 211-218.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. 1998. *Traité d'Œnologie, 2-Chimie du vin. Stabilisation et traitements*. Dunod, 519 p., Paris.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. 2000. The Chemistry of Wine Stabilisation and Treatments. *Handbook of Enology*. Wiley, Vol. 2, Chapter 8, 209 p., Chichester.
- Riu, M., Mestres, M., Busto, O. and Guasch, J. 2002. Determination of 2,4,6-Trichloroanisole in wines by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-electron capture detection. *Journal of Chromatography A*, 977; 1-8.
- Silva, P.C., Figueiredo, M.J.J. and San Romão, M.V. 2000. Cork taint in wine: Scientific knowledge and public perception- a critical review. *Critical Reviews in Microbiology*, 26; 147-162.
- Simpson, R.F. 1990. Cork taint in wines, a review of the causes. *The Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 5; 286-296.
- Sponholz, W. R. and Muno, H. 1994. Der korkton - ein mikrobiologisches problem? *Die Wein-Wissenschaft*, 49; 17-22.
- Tanner, H., Zanier, C. and Buser, H. 1981. 2,4,6-Trichloroanisole: eine dominierende komponente des korkgeschmacks. *Schweizerische Zeitschrift für Obst und Weinbau*, 117; 97-103.
- Tindale, C.R., Whitfield, F.B., Levingston, S.D. and Nguyen, T.H.L. 1989. Fungi isolated from packaging materials: their role in the production of 2,4,6-trichloroanisole. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 49; 437-447.
- Vural Yiğit, 2003. Web sitesi. <http://www.hayyam.com>. Erişim Tarihi: 16.11.2004.
- Whitfield, F.B., Nguyen, T.H.L. and Tindale, C.R. 1991. Effect of relative humidity and incubation time on the O-methylation of chlorophenols in fiberboard by *Paecilomyces variotii*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 55; 19-26.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Didehan ÖZHAN

Doğum Yeri : İzmir

Doğum Tarihi : 12/05/1981

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Afyon Süleyman Demirel Fen Lisesi 1995-1997

İzmir Selma Yiğitalp Lisesi 1997-1998

Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği
Bölümü 1999-2003

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği
Anabilim Dalı 2003-2006

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Eyüp Tarım İlçe Müdürlüğü 2003- Devam