ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özhan SİNCAR

KALECİK KARASI ÜZÜMLERİNDEN KIRMIZI ŞARAP ÜRETİMİNDE SOĞUK MASERASYON UYGULAMASININ AROMA VE ANTOSİYANİN BİLEŞİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

ADANA, 2010

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KALECİK KARASI ÜZÜMLERİNDEN KIRMIZI ŞARAP ÜRETİMİNDE SOĞUK MASERASYON UYGULAMASININ AROMA VE ANTOSİYANİN BİLEŞİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Özhan SİNCAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 25/03/2010 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği İle Kabul Edilmiştir.

….....……	.....	….....……....
Doç. Dr. Serkan SELLİ	Prof. Dr. Ahmet CANBAŞ	Yrd. Doç. Dr. Asiye AKYILDIZ
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No :

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: ZF-2009-YL-53

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KALECİK KARASI ÜZÜMLERİNDEN KIRMIZI ŞARAP ÜRETİMİNDE SOĞUK MASERASYON UYGULAMASININ AROMA VE ANTOSİYANİN BİLEŞİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Özhan SİNCAR

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Doç. Dr. Serkan SELLİ
Yıl : 2010, Sayfa: 61
Jüri :Doç. Dr. Serkan SELLİ
:Prof. Dr. Ahmet CANBAŞ
:Yrd. Doç. Dr. Asiye AKYILDIZ

Bu çalışmada, Kalecik karası üzümlerinden elde edilen şarapların aroma maddeleri ve antosiyanin bileşimleri üzerine soğuk maserasyon (7 ºC' de 5 gün) uygulamasının etkisi incelenmiştir.

Şarapların aroma maddeleri diklorometan çözgeni kullanılarak sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniğiyle ekstrakte edilmiş ve GC-MS yardımıyla tanımlanmıştır. Antosiyanin bileşikleri analizlerinde zıt fazlı diyot array dedektörlü HPLC cihazı kullanılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre soğuk maserasyon uygulaması şarapların aroma maddeleri ve antosiyanin bileşimini artırmıştır. Aroma maddelerinin büyük bir kısmını alkoller ve ester bileşikleri, antosiyaninlerin ise malvidin-3-glikozit oluşturmuştur. Duyusal analiz sonuçlarına göre soğuk maserasyonla elde edilen Kalecik karası şarabı, tanığa göre panelistler tarafından daha çok tercih edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kalecik karası, şarap, aroma maddeleri, antosiyaninler, soğuk maserasyon

ABSTRACT

MSc THESIS

INFLUENCE OF THE PREFERMENTATIVE COLD MACERATION ON THE AROMA AND ANTHOCYANINS COMPOUNDS OF KALECIK KARASI WINES

Özhan SİNCAR

DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Serkan SELLİ
Year : 2010, Pages: 61
Jury : Assoc. Prof. Dr. Serkan SELLİ
: Prof. Dr. Ahmet CANBAŞ
: Asst. Prof. Dr. Asiye AKYILDIZ

In this study, the effect of prefermentative cold maceration (7 ºC- 5 days) on the aroma and anthocyanin compounds of the wines made from cv. Kalecik karası were investigated.

Aroma compounds were extracted with liquid-liquid extraction using dichloromethane solvent and then analysed by gas chromatography (GC)- mass spectrometry (MS). Anthocyanin compositions were detected by high performance liquid chromatography with diode array dedector (HPLC-DAD).

According to results, cold maceration technique increased the amount of total aroma and anthocyanin compounds. Alcohols and ester were the largest groups of aroma compounds. The majority of anthocyanins were found in glucoside form as malvidin. Based on sensory analysis, wine produced with cold maceration was the most preferred.

Key Words: cv. Kalecik karası, wine, aroma compounds, anthocyanins, cold maceration

TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma olanağı sağlayan, araştırmalarım ve tezimin yazımı süresince yol gösteren ve desteğini esirgemeyen danışmanım Sayın Doç. Dr. Serkan SELLİ' ye, jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren Sayın hocam Prof. Dr. Ahmet Canbaş'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Asiye AKYILDIZ' a, tezimin hazırlanması sırasında tüm aşamalarda bana yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Haşim Kelebek' e, Arş. Gör. Kemal ŞEN' e ve Kimya Mühendisi Sabit Ertan İĞDE' ye ve tüm öğrenim hayatım boyunca maddi-manevi büyük fedakârlıklar yaparak benim bu noktaya gelmemi sağlayan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ……..... I
ABSTRACT..... II
TEŞEKKÜR..... III
İÇİNDEKİLER..... IV
SİMGELER VE KISALTMALAR..... VI
ÇİZELGELER DİZİNİ..... VII
ŞEKİLLER DİZİNİ..... VIII
RESİMLER DİZİNİ..... IX
1. GİRİŞ……..... 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR..... 5
3. MATERYAL ve YÖNTEM..... 13
3. 1.Materyal..... 13
3.1.1. Hammadde..... 13
3.1.2. Araçlar ve Gereçler..... 13
3. 2. Yöntem..... 14
3.2.1. Şarap Denemeleri..... 14
3.2.1. Şıra ve Şaraplarda Yapılan Analizler..... 16
3.2.2.1. Toplam Asit Tayini..... 16
3.2.2.2. pH Tayini..... 16
3.2.2.3. Kurumadde Tayini..... 16
3.2.2.4. Kül Tayini..... 17
3.2.2.5. İndirgen Şeker Tayini..... 17
3.2.2.6. Toplam Fenol Bileşikleri (D 280) İndisi..... 17
3.2.2.7. Renk Yoğunluğu Tayini (RY)..... 17
3.2.2.8. Renk Tonu Tayini..... 17
3.2.2.9. Toplam Tanen Tayini..... 18
3.2.2.10. Yoğunluk Tayini..... 18
3.2.2.11. Alkol Tayini..... 18
3.2.2.12. Uçar Asit Tayini..... 18

3.2.2.13. Kükürt dioksit Tayini 18
3.2.3. Şaraplarda Antosiyaninlerin HPLC Yöntemi ile Tayini 19
3.2.3.1. Örneklerin Hazırlanması 19
3.2.3.2. Standart Maddeler 19
3.2.3.3. HPLC Koşulları 19
3.2.4.Aroma Maddelerinin Analizi ve Tanımlanması 20
3.2.4.1. GC-MS Koşulları 22
3.2.5.Duyusal Analizler 23
3.2.6. İstatistiksel Analizler 24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 25
4.1. Şıranın Genel Bileşimi 25
4.2. Alkol Fermantasyonunun Gidişi 26
4.3. Şarapların Genel Bileşimi 27
4.4. Soğuk Maserasyonun Aroma Maddeleri Üzerine Etkisi 29
4.5. Soğuk Maserasyonun Antosiyaninler Üzerine Etkisi 42
4.6. Şarapların Duyusal Özellikleri 47
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 49
KAYNAKLAR 51
ÖZGEÇMİŞ 63

SİMGELER VE KISALTMALAR

GC : Gaz Kromatografisi

MS : Kütle Spektrometresi

KAD : Koku Aktiflik Değeri

HPLC : Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 3.1.Üçgen test formu 22
Çizelge 3.2.Duyusal analiz formu 23
Çizelge 4.1. Kalecik karası üzümünden elde edilen sırasının genel bileşimi 24
Çizelge 4.2. Şarapların genel bileşimi 27
Çizelge 4.3. Şaraplardaki aroma maddeleri bileşimi 29
Çizelge 4.4. Kalecik karası şarabında bazı önemli aroma maddelerinin (KAD) koku aktiflik değerleri 38
Çizelge 4.5. Şaraplardaki antosiyanin bileşimi 43
Çizelge 4.6. Şarapların duyusal özellikleri 46

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 3.1. Kırmızı şarap üretiminde uygulanan işlemler 14
Şekil 4.1. Alkol fermanmantosyonun gidişi.....25
Şekil 4.2. Soğuk maserasyon şarabının GC'de elde edilen aroma maddeleri kromatogramı.....33
Şekil 4.3. Tanık şarabın GC'de elde edilen aroma maddeleri kromatogramı.....34
Şekil 4.4. Şaraplardaki antosiyaninlerin HPLC kromatogramı.....44
Şekil 4.5. Tanık ve soğuk maserasyon şaraplarındaki antosiyaninlerin % dağılımı..45
Şekil 4.6. Duyusal analiz sonuçlarının örümcek ağı diyagramı.....47

RESİMLER DİZİNİ **SAYFA**

Resim 3.1.Denemelerde kullanılan Kalecik karası üzümleri 12
Resim 3.2. Analizlerde kullanılan spektrofotometre.....13
Resim 3.3. Antosiyaninlerin tayininde kullanılan HPLC düzeneği 13
Resim 3.4. Aroma maddelerinin ekstraksiyonu 20
Resim 3.5. Vigreux düzeneğinde konsantrasyon işlemi.....20
Resim 3.6. Mikro konsantrasyon düzeneğinde konsantrasyon işlemi.....21
Resim 3.7. Analizlerde kullanılan Agilent GC-MS sistemi.....22

1. GİRİŞ

Şarap, bir kısmı veya tamamı ezilmiş taze üzümlerin veya üzüm şırasının etil alkol fermantasyonuna terk edilmesi sonucu elde edilen alkollü bir içkidir (Canbaş, 2007). Üzüm dışındaki diğer meyvelerden de şarap yapılmaktadır. Meyve şarapları elde edildikleri meyvenin adını alırlar. Örneğin elma şarabı, armut şarabı, portakal şarabı gibi (Canbaş, 1983a; Canbaş ve Ünal, 1994).

Üzümün bileşimi ile şarabın kalitesi arasında yakın bir ilişki vardır (Ribéreau -Gayon, 1982; Canbaş ve ark., 1995). Şarabın kalitesi öncelikle hammaddeye bağlıdır. Hammaddenin bileşimi üzüm çeşidi ve üzümün yetiştiği iklim koşulları ve yetiştirme tekniği ile ilişkilidir. Belli bir yörede ve iklim koşullarında yetiştirilen bir üzümün şaraplık değeri üzümler üzerinde yapılan analizlerle bir ölçüde belirlenebilir. Ancak, üzümlerin şaraplık değeri üzümlerin şaraba işlenmesiyle en iyi şekilde saptanır. Kalite üzerinde etkili olan bir diğer faktör işleme tekniğidir. Bir bölgede yetiştirilen herhangi bir üzümün nasıl işleneceği, uzun yıllar alan, teknolojik araştırmalar sonucunda belirlenir (Farkas, 1988; Freitas ve ark., 1998). Bu konuda yapılmış çeşitli araştırmalarda şaraplarda aroma yoğunluğu ve rengin iyileştirilmesinde soğuk maserasyonunun etkili bir teknik olduğu bildirilmiştir (Rotter, 2008). Kalite üzerinde etkili olan bir diğer faktör alkol fermantasyonundan sonra şarabın dinlendirme ve olgunlaştırma koşullarıdır. Bağcılığın ve şarapçılığın gelişmiş olduğu ülkelerde tüm bu faktörler dikkate alınarak, şaraplarda kaliteyi geliştirmek amacı ile çeşitli araştırmalar yapılmaktadır (Farkas, 1988; Freitas ve ark., 1998).

Üzümlerin bileşiminde bulunan maddelerin en önemlileri şekerler, organik asitler, fenol bileşikleri (antosiyaninler tanenler, vb.), aroma maddeleri, pektik maddeler, azotlu maddeler, mineral maddeler, vitaminler ve enzimlerdir (Farkas, 1988; Canbaş, 1992; Ribéreau -Gayon ve ark., 2000).

Aroma maddeleri şarapta kaliteyi oluşturan en önemli unsurlardan birisidir. Çeşitli maddelerden oluşan aroma, şarabın duyusal özelliklerini belirleyen önemli bir kalite ölçütüdür. Aroma maddelerinin en önemli özellikleri, çok az miktarlarda bile

duyusal olarak algılanmaları ve kalite üzerinde belirleyici rol oynamalarıdır (Selli, 2004).

Şaraplarda bugüne kadar 800' den fazla aroma maddesi bulunduğu bildirilmiştir (Ferreira ve ark., 1998). Bunlardan başlıcaları; esterler, yüksek alkoller, terpen bileşikleri, asitler, laktonlar, asetallller, uçucu fenoller, uçucu kükürtlü bileşikler ve uçucu azotlu bileşiklerdir (Etievant, 1991).

Kırmızı şaraplarda kalite üzerinde etkili olan en önemli bileşenlerden birisi de fenol bileşikleridir. Üzümlerde fenol bileşikleri miktarı üzüm çeşidine, üzümlerin olgunluk durumuna ve yetiştirildiği yörenin iklim koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Üzümlerde tane iriliği, kabuk kalınlığı ve çekirdek sayısı da fenol bileşikleri miktarı üzerinde etkili olmaktadır (Canbaş, 2007).

Fenol bileşikleri veya yaygın olarak kullanılan ismiyle polifenoller, yapılarında benzen halkası içeren maddelerdir (Canbaş, 2007; Delgado-Vargas ve ark., 2000). Bilindiği gibi hidroksi benzen, çoğunlukla 'fenol' olarak adlandırılır. Buna göre en basit fenol bileşiği yapısında bir hidroksil grubu içeren benzen, yani fenoldür. Diğer tüm fenol bileşikleri bundan türemişlerdir (Canbaş, 2007; Cemeroğlu, 2001).

Fenol bileşikleri, üzümlerin yapısında bulunan en önemli bileşikler arasında yer almaktadır. Bu bileşikler kırmızı ve beyaz şaraplar arasındaki bileşim farkından, kırmızı şaraplarda rengin oluşumundan ve tattaki burukluktan sorumludurlar (Brouillard ve Dangles, 1994; Glories 1999; Ribéreau-Gayon ve ark., 2000). Fenol bileşikleri arasında hem nicelik hem de nitelik bakımından en önemlileri antosiyaninler ve tanenlerdir (Canbaş, 1985; Ribéreau -Gayon ve Glories, 1986).

Antosiyaninler, kırmızı üzümlerin renk pigmentleridir ve meyve eti renkli bazı çeşitler (tenturier) dışında, üzümlerin yalnız kabuklarında bulunurlar (Ribéreau - Gayon, 1982; Canbaş, 2007; Deryaoğlu ve ark., 1997). Antosiyanin miktarı üzümlerin yetişme koşullarına (güneşlenme süresi, toprak, çeşit, uygulanan kültürel işlemler) göre değişir. Güneş ışığı, antosiyaninlerin sentezlenmesinde önemli rol oynar. Bu nedenle kabuktaki antosiyaninlerin miktarı yıllara göre değişim gösterebilir ve bu durum şarap kalitesinin yıllara göre farklılık göstermesine neden

olur (Mazza, 1995; Freitas ve ark., 1998; Deryaoğlu ve ark., 1997; Yokotsuka ve ark., 1999; Mateus ve ark. 2002).

Şıra ve şaraptaki fenol bileşikleri ile maserasyon sıcaklığı ve süresi arasında sıkı bir ilişki vardır. Sıcaklığın yükselmesi, renkli ve renksiz fenol bileşikleri miktarını arttırır. Sıcaklığın etkisiyle üzümün katı kısımlarındaki hücreler parçalanır ve bu hücrelerdeki maddelerin çözünmesi kolaylaşır (Canbaş, 1981; Kontek ve ark., 1998; Ribéreau -Gayon ve ark., 2000). Maserasyon süresi fenol bileşikleri miktarını belirleyen diğer önemli bir etkendir. Maserasyon süresi uzadıkça renksiz fenol bileşiklerinin çözünmesi devam eder, oysaki antosiyaninler ilk günlerde şıraya geçerek, diğer faktörlerin de etkisi altında, kısa bir süre sonra maksimuma ulaşır ve bu sürenin uzaması bu maddelerin miktarında azalmaya neden olur (Ribéreau - Gayon, 1982; Canbaş, 2007; Deryaoğlu ve ark., 1997).

Soğuk maserasyon, genel anlamıyla klasik cibre fermantasyonunun ilk dönemlerinin düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilmesi tekniğidir. Bazı çalışmalarda, 10 ile 14 güne kadar uzayan soğuk maserasyon süresi, genel olarak 4-15 ºC' ler arasında ve 2-7 gün sürdürülmüştür. Bu işlemi düşük sıcaklıkta yürütmekte amaç, bozulmaya neden olan mikroorganizmaların oluşturacağı riskleri azaltmak (heterofermantatif laktik asit bakterileri, *Acetobacter, Brettanomyces*, *Kloeckera* ve *Hanseniaspora* gibi) ve şaraplarda renk ve aroma kayıplarına neden olan enzimlerin faaliyetlerini sınırlamaktır. Bu teknikle yapılan şarapların, renk ve aroma yönünden klasik yöntemle elde edilene göre daha iyi olduğu bildirilmiştir (Girard ve ark., 2001; Rotter, 2008; Álvarez ve ark., 2009; Heredia ve ark., 2010).

Bu çalışma, ülkemizin önemli şaraplık çeşitlerinden Kalecik karası üzümlerinin kırmızı şaraba işlenmesi sırasında, fermantasyon öncesi uygulanan soğuk maserasyonun aroma maddeleri ve antosiyanin bileşikleri üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Aroma maddeleri gıdalarda, tüketici beğenisini ve tercihini belirlemede önemli bir yere sahiptir. Çeşitli maddelerden oluşan aroma, gıdaların duyusal özelliklerini belirleyen önemli bir kalite ölçütüdür. Aroma maddelerinin iz miktarlarda bulunması, bunların belirlenmesinde güvenilir ve çok duyarlı analiz yöntemlerinin kullanılmasını gerektirir. Aroma maddeleri analizlerinde ilk aşama, aroma maddelerinin üründen uygun bir ekstraksiyon yöntemiyle alınmasıdır. Daha sonra elde edilen çözgen ve aroma maddeleri karışımındaki çözgenin, hassas bir konsantrasyon yöntemiyle, yani aroma maddeleri kayıpları olmadan ekstraktan mümkün olduğunca uzaklaştırılmasıdır. Bu yüzden aroma maddelerinin analizinde özellikle ekstraksiyon yönteminin seçimi en hassas noktadır (Vila ve ark., 1999; Ebeler ve ark., 2000).

Alkollü içkilerdeki aroma maddelerinden bir kısmı hammaddeden ortama geçerken (birincil aroma maddeleri), bir kısmı fermantasyon sırasında (ikincil aroma maddeleri) oluşurlar. Fermantasyon sırasında oluşan aroma maddeleri üzerinde fermantasyonu gerçekleştiren maya ve fermantasyon ortamındaki koşullar etkili olur. Bu nedenle maya kaliteyi etkileyen en önemli unsurlardan biridir. Alkollü içkilerde maya tarafından oluşturulan aroma maddelerinden başlıcaları yüksek alkoller, esterler, organik asitler ve karbonil bileşikleridir. Bu maddelere ek olarak kükürtlü bileşikler, uçucu fenoller ve terpenler de önemlidir. Üzüm ve malt şırası gibi şekerli hammaddeler *Saccharomyces cerevisiae* tarafından fermantasyona uğratıldığında birincil ürün olarak etil alkol ve karbondioksit oluşur. Bu ürünler yanında miktar olarak, az fakat koku ve tat üzerinde, etkili, ikincil ürünler yani aroma maddeleri de ortaya çıkar. Aroma maddeleri genellikle uçucu olup, şarap, bira, viski gibi alkollü içkilerin kalitesi üzerinde belirleyici rol oynarlar (Etievant, 1991; Erten ve Canbaş, 2003).

Şarapta bulunan aroma maddeleri kaynaklarına göre dört grupta toplanırlar:

- Çeşit ile ilgili aroma maddeleri,
- Fermantasyondan önce oluşan aroma maddeleri,
- Fermantasyon sırasında oluşan aroma maddeleri ve

- Olgunlaşma sonrasında oluşan aroma maddeleri (Cabaroğlu, 1995).

Üzüm tanesindeki toplam fenol bileşiklerinin yaklaşık %30' u kabuklarda, % 5' i meyve etinde ve % 65' i çekirdeklerde bulunmaktadır (Sims ve Morris, 1985; Ough ve Amerine, 1988; Sims ve Bates, 1994; Deryaoğlu, 1997). Kırmızı şarapların renginden ve duyusal özelliklerinden sorumlu olan bu bileşenlerin şaraba geçmesini sağlamak amacıyla cibre fermantasyonu uygulanır. Cibre fermantasyonu sırasında bir yandan maserasyon, yani üzümün katı kısımlarında bulunan ve kırmızı şaraba kendine özgü nitelikleri kazandıracak olan fenol bileşiklerinin çözünmesi sağlanır, bir yandan da alkol fermantasyonu yürütülür (Ribéreau-Gayon ve Glories, 1986; Glories, 1999).

Çözünerek şıraya geçen fenol bileşiklerinin miktarı cibre fermantasyonunun sıcaklığı ve süresine, ortamda oluşan alkol ve kullanılan kükürt dioksit miktarına bağlı olarak değişim gösterir (Bakker, 1986; Deryaoğlu ve ark., 1997; Ribéreau-Gayon ve ark., 2000; Revilla ve González-Sanjozé, 2001; Gómez-Plaza ve ark., 2002; Netzel ve ark., 2003). Sıcaklığın yükselmesi, renkli ve renksiz fenol bileşikleri miktarını arttırır. Sıcaklığın etkisiyle üzümün katı kısımlarındaki hücreler parçalanır ve bu hücrelerdeki maddelerin çözünmesi kolaylaşır (Canbaş, 1981; Kontek ve ark., 1998; Ribéreau-Gayon ve ark., 2000). Cibre fermantasyonu süresi fenol bileşikleri miktarını belirleyen bir diğer önemli etkendir (Ribéreau-Gayon ve Glories, 1986; Canbaş, 2007; Deryaoğlu, 1997).

Tanenler üzümlerin kabuk, çekirdek ve çöplerinde bulunurlar (Ribéreau - Gayon, 1982; Soquet ve ark., 1998; Glories, 1999). Cibre fermantasyonu (maserasyon) ile şıraya geçen bu bileşikler, kırmızı şarapların kendilerine özgü tat ve aromalarının oluşumuna katkıda bulunurlar. Genç olarak tüketilecek kırmızı şaraplarda tanenlerin uygun miktarda bulunması dengeyi sağlarken, fazla olması tadın sert, buruk ve rahatsız edici olmasına neden olur (Canbaş, 1992; Glories, 1999).

Nagel ve Wulf (1979) Merlot ve Cabernet sauvignon üzümlerindeki hidroksisinnamik asit, tartarik asit esterleri, antosiyanin ve kateşin miktarındaki değişimi, cibre fermantasyonu ve şarabın yıllandırılması aşamalarında izlemişler ve sonuçta kafeol ve *p*-kumarol tartarat esterleri konsantrasyonunun fermantasyonun birinci gününde maksimuma ulaştığını ve daha sonra süreye bağlı olarak azaldığını,

antosiyanin içeriğinin ise fermantasyonun 3. gününde maksimuma ulaştığını ve sonraki günlerde düşmeye başladığını bildirmişlerdir.

Canbaş (1983b) kırmızı şarap yapımında uygulanan cibre fermantasyonunun, fenol bileşiklerinin daha fazla çözünmelerini sağlayarak, şıradaki miktarlarını arttırdığını ve siyah üzümlerin kabuklarındaki renkli fenol bileşiklerinin şıraya geçmesiyle kırmızı şarabın kendine özgü tat ve renginin oluştuğunu bildirmiştir.

Somers ve Ziemelis (1985) fenol bileşiklerinin serbest şıradan yapılan şaraplarda az, kabuk ve çekirdeklerin maserasyonu ile yapılan şaraplarda ise fazla olduğunu, ancak ekstrakte edilebilen fenol bileşiklerinin iklim ve bölge koşullarına göre önemli ölçüde değişebildiğini ve bunun kırmızı şarapların kalitesi açısından çok önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Sims ve Bates (1994) *Vitis rotundifolia* üzüm çeşidi üzerinde yaptıkları çalışmada farklı bağbozumu ve cibre fermantasyonu sürelerinin fenol bileşikleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla, optimum olgunluk ve aşırı olgunluk dönemi olmak üzere üç farklı dönemde üzümleri hasat etmişler ve 2, 4 ve 6 gün olmak üzere iki farklı cibre fermantasyonu süresi uygulamışlardır. Araştırma sonucunda, aşırı olgunluk döneminde hasat edilen üzümlerden elde edilen şaraplardaki toplam fenol bileşikleri, renk yoğunluğu, peonidin, malvidin, delfidin, siyanidin ve petunidin 3,5 diglikozit içeriklerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Deryaoğlu ve ark. (1997) Boğazkere ve Öküzgözü üzümleriyle yaptıkları çalışmada, bu üzümlerden elde edilen şaraplardaki fenol bileşikleri üzerine cibre fermantasyonu süresinin etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, cibre fermantasyonu süresi arttıkça şaraplarda toplam fenol bileşikleri ve antosiyanin miktarının arttığını, artışın Boğazkere şaraplarında, Öküzgözü şaraplarına göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, Boğazkere çeşidinden 1 günlük cibre fermantasyonu sonunda elde edilen şaraplardaki fenol bileşikleri miktarının, Öküzgözü çeşidinde 7 günlük cibre fermantasyonu sonunda elde edilen miktar ile aynı düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Deneme koşullarında en uygun cibre fermantasyonu süresinin Boğazkere için 1-2 gün, Öküzgözü için 5-6 gün olduğunu vurgulamışlardır.

Canbaş ve ark. (2000) Ankara yöresinin Kalecik karası, Elazığ yöresinin Öküzgözü ve Boğazkere üzümleri üzerinde yaptıkları çalışmada, kırmızı şarap yapımında uygulanan cibre fermantasyonu süresinin çeşide bağlı olarak değiştiğini ve Öküzgözü çeşidi için 6 gün, Boğazkere çeşidi için 3-6 gün ve Kalecik karası çeşidinde ise 6-10 günlük sürelerin uygun olacağını bildirmişlerdir.

Darias-Martin ve ark. (2000) *Vitis vinifera* türüne ait olan ve Kanarya adalarında yetişen Listan blanco üzümü üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, cibre fermantasyonunun şarabın duyusal özellikleri ve antioksidan karakterli fenol bileşiklerinin çözünürlüğü üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, cibre fermantasyonunun şarabın fenol bileşikleri içeriğinde önemli bir artışa neden olduğunu ve süre ve sıcaklığın artışına bağlı olarak flavonoidlerde ve diğer fenol bileşiklerinde önemli bir artış olduğunu bildirmişlerdir.

Gómez-Plaza ve ark. (2002) Monastrell üzüm çeşidini kullandıkları çalışmada, fenol bileşiklerinin çözünürlüğü üzerine SO_2 miktarı ve cibre fermantasyonu süresinin etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, cibre fermantasyonu süresi ve SO_2 miktarındaki artışa bağlı olarak antosiyanin ve toplam fenol miktarının ve renk yoğunluğunun arttığını bildirmişlerdir.

Kelebek (2003) Boğazkere üzümünün ve bu üzümden elde edilen şarabın antosiyanin bileşimini incelemiştir. Denemelerde antosiyaninlerin çözünmesini etkileyen değişken olarak cibre fermantasyonu süresini ele almıştır. Araştırmacı şarapta 5 adet antosiyanin-3-glikozit, 1 adet vitisin, 4 adet antosiyanin-3-asetil-glikozit ve 4 adet antosiyanin-3-p-kumaril-glikozit olmak üzere toplam 14 antosiyanin bileşiği tespit etmiş ve malvidin-3-glikozit ve bunun asetil ve kumaril türevlerinin en fazla bulunan (% 65.4) antosiyaninler olduklarını bildirmiştir.

Netzel ve ark. (2003) fenol bileşiklerinin çözünürlüğü üzerine cibre fermantasyonu süresinin, üzümlerin ısıtılarak işlenmesinin ve bu iki işlemin birlikte uygulanmasının etkilerini inceledikleri çalışmanın sonucunda üzümlerin ısıtılması ve cibre fermantasyonu işlemiyle birlikte uygulanması halinde şıraya geçen antosiyanin, flavan-3-ol, flavonol ve stilben bileşikleri miktarının fazla olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca üzüm ve şaraplarda hakim olan antosiyanin bileşiğinin

malvidin-3-monoglikozit olduğunu ve miktarının litrede 164 mg ile 403 mg arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Kelebek ve ark. (2007) HPLC-DAD-MS tekniğiyle Öküzgözü üzümlerine uygulanan maserasyon işleminin antosiyanin bileşimleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar Öküzgözü üzümlerinden pembe şarap yapmışlardır. Şaraplarda malvidin-3-glikozit'in baskın olduğunu ve maserasyon süresine bağlı olarak bu bileşiklerin miktarının arttığını bildirmişlerdir. Duyusal değerlendirme sonucunda 3 saatlik maserasyonla elde edilen şarap en çok beğenilmiştir.

Kelebek ve Canbaş (2008) Denizli yöresinde yetiştirilen siyah şaraplık Öküzgözü üzümünün işlenmesi sırasında uygulanan cibre fermantasyonu sürelerinin antosiyanin ve renk bileşimi üzerindeki etkileri incelemişlerdir. Antosiyanin bileşiklerinin analizleri zıt fazlı ve diode array dedektörlü HPLC cihazı ile yapılmış ve 5 adet glikozit, 5 adet asetil ve 4 adet kumaril yapısında olmak üzere 14 adet antosiyanin bileşiği belirlemişlerdir. Antosiyanin miktarının cibre fermantasyonunun 6. gününde en yüksek düzeye ulaştığını ve sonraki günlerde azaldığını bildirmişlerdir.

Kelebek ve ark. (2008) 1988-2008 yılları arasında Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik karası üzümlerinin ve bu üzümlerden elde edilen şarapların genel özelliklerini incelemişlerdir. Araştırmacılar yerli kırmızı şaraplık üzüm çeşitleri arasında en kaliteli kabul edilen Kalecik karasının koyu kırmızı renkli, dolgun ve taze kırmızı meyve, kiraz ve karamel aromaları içeren bir şarap verdiğini bildirmişlerdir.

Girard ve ark. (1996) üç ayrı maserasyon tekniğinin Pinot noir şaraplarının kimyasal bileşimi, duyusal özellikleri ve uçucu bileşenleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar ilk iki metotta, üzümlere 20 ve 30 ºC'de 7 günlük maserasyon uygulamışlardır. Üçüncü metotta ise üzümler parçalandıktan sonra serbest şıra alınmış ve üzümün katı kısımları 90 ºC' de 1 dk tutularak renk maddeleri ve tanenlerin çözünmesi hızlandırılmıştır. Daha sonra ısıtılan üzüm kitlesi preste sıkılarak şıra alınmış ve serbest şıra ile karıştırılmış 1-2 ºC' de bentonit ile tortu alma işlemi yapılmıştır. Tortusu alınan şıra 15 ºC' de soğukta fermantasyona terk edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, 15 ºC' deki maserasyonla üretilen şaraplar

diğer 2 yönteme göre 2 kat fazla antosiyanin miktarı ve en yoğun meyve aromasına sahip olduğu bildirilmiştir. Öte yandan şarapların toplam ester miktarının 15 ºC' de elde edilen şaraplarda diğer iki yönteme göre yaklaşık 4 katı fazla olduğu saptanmıştır.

Gerbaux ve ark. (2001) şarapların kalitesinde maserasyon sıcaklığının önemli bir kriter olduğunu ve sıcaklık yükseldikçe şaraplarda istenmeyen uçucu fenollerin miktarının arttığını bildirmişlerdir. Düşük sıcaklık uygulamalarının uçucu fenollerin oluşumundan sorumlu *Brettanomyces* mayalarının aktivitesini sınırladığını saptamışlardır.

Parenti ve ark. (2004) Sangiovese üzümlerine uygulanan soğuk maserasyon işleminin bu üzümlerden elde edilen şarapların kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, üzümlere – 5, 0 ve + 5 ºC' lerde azot ve CO_2 gazı altında 48 saat soğuk maserasyon uygulamışlardır. Araştırmacılar soğuk maserasyon uygulamasının şarapların renk, aroma ve duyusal özelliklerini zenginleştirdiğini vurgulamışlardır.

Salinas ve ark. (2005) Monastrell üzümlerinde 5,10 ve 15 ºC' de 8 saat süren soğuk maserasyon uygulamalarının aroma ve renk maddeleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. 15 ºC' de yapılan maserasyonda en yüksek antosiyanin ve terpenol miktarı saptanmıştır. 5 ºC' de yapılan maserasyonda ise esterlerin en fazla olduğu bulunmuştur. Maserasyon sıcaklığı düştükçe düşük antosiyanin bileşimi, daha az toplam polifenol indisi ve tanen miktarında azalma belirlenmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak düşük maserasyon sıcaklıklarının aroma maddelerinin artmasına ve fenol bileşiklerinin azalmasına yol açtığını vurgulamışlardır.

Radeka ve ark. (2007) iki yıl süre ile iki farklı maserasyon yönteminin Malvazija istarska şarapları içerisindeki serbest ve bağlı monoterpenler ve toplam fenollerin derişimine etkisini incelemişlerdir. Tanık olarak alınan şaraplarda maserasyon işlemi 20 ºC' de 10, 20 ve 30 saat süre ile yapılmıştır. Soğuk maserasyon uygulaması ise 7 ºC' de 10, 20 ve 30 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Soğuk maserasyon uygulanan şarapta toplam fenol bileşikleri çok düşük düzeyde bulunmuştur.

Syrah üzümlerinin şaraba işlenmesi sırasında uygulanan soğuk maserasyon işleminin, renk özellikleri ve antosiyanin bileşimleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Renk ölçümleri Tristimulus Kolorimetre ile antosiyaninler HPLC tekniği ile yapılmıştır. Araştırma sonucunda malvidin ve türevlerinin şaraplarda baskın antosiyanin olduğu ve soğuk maserasyon uygulamasının ilk iki günde bu bileşiklerin miktarını önemli düzeylerde artırdığı bulunmuştur. Öte yandan, Kolorimetre ile yapılan renk ölçümlerinde soğuk maserasyon işleminin şarapların rengini koyulaştırdığı bildirilmiştir (Gomez-Miguez ve ark., 2007).

Şaraplarda son yıllarda uygulanan soğuk maserasyon tekniği şarapların daha yoğun meyve aroması ve daha canlı bir renge sahip olması amacıyla uygulanmaktadır (Rotter, 2008).

Gil-Munoz ve ark. (2008) Syrah ve Cabernet Sauvignon şarapları üretiminde soğuk maserasyon tekniği uygulamışlardır. Soğuk maserasyon tekniğinde 2 farklı yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde üzümler 10 ºC' de 7 gün bekletilmiş daha sonra fermantasyon 22 ºC' de 8 gün devam etmiş ve 25 ºC' de sonlandırılmıştır. İkinci yöntemde ise üzümler başlangıçta -4ºC' de 12 saat ve daha sonra -10ºC' de Cabernet Sauvignon için 3 saat Syrah için 5 saat tutularak dondurulmuşlardır. Dondurulan üzümler parçalanıp sıkıldıktan sonra 25ºC saf maya kullanılarak 10 gün boyunca maserasyona bırakılmıştır. Bu iki denemenin kontrol şarabında üzümler 25ºC' de 10 gün maserasyona bırakıldıktan sonra sıkılarak fermantasyon tamamlanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre soğuk maserasyon tekniği Cabernet Sauvignon şaraplarında, dondurularak maserasyon ise Syrah şaraplarında en yüksek antosiyanin miktarına ulaşılmasına neden olmuştur.

Gil-Munoz ve ark. (2009) 2007 yılı Syrah ve Cabernet Sauvignon üzümlerinden elde edilen şarapların fenolik özellikleri üzerine fermantasyon öncesi soğuk maserasyon uygulamasının etkisini araştırmışlardır. Soğuk maserasyon tekniğinin özellikle Cabernet Sauvignon şarabında rengi oldukça zenginleştirdiği saptanmıştır. Araştırmacılar, her iki şarap renginin tanığa göre daha iyi olmasına rağmen, maserasyon sırasında uygulanan enzimlerin de rengi iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Öte yandan, Cabernet Sauvignon şaraplarının renk karakteristiklerinin Syrah'dan oldukça farklı olduğu bildirilmiştir.

Álvarez ve ark. (2009) Tempranillo üzümlerine uygulanan soğuk maserasyonun polifenol bileşikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Soğuk maserasyon işleminde 6-8 ºC ve 0-2 ºC' de sıcaklıklar uygulanmıştır. Araştırmacılar soğuk maserasyon uygulamasının polifenol bileşikleri, antosiyaninlerin kopigmantasyonunu ve tanenlerle polisakkaritler arasında gerçekleşen polimerizasyon reaksiyonlarını hızlandırdığını saptamışlardır.

Heredia ve ark. (2010) soğuk maserasyon uygulamasının Syrah şaraplarının renk ve fenolik bileşikleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar soğuk maserasyon uygulamasının şarapların antosiyanin ve flavonoller gibi renkli fenol bileşiklerini istatistiksel olarak önemli düzeylerde artırdığını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hammadde

Bu çalışmada 2008 yılı Kalecik karası (1000 kg) üzümleri kullanılmıştır (Resim 3.1.). Üzümler Ürgüp'ün Ortahisar kasabasından temin edilmiştir.



Resim 3.1. Denemelerde kullanılan Kalecik karası üzümleri

3.1.2. Araç ve Gereçler

Denemeler Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Pilot Şarap İşletmesinde gerçekleştirilmiştir.

Alkol fermantasyonu, silindir şeklindeki, 250 litrelik paslanmaz çelik tanklarda gerçekleştirilmiştir.

Kükürtleme işleminde % 5' lik sıvı SO_2 çözeltisinden yararlanılmıştır.

pH ölçümünde "WTW Inolab-Germany" marka pH-metre kullanılmıştır.

Presleme işlemi için Vaslin Bucher marka (Fransa) pnömatik pres kullanılmıştır.

Şarap şişesi olarak, 750 ml' lik yeşil renkli şişeler kullanılmış ve şişeler yarı otomatik bir kapama makinesinde mantar tapalarla kapatılmıştır.

Şıra ve şarapların berraklaştırılmasında “Kubota-Japan” marka soğutmalı santrifüj kullanılmıştır.

Spektrofotometrik ölçümlerde “Schimadzu UV-1201 (Japan)” marka spektrofotometreden yararlanılmıştır (Resim 3.2.)

Aroma maddelerinin analizinde HP 6890N (GC) gaz kromatografisi ve HP 5975B marka kütle spektroskopisi (MS) kullanılmıştır.

Şarapta antosiyanin bileşiklerinin belirlenmesinde çift pompalı, zıt fazlı, diod array dedektörlü, “Agilent 1100” (USA) marka yüksek basınçlı sıvı kromatografsi (HPLC) kullanılmıştır (Resim 3.3.).



Resim 3.2. Analizlerde kullanılan spektrofotometre



Resim 3.3. Antosiyaninlerin tayininde kullanılan HPLC düzeneği

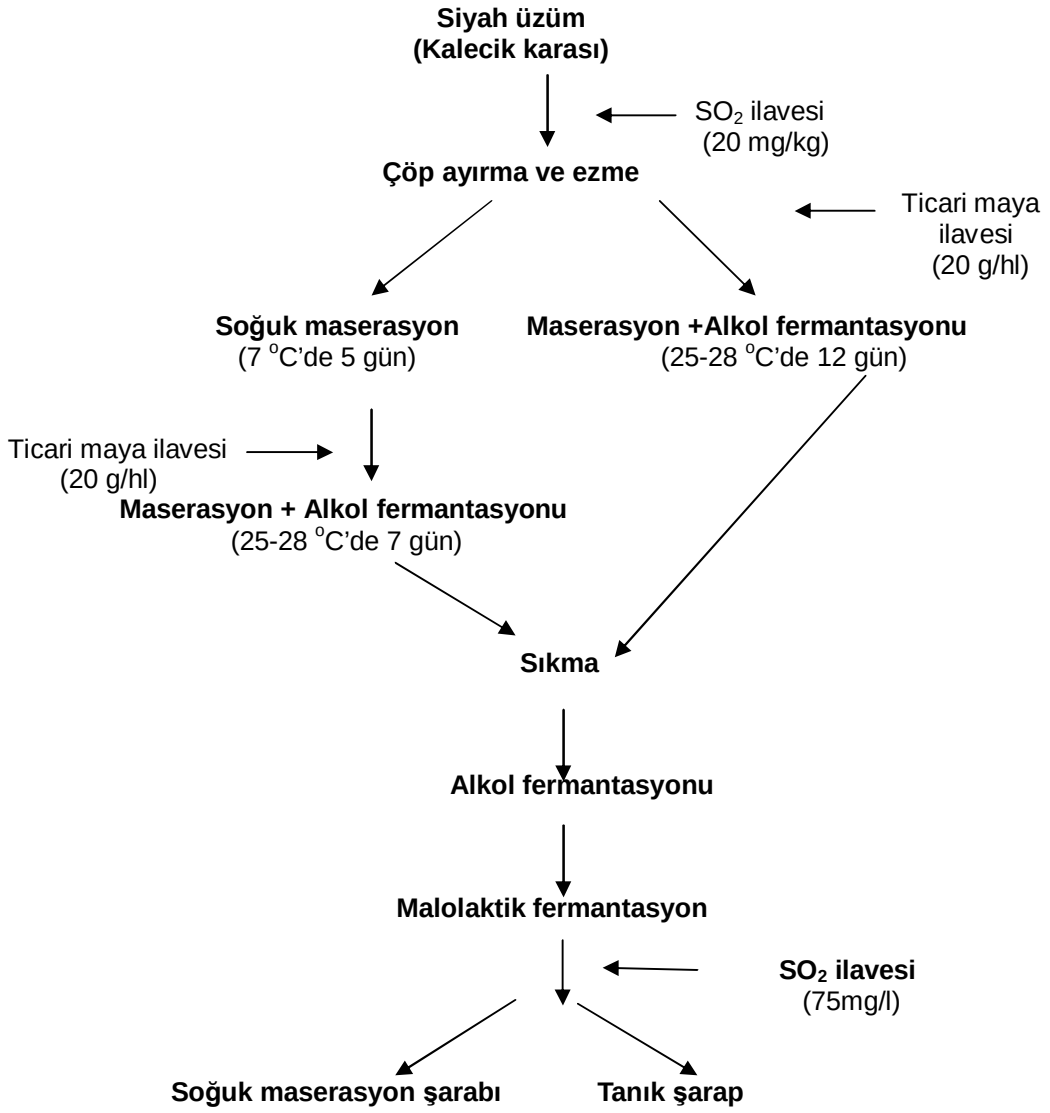
3.2. Yöntem

3.2.1. Şarap Denemeleri

Kırmızı şarap üretiminde uygulanan işlemler Şekil 3.1.’ de verilmiştir. Çalışmada değişken olarak cibre fermantasyonu sıcaklığı ele alınmış, aroma ve renk üzerinde etkili olacak diğer tüm faktörler sabit tutulmuştur.

Denemeler soğuk maserasyon uygulaması ve tanık olmak üzere 2 farklı şekilde kurulmuştur. Soğuk maserasyon tekniğinde başlangıçta üzümlere çöp ayırma ve ezme işlemi uygulanmış ve 20 mg/kg olacak şekilde SO_2 ilavesi yapılmıştır. Bundan sonra cibre 7ºC’ de 5 gün süre ile maserasyona terkedilmiştir. Soğuk maserasyon tamamlandıktan sonra, cibrenin sıcaklığı ısıtıcı yardımıyla kısa sürede

25ºC' ye çıkarılmış ve hektolitreye 20 g olacak şekilde ticari maya (Zymaflore F15 Bordeaux Fransa) ilave edilmiştir.



Şekil 3.1. Kırmızı şarap üretiminde uygulanan işlemler

Bu sıcaklıkta cibre 7 gün daha maserasyona terk edilmiştir. Bu süre içerisinde alkol fermantasyonu da başlamıştır. Bu sürenin sonunda cibre sıkılmış ve alkol fermantasyonu tamamlanmıştır. Elde edilen şarap daha sonra malolaktik fermantasyona bırakılmıştır. Malolaktik fermantasyonun kontrolü kağıt kromatografisi yardımıyla yapılmıştır. Malolaktik fermantasyonu tamamlandıktan sonra şaraplar kuvvetli bir şekilde (75 mg/l) kükürtlenmiş, durultulmuş, süzülmüş ve

şişelenmiştir. Şaraplar, analizleri yapılıncaya kadar 13-14 ºC' lik dinlendirme mahzeninde muhafaza edilmiştir.

Tanıkta ise çöp ayırma ezme işleminden sonra cibreye ticari maya ilave edilmiş ve ortalama 25 ^{o}C 12 gün maserasyon uygulanmıştır. Diğer işlemler soğuk maserasyonla aynı olacak şekilde uygulanmıştır.

3.2.2. Şıra ve Şaraplarda Yapılan Analizler

Şıralarda toplam asitlik, pH (Ough ve Amerine, 1988; Anon, 1990), indirgen şeker (Anon., 1990), kurumadde (Akman, 1962), toplam fenol bileşikleri, antosiyanin, renk yoğunluğu ve renk tonu (Canbaş, 1983a; Ough ve Amerine, 1988; Ribéreau-Gayon ve ark. 2000), şaraplarda ise şıralardaki bu analizlere ek olarak yoğunluk, alkol (Fidan, 1975), toplam tanen, uçar asit (Anon., 1990) serbest ve toplam SO_2 analizleri (Ough ve Amerine, 1988; Anon., 1990) yapılmıştır.

3.2.2.1. Toplam Asit Tayini

Toplam asit tayini, üzüm şırasına N/10'luk NaOH ile pH değeri 8,2 olana kadar titre edilmek suretiyle belirlenmiştir. Sonuçlar g/l olarak tartarik asit cinsinden verilmiştir (Ough ve Amerine, 1988).

3.2.2.2. pH Tayini

Üzüm şırasının ve şarabın pH'sı doğrudan cam elektrotlu pH-metre (WTW Inolab-Germany) kullanılarak ölçülmüştür (Jackson ve Schuster, 1987).

3.2.2.3. Kuru Madde Tayini

Kuru madde tayininde, 10 ml şarap kurutma kaplarına alınarak 100 ± 5 °C' de etüvde kurutulmuş ve yapılan tartımlar sonucunda g/l olarak kuru madde bulunmuştur (Akman, 1962).

3.2.2.4. Kül Tayini

Kül tayini, 525-550 °C'de kül fırınında yapılmış ve sonuçlar g/l olarak verilmiştir (Ough ve Amerine, 1988).

3.2.2.5. İndirgen Şeker Tayini

İndirgen şeker tayini, Carrez çözeltileri ile rengi giderilen ve durultulan örneklerde Luff-Schoorl yöntemine göre yapılmıştır (Anon, 1990).

3.2.2.6. Toplam Fenol Bileşikleri (D280) İndisi

Örnekler 1/100 oranında sulandırılmış ve spektrofotometrede 280 nm dalga boyundaki optik yoğunluğu saptanmıştır (Canbaş, 2007).

3.2.2.7. Renk Yoğunluğu Tayini (RY)

Örneklerin, 1 mm genişliğindeki küvetlerde, 420 nm, 520 nm ve 620 nm'lerde saf suya karşı absorbansları belirlenmiş ve bunların toplamı ($OY_{420}+OY_{520}+OY_{620}$) renk yoğunluğu (RY) olarak verilmiştir (Canbaş, 1983a; Ribéreau-Gayon ve ark., 2000).

3.2.2.8. Renk Tonu Tayini

Örneklerin, 1 mm genişliğindeki küvetlerde, 420 nm ve 520 nm'lerde saf suya karşı absorbansları belirlenmiş ve bunların oranları (OY_{420}/OY_{520}) renk tonu olarak verilmiştir (Canbaş, 1983a; Ribéreau-Gayon ve ark., 2000).

3.2.2.9. Toplam Tanen Tayini

Tanen tayininde, bu bileşikleri oluşturan polimer yapılı flavonollerden oluşan zincirin, asit ortamda, sıcaklığın etkisiyle parçalanması ve okside olarak siyanidinleri oluşturmasını temel alan yöntem kullanılmıştır. Asit ortamda ısıtılan örnek ile ısıtılmayan örnek arasındaki optik yoğunluk farkı 19,33 ile çarpılarak sonuçlar g/l olarak verilmiştir (Ribéreau-Gayon ve ark., 2000).

3.2.2.10. Yoğunluk Tayini

Yoğunluk, 20 ^{o}C'de piknometre ile tayin edilmiştir (Fidan, 1975).

3.2.2.11. Alkol Tayini

Alkol miktarı, damıtma sonucu elde edilen alkollü sıvının piknometre ile bulunan yoğunluğundan, özel çizelgeler yardımıyla, önce ağırlık (g/l) sonra da hacim (%h/h) olarak bulunmuştur (Fidan, 1975).

3.2.2.12. Uçar Asit Tayini

Buharlı damıtma yöntemine göre yapılmıştır ve sonuçlar g/l olarak asetik asit cinsinden verilmiştir (Anon., 1990).

3.2.2.13. Kükürtdioksit Tayini

Şaraplarda bulunan toplam ve serbest kükürt dioksit, taşıyıcı azot gazı yardımı ile hidrojen peroksit çözeltisinde toplanmış ve N/100'lük NaOH ile titre edilmek suretiyle belirlenmiştir (Ough ve Amerine, 1988; Anon., 1990).

3.2.3. Şaraplarda Antosiyaninlerin HPLC Yöntemi ile Tayini

3.2.3.1. Örneklerin Hazırlanması

Kalecik karası üzümünden elde edilen şaraptan 1 ml alınarak 6 ml'lik LC-18 Superclean (Supelco) kartuştan geçirilmiş ve böylece antosiyaninlerin reçineye bağlanmaları sağlanmıştır. Kartuştan 18 ml H_2O-HCl (99.9/0.1; h/h) çözeltisi geçirilerek ortamdaki şekerler uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kartuştan 6 ml H_2O-MeOH-HCl (35/65/0.1; h/h/h) çözeltisi geçirilerek reçineye bağlanan antosiyaninler çözeltiye alınmıştır. Elde edilen antosiyanin çözeltisi vakum altında döner evaporatörde 25 ^oC'de kuruyuncaya kadar konsantre edilmiştir. Bu işlem sonunda evaporatör cidarında yapışmış halde bulunan antosiyaninlerin üzerine H_2O-HCl (99.9/0.1; h/h) çözeltisinden 1 ml ilave edilerek, antosiyaninler stabilize edilmiş ve bu çözelti HPLC' ye enjekte edilerek antosiyanin bileşimleri belirlenmiştir (Mazza, ve ark., 1999; Revilla ve ark., 1998).

3.2.3.2. Standart Maddeler

HPLC analizinde antosiyaninlerin tamamlanması ve miktarlarının belirlenmesi amacıyla malvidin-3-glikozit (Oenin chloride, Extrasynthese, Lyon, France) standardı kullanılmıştır.

HPLC analizinde kullanılan tüm çözeltiler ve standart maddeler önceden Gelman/Pall Life Sciences (Ann Arbor, MI) Acrodisc® 13 mm CR PTFE 0.45 µm membran filtreden geçirilmiştir.

3.2.3.3. HPLC Koşulları

Şaraptaki antosiyaninlerin belirlenmesinde çift pompalı, çift dalga boylu ve diod array dedektörlü, "Agilent 1100" (USA) marka HPLC kullanılmıştır.

Analizlerde kullanılacak HPLC'nin özellikleri aşağıdaki gibidir:

- Kullanılacak kolon : XTerra^{TM} marka RP_{18} (4.6 x 100 mm x 3.5 µm)
- Enjekte edilecek miktar: 20 µ

- Mobil faz : A= % 5 Formik asit + % 95 Su
  B= % 5 Formik asit + % 95 Metil alkol
- Akış hızı: 1 ml/dak
- Dalga boyu: 520 nm
- Dedektör tipi: Diod array dedektör

3.2.4. Aroma Maddelerinin Analizi ve Tanımlanması

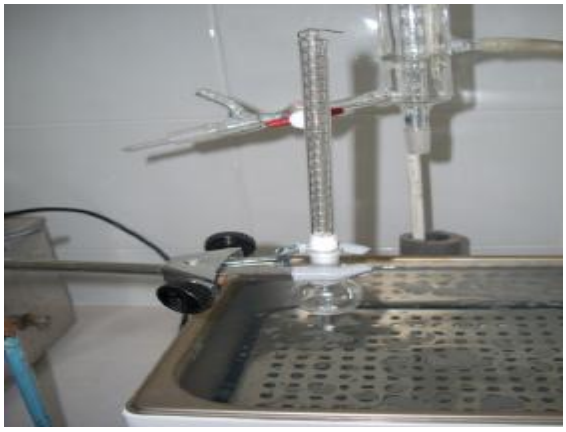
Aroma analizlerinde sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniği uygulanmıştır. Ektraksiyon her bir örnekte üç kez tekrarlanmak üzere diklorometan (CH_2Cl_2) çözgeni ile yapılmıştır. Her ekstraksiyon işleminde 100 ml şarap örneği kullanılmıştır. Şarap içerisine 50 ml diklorometan çözgeni ve 40 µg iç standart (4-nonanol) eklenerek, bu karışım 500 ml'lik bir erlene alınmıştır. Erlendeki karışım azot gazı altında 4-5 °C'de 30 dakika süreyle manyetik karıştırıcı da karıştırılmıştır (Priser ve ark., 1997). Bu işlem sonucu, erlen içeriği 2 ºC' de 15 dakika (4600 rpm'de) santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra aroma maddelerini içeren çözgen fazı alınarak, Vigreux konsantratör ile 40 °C'de 1 ml' ye ve daha sonra mikro konsantrasyon düzeneğinde 0.5 ml' ye konsantre edilmiştir(Resim 3.6.). Konsantre halde elde edilen ekstrakt gaz kromatografisi (GC)-kütle spektrometresi (MS)'ne enjekte (3 µl) edilmiş, aroma maddeleri belirlenmiştir. Enjeksiyon aşamasından önce aromatik ekstrakt ve şarap örneklerinin aroması duyusal yöntemlerle uzman panelistler tarafından karşılaştırılmış ve böylece ekstraksiyon yönteminin güvenilirliği (representative test) kontrol edilmiştir. Aroma maddelerinin tanımlanmasında GC-MS'in hafızasında bulunan Wiley 7.0 ve NIST aroma maddeleri kütüphanesi, standart maddeler ve Kovats indeksleri kullanılmıştır.



Resim 3.4. Aroma maddelerinin ekstraksiyonu



Resim 3.5. Vigreux düzeneğinde konsantrasyon işlemi



Resim 3.6. Mikro konsantrasyon düzeneği

3.2.4.1. GC-MS Koşulları

Sistem: Agilent 6890N GC ve 5975B MS (Resim 3.7.)

Kolon: DB-Wax kolon (30 m x 0.25 mm i.dx 0.5 µm, J&W Scientific-Folsom,USA)

Enjeksiyon sıcaklığı: 250 ^{o}C

Kolon sıcaklığı: 40 ^{o}C'de, 10 dakikada ve bir 4 ^{o}C artış göstererek 220 ^{o}C'ye ayarlanacak

Taşıyıcı gaz: Helyum (3,2 mL/dakika)

Elektron enerji: 70 Ev

Kütle aralığı: 35-425 m/z

Hesaplama

Piklerin tanısından sonra aroma maddelerinin konsantrasyonları, iç standart yöntemiyle aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

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

Ci :Bileşiğin konsantrasyonu

A_i : Bileşiğin pik alanı

A_{st} : İç standardın pik alanı

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

RF :Cevap faktörü (Cevap faktörü 1 olarak alınmıştır)

HF :Hesaplama faktörü (Örnek miktarının litreye çevrilmesi için faktör:10)



Resim 3.7. Analizlerde kullanılan Agilent GC-MS sistemi

3.2.5. Duyusal Analizler

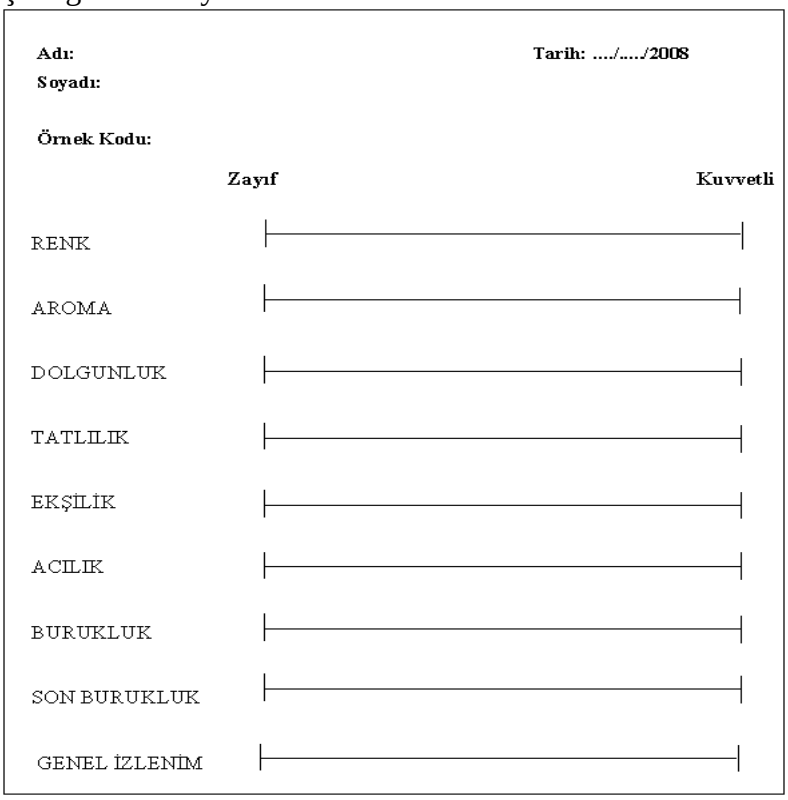
Şarap örneklerinin duyusal olarak değerlendirilmesinde üçgen test ve lezzet profil analizleri uygulanmıştır. Üçgen testte panelistlere ikisi aynı biri farklı üç şarap örneği sunulmuş ve panelistlerden farklı olanı bulmaları istenmiş ve hangi örneği tercih ettiklerini bildirmeleri istenmiştir (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Üçgen test formu

ÜÇGEN TEST FORMU			
Panelistin Adı Soyadı:	…….....		
Tarih:	……		
Bu şarap örneklerinden ikisi aynı biri farklı işlenmiştir. Farklı olan hangisidir? (Farklı bulduğunuz örneğin numarasını daire içine alınız)			
Test	1	2	3
Hangi örneği tercih ettiniz?			
Niçin?			

Lezzet profil analizinde önceden belirlenen her bir özellik için 10 puanlık skala kullanılmış (Çizelge 3.2.) ve sonuçlar örümcek ağı diyagramında gösterilmiştir. Duyusal analizler 10 kişiden oluşan uzman bir panelist grubu tarafından değerlendirilmiştir (Amerine ve ark., 1965). Analizlerden elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak da değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.2. Duyusal analiz formu



3.2.6. İstatistiksel Analizler

Araştırmadan elde edilen sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS (versiyon 15.0) istatistik paket programı yardımıyla T - testi ile yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Şıranın Genel Bileşimi

Kalecik karası üzümlerinden elde edilen şıranın genel bileşimi Çizelge 4.1.' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kalecik karası şırasının genel bileşimi

ANALİZLER	
Öksele derecesi	115
Olgunlaşma katsayısı (öksele/asit)	16.93
Toplam asitlik (g/l)*	6.79 ± 0.18
pH	3.78 ± 0.0
İndirgen şeker (g/l)	265.1 ± 1.52
Antosiyanin (mg/l)	38.2 ± 3.53
Toplam fenol bileşikleri (OY280)	14.5 ± 1.73
Renk yoğunluğu (OY420+OY520+OY620)	0.054 ± 0.0
Renk tonu (OY420/OY520)	1.15 ± 0.0
%OY420	42.6 ± 0.0
%OY520	37.0 ± 0.0
%OY620	20.4 ± 0.0

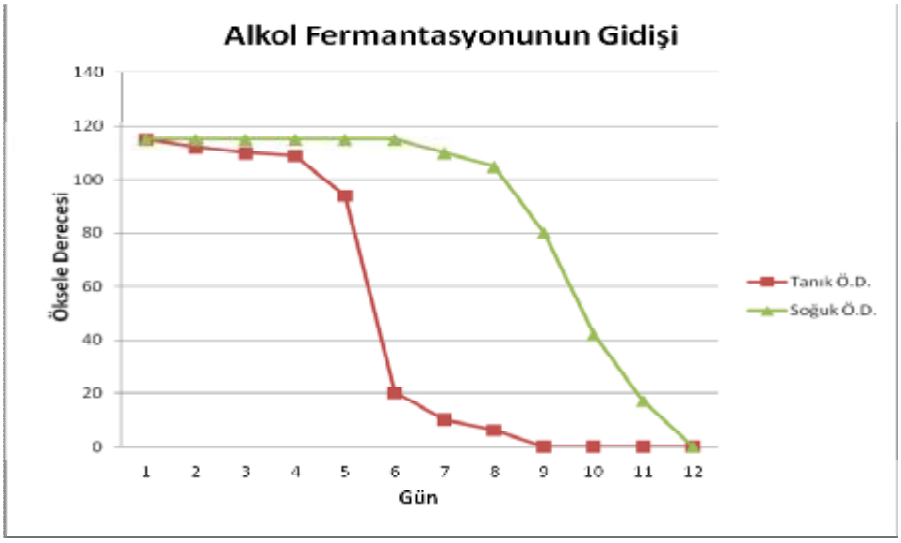
* tartarik asit cinsinden

Çizelge 4.1.' de görüldüğü gibi Kalecik karası şırasının indirgen şeker miktarı 265.1 g/l'dir. Akman ve Yazıcıoğlu (1960), şaraplık üzümlerde şeker miktarının litrede 170-400 g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Şıradaki toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 6.79 g/l (90.65 me/l) pH değeri 3.78 olarak bulunmuştur. Amerine ve ark. (1980) şaraplık üzümlerde asitliğin 40-213 me/l arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Önceki çalışmalarda Kalecik karası şırasının asitliğinin 7.4-9.3 g/l arasında pH' sının 3.5-3.6 arasında değiştiği bildirilmiştir (Kelebek ve ark., 2008; Selli ve ark., 2004).

Kalecik karası üzümünden elde edilen şıradaki antosiyanin miktarı 38.2 mg/l, renk yoğunluğu 0.054 ve renk tonu 1.15'dir. Şıra veya şarapta hakim olan rengin belirlenmesinde yapılan ölçümlerden % OY_{420} mavi, % OY_{520} kırmızı ve % OY_{620} ise sarı rengin % miktarını belirlemektedir. Çizelge 4.1' de görüldüğü gibi Kalecik karası üzümünden elde edilen şırada % OY_{420} 42.59, % OY_{520} 37.03 ve % OY_{620} 20.37'dir. Tsanova-Savova ve ark (2002), yıllandırılmış Bulgar kırmızı şaraplarında OY_{420}, % OY_{520} ve % OY_{620} değerlerinin sırasıyla 39-50, 42.5-55 ve 6.8-11.5 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

4.2. Alkol Fermantasyonunun Gidişi

Denemelerde alkol fermantasyonun gidişi şırada günde sabah ve öğleden sonra olmak üzere öksele ve sıcaklık ölçümleri yapılarak izlenmiştir.



Şekil 4.1. Alkol fermantasyonunun gidişi

Fermantasyon süresince öksele derecesindeki değişme Şekil 4.1. verilmiştir. Geleneksel yöntemle alkol fermantasyonu 2. gün ve başlamış 9. gün sonunda tamamlanmıştır. Soğuk maserasyon uygulamasında ise alkol fermantasyonu 6. gün başlamış ve 12. gün sona ermiştir.

4.3. Şarapların Genel Bileşimi

Şaraplarda alkol miktarı hacim olarak, tanıkta 15.1 (% h/h), soğukta maserasyon uygulanan örnekte ise 14.6 (% h/h) olarak bulunmuştur. Ough ve Amerine (1988), şaraplarda alkol miktarının hacim olarak % 8-17 arasında değiştiğini, kırmızı şaraplarda bu oranın genellikle % 11-14 arasında olduğunu ve şarabın dayanıklılığı açısından alkol oranının % 10'un altına düşmemesi gerektiğini bildirmişlerdir (Kelebek 2009, Nurgel ve ark., 2002). Denemelerde kullanılan üzümlerin başlangıç şeker içeriği yüksek olduğundan şarapların alkol içerikleri önceki çalışmalardan daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi yoğunluk, tanıkta 0.9931, soğuk maserasyon şarabında 0.9937'dir. Toplam asit içeriği tanıkta 5.67 g/l, soğuk maserasyon şarabında 5.97 g/l ve yoğunluk ve pH üzerine önemli bir etkisi görülmezken toplam asit miktarında artış görülmüştür. Asitlik şarabın tat ve dayanıklılığı üzerinde etkilidir. Ayrıca şaraba tazelik kazandırır ve renk tonu üzerinde etkili olur (Navarre, 1988). Sek şaraplarda asit miktarı tartarik asit cinsinden 4.5 g/l ile 9 g/l arasında değişmekle birlikte kalite şaraplarda en uygun asit miktarı 6-7 g/l' dir. Şaraplarda pH değeri 2.7-3.8 arasında değişir (Canbaş 1983b; Canbaş ve ark., 2000; Selli 2004). Kelebek ve ark. (2009) Kalecik karası şaraplarında asitliği 4.75-4.79 g/l arasında belirlemişlerdir. Öte yandan Selli ve ark. (2004) Kalecik karası şarabında asitliği 5.0-5.9 g/l olarak saptamışlardır. Soğuk maserasyon uygulaması şarap örneğinde toplam asitliği az da olsa yükseltmiştir. Önceki çalışmalarda da soğuk maserasyon uygulamasının şaraplarda toplam asitliği bir miktar artırdığı bildirilmiştir (Álvarez ve ark. 2006).

Şaraplardaki fenol bileşiklerinin % 90'ını oluşturan tanenler tattaki burukluktan sorumludur (Canbaş, 1976;1985). Bu çalışmada tanen miktarları tanık için 1.19 g/l, soğuk maserasyon uygulanan örnekte 1.47 g/l olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanarak soğuk maserasyonun şarapta tanen ekstraksiyonunu artırdığı belirlenmiştir. Canbaş (1983b) kırmızı şaraplarda tanen miktarının 1.5-5g/l arasında değiştiğini bildirmiştir. Önceki çalışmalarda Kalecik Karası şaraplarında 1.2 ve 1.7

g/l olarak bildirilmiştir (Selli ve ark, 2004). Çalışmada bulunan değerler daha önceki çalışmalarla uyum içerisindedir.

Çizelge 4.2. Şarapların genel bileşimi

ANALİZLER	TANIK	SOĞUK MASERASYON
Yoğunluk (20/20 C)	0.9931 ± 0.06	0.9937 ± 0.06
Alkol (%h/h)	15.1 ± 0.02	14.6 ± 0.02
Kurumadde (g/l)	33.35 ± 0.009	33.45 ± 0.002
pH	3.95 ± 0.0	3.90 ± 0.0
Toplam asit* (g/l)	5.67± 0.072	5.97± 0,186
Uçar asit** (g/l)	0.29 ± 0.02	0.34 ± 0.02
Toplam fenol bileşikleri İndisi (D 280)	35.9 ± 0.7	39.7 ± 0.6
İndirgen şeker (g/l)	3.08 ± 0.06	3.39 ± 0.02
Kül (g/l)	2.2 ± 0.06	2.3 ± 0.0
Toplam SO2 (mg/l)	94.3 ± 0.07	98.1 ± 0.07
Serbest SO2 (mg/l)	14.2 ± 0.02	13.7 ± 0.02
Tanen (g/l)	1.19 ± 0.05	1.47 ± 0.07
Renk yoğunluğu (OY420+OY520+OY620)	0.529 ± 0.0	0.886 ± 0.0
Renk tonu (OY420/OY520)	0.604 ± 0.0	0.570 ± 0.0
420%	34 ± 0.0	32.8 ± 0.0
520%	56.3 ± 0.0	57.5 ± 0.0
620%	9.64 ± 0.0	9.59 ± 0.0
%dA	61.2 ± 0.0	63.1 ± 0.0

* tartarik asit cinsinden, ** asetik asit cinsinden

Şarabın renk yoğunluğu antosiyanin miktarı yanında pH, tanen ve tanenler ile antosiyaninler arasındaki reaksiyonlarla ilgilidir (Somers ve Evans,1974; Ribereau-Gayon,1982). Ribereau-Gayon ve ark. (2000), renk yoğunluğunun üzüm çeşidine ve şarap yapım tekniğine bağlı olarak 0.3-1.8 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Renk yoğunluğu tanıkta 0.529, soğuk maserasyon şarabında 0.886 bulunmuştur. % dA değerleri sırasıyla tanık ve soğuk maserasyon için 61.2 ve 63.1 olarak bulunmuştur. Bu değer şaraplarda 40-60 arasında değişmektedir. % dA'nın yüksek olması parlak

kırmızı rengin baskın olduğunu ifade etmektedir (Ribéreau-Gayon ve ark. 2000). Bu değerler önceki çalışmalarla da uyum içerisindedir (Kelebek, 2008).

Şarapların kuru madde, kül, indirgen şeker, uçar asit, serbest ve toplam SO_2 miktarları daha önceki çalışmalarla uyum göstermektedir (Selli ve ark., 2004; Kelebek ve ark., 2009).

4.4. Soğuk Maserasyonun Aroma Maddeleri Üzerine Etkisi

Kalecik karası şaraplarının aroma maddeleri Çizelge 4.3.' de verilmiştir. Aroma maddelerinin tanımlanmasında kütle spektroskopisinin kütüphanesi (MS), aroma maddeleri standartları (Std) ve alıkonma indis (LRI) değerlerinden faydalanılmıştır. Aroma maddelerinin kromatogramları ise Şekil 4.2. ve Şekil 4.3.' de verilmiştir. Öte yandan şaraplarda karakteristik aromanın oluşumunda rol oynayan bileşiklerin tanımlanmasında kullanılan koku aktiflik değerleri, KAD (Odour activity value) de saptanmıştır. Bu değer aroma maddesinin miktarının, algılanma eşik değerine bölünmesiyle hesaplanmıştır. KAD'nin 1' den büyük olması o bileşiğin karakteristik kokuda etkili olduğunu göstermektedir (Vilanova ve ark., 2009).

Çizelge 4.3.' de görüldüğü gibi tanık şarapta toplam 48 adet aroma maddesi, soğuk maserasyonla elde edilen şarapta ise 57 adet aroma maddesi belirlenmiştir. Aroma maddelerinin toplam miktarı tanık şarapta 122635 µg/l ve soğuk maserasyonda 134449 µg/l' dir. Soğuk maserasyon uygulaması şarapta aroma maddelerinin hem miktarını ve hem de sayısını tanık şaraba göre artırmıştır. Bu uygulama aroma maddelerinin toplam miktarını % 9.6 yükseltmiştir. Benzer çalışmalarda soğuk maserasyon uygulamasının şaraptaki aroma maddeleri üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Radeka ve ark., 2007; Salinas ve ark., 2005; Girard ve ark., 2000; Álvarez ve ark., 2006).

Çizelge 4.3. Şaraplardaki aroma maddeleri bileşimi

No	LRI	Aroma	Tanık	Soğuk	Tanımlama	F*
		Alkoller				
1	1086	İzobutil alkol	10115±54,65	11254±54,85	A,B,C	ö.d.
2	1167	1-Bütanol	392,4 ±13,68	529,2± 15,61	A,B,C	***
3	1210	İzoamil alkol	78197± 585,62	78288±502,1	A,B,C	ö.d.
4	1295	4-Metil-2-pentanol	43,3± 3,46	-	A,B	*
5	1298	2-Pentanol	15,3± 0,46	-	A,B	*
6	1348	2-Propanol	-	91,4± 4,28	A,B	*
7	1353	1-Hekzanol	1059± 17,89	970,1± 15,15	A,B,C	*
8	1356	*(E)*-3-Hekzen-1-ol	-	66,4± 4,04	A,B,C	*
9	1364	3-Etoksi-1-propanol	231,9± 11,70	111,2± 8,41	A,B	*
10	1387	(Z)-3-Hekzen-1-ol	70,0± 3,45	11,5± 1,05	A,B,C	*
11	1457	1-Heptanol	22,8± 1,86	28,2± 1,21	A,B	***
12	1583	2,3-Bütandiol	4770± 30,17	4517± 40,63	A,B,C	ö.d.
13	1664	Furfuril alkol	37,9± 2,87	51,4± 2,94	A,B,C	***
14	1723	Methionol	227,2± 11,49	345,3± 11,72	A,B,C	**
15	1869	Benzil alkol	460,9± 27,25	647,6± 57,17	A,B,C	**
16	1900	2-Fenil etanol	9652± 96,19	14078±118,3	A,B,C	**
17	2805	Homo vanilil alkol	62,6± 5,96	54,5± 3,58	A,B	ö.d.
		Toplam	**105357**	**111043**		
		Esterler				
18	1132	İzoamil asetat	77,6± 3,36	75,8± 3,47	A,B,C	ö.d.
19	1230	Etil hekzanoat	226,8± 11,60	259,3± 12,23	A,B,C	ö.d.
20	1318	Metil laktat	-	12,5± 1,30	A,B	*
21	1343	Etil laktat	967,4± 16,78	1185± 20,05	A,B,C	***
22	1455	Etil oktanoat	105,7± 4,37	188,5± 8,87	A,B,C	*

Çizelge 4.3.' ün devamı

No	LRI	Aroma	Tanık	Soğuk	Tanımlama	F*
23	1610	2-Pentil format	-	175,9± 11,66	A,B	*
24	1656	Etil metil bütanoat	42,4± 2,23	62,8± 5,70	A,B	**
25	1690	Dietil süksinat	1851± 49,21	1568± 17,82	A,B,C	*
26	1754	Metil valerat	-	42,9± 3,89	A,B	*
27	1819	Etil-4-OH bütanoat	1432± 15,97	3844± 30,13	A,B,C	*
28	2041	Dietil malat	96,3± 5,04	94,3± 6,36	A,B	ö.d.
29	2315	Etil-2-OH-3-fenil propanoat	-	117,8± 5,28	A,B	*
30	2440	Monoetil süksinat	3706± 29,80	5654± 58,31	A,B	**
31	2612	Etil vanilat	98,1± 0,67	171,6± 2,29	A,B,C	**
32	2672	Fenil etil oktanoat	178,0± 4,80	152,2± 5,04	A,B,C	***
		Toplam	**8781**	**13605**		
		Terpenol				
33	1767	Sitronellol	-	15,6± 0,87	A,B,C	*
		Toplam	**-**	**15,6**		
		Uçucu Fenoller				
34	2033	4-Etil gaiakol	-	27,9± 2,59	A,B,C	*
35	2177	4-Vinil gaiakol	910,1± 14,57	947,1± 19,34	A,B,C	ö.d.
36	2296	Siringol(2,6-Dimetoksi fenol)	259,5± 12,83	251,9± 15,30	A,B	ö.d.
		Toplam	**1170**	**1227**		
		Laktonlar				
37	1635	γ-Bütirolakton	2603± 49,84	2977± 81,63	A,B,C	ö.d.
38	2010	Dehidromevaloniklakton	-	25,4± 1,49	A,B	*
39	2030	Pantolakton	49,9± 4,33	51,9± 2,83	A,B	ö.d.
40	2037	γ-Undekalakton	-	16,5± 1,32	A,B,C	*

Çizelge 4.3.' ün devamı

No	LRI	Aroma	Tanık	Soğuk	Tanımlama	F*
41	2060	γ-Nonalakton	124,4± 2,67	50,35± 0,36	A,B,C	*
42	2241	4-Etoksi karbonil γ-bütanolakton	252,8± 12,78	319± 17,34	A,B	***
43	2374	4-(1-OH etil) gamma bütanolakton	207,9± 3,67	164,8± 4,20	A,B	***
		Toplam	**3238**	**3605**		
		Aldehit ve Ketonlar				
44	1291	Asetoin	1251± 13,01	1533± 72,00	A,B,C	***
45	1430	2-Furaldehit(Furfural)	20,0± 1,00	28,5± 1,50	A,B,C	**
46	2698	3-Etoksi-2-fenil-propenal	44,5± 1,26	37,9± 1,45	A,B	ö.d.
47	2780	2-Fenil tiyobütanal	109,6± 7,71	-	A,B	*
		Toplam	**1425**	**1599**		
		13 C'lu Norizoprenoidler				
48	2651	3-Okzo-α-ionon	-	103,6± 4,94	A,B,C	*
		Toplam	**-**	**103,6**		
		Asitler				
49	1523	Propanoik asit	102,5± 4,44	100,3± 4,01	A,B	ö.d.
50	1642	Bütanoik asit	182,7± 6,93	200,2± 7,71	A,B	ö.d.
51	1686	İzovalerik asit	308,3± 18,88	262,6± 10,58	A,B	ö.d.
52	1838	Hekzanoik asit	595,6± 11,26	952,0± 18,00	A,B,C	*
53	1905	Heptanoik asit	41,7± 1,84	35,8± 2,40	A,B	ö.d.
54	1962	*(E)*-2-Hekzanoik asit	31,4± 0,86	22,5± 0,30	A,B	***
55	2042	Oktanoik asit	892,5± 14,24	1010± 14,74	A,B,C	ö.d.
56	2158	Nonanoik asit	-	86,3± 6,72	A,B,C	*
57	2357	Dekanoik asit	237,7± 11,54	276,5± 11,71	A,B,C	ö.d.
58	2692	Tetradekanoik asit	100,0± 4,55	101,1± 4,84	A,B,C	ö.d.

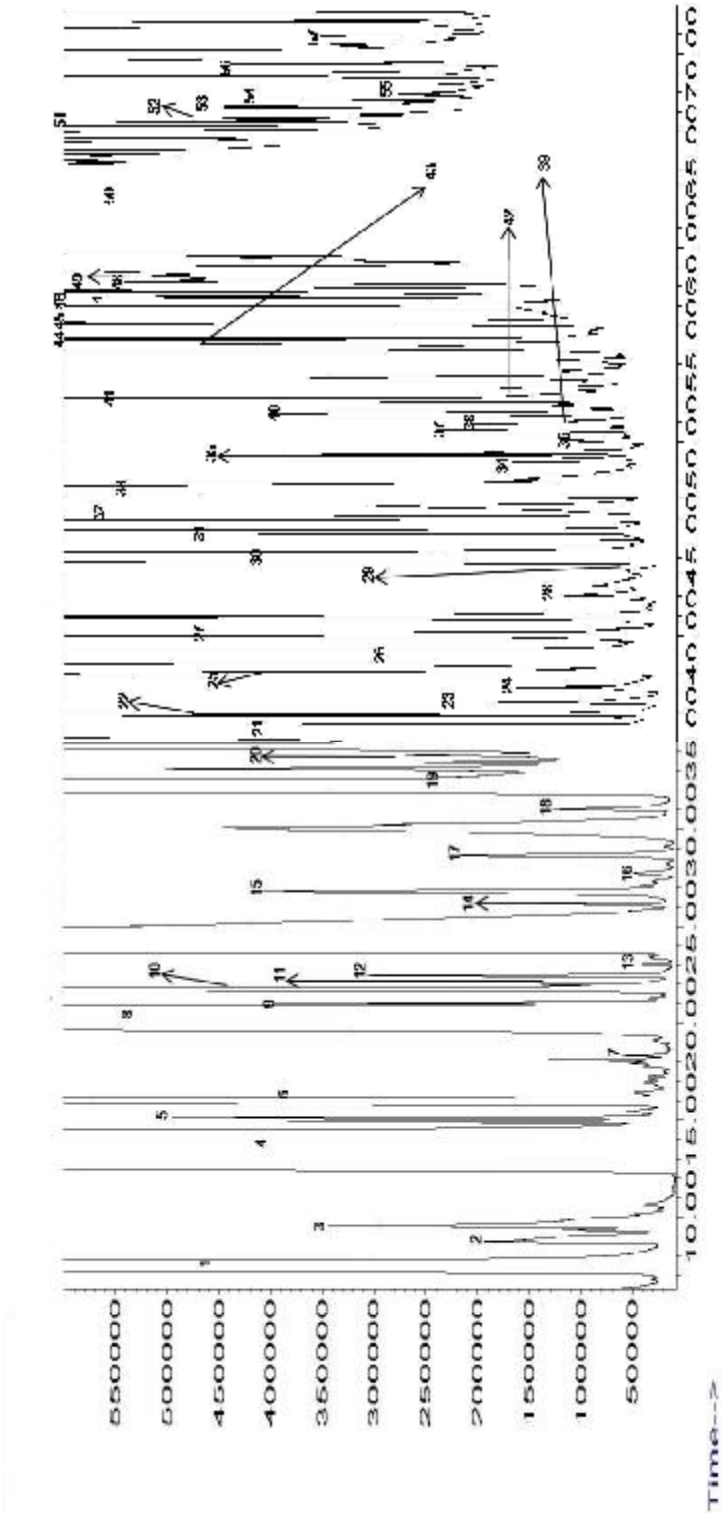
Çizelge 4.3' ün devamı

No	LRI	Aroma	Tanık	Soğuk	Tanımlama	F*
59	2886	Hekzadekanoik asit	130,3± 3,49	115,6± 3,50	A,B	ö.d.
		Toplam	**2623**	**3163**		
		Asetaller				
60	1478	*(Z)*-5-OH-2-metil-1,3-diokzan	41,1± 2,26	87,5± 2,32	A,B	*
		Toplam	**41,1**	**87,5**		
		GENEL TOPLAM	**122635**	**134449**		

LRI : Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapilar kolon üzerinde hesaplanmıştır; Konsantrasyon: µg/l olarak 3 farklı injeksiyon sonuçları ortalamasıdır; Tanımlama: A: LRI (Linear alıkonma indeksi), B: MS (Kütle spektrometresi kütüphanesi), C: Std (Standart kimyasal madde).
*F: Varyans analizine göre farklılık durumu. ö.d. : $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$ önem düzeyinde önemsizdir. * : İki örnek arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). ** : İki örnek arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.01$).*** : İki örnek arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.001$).

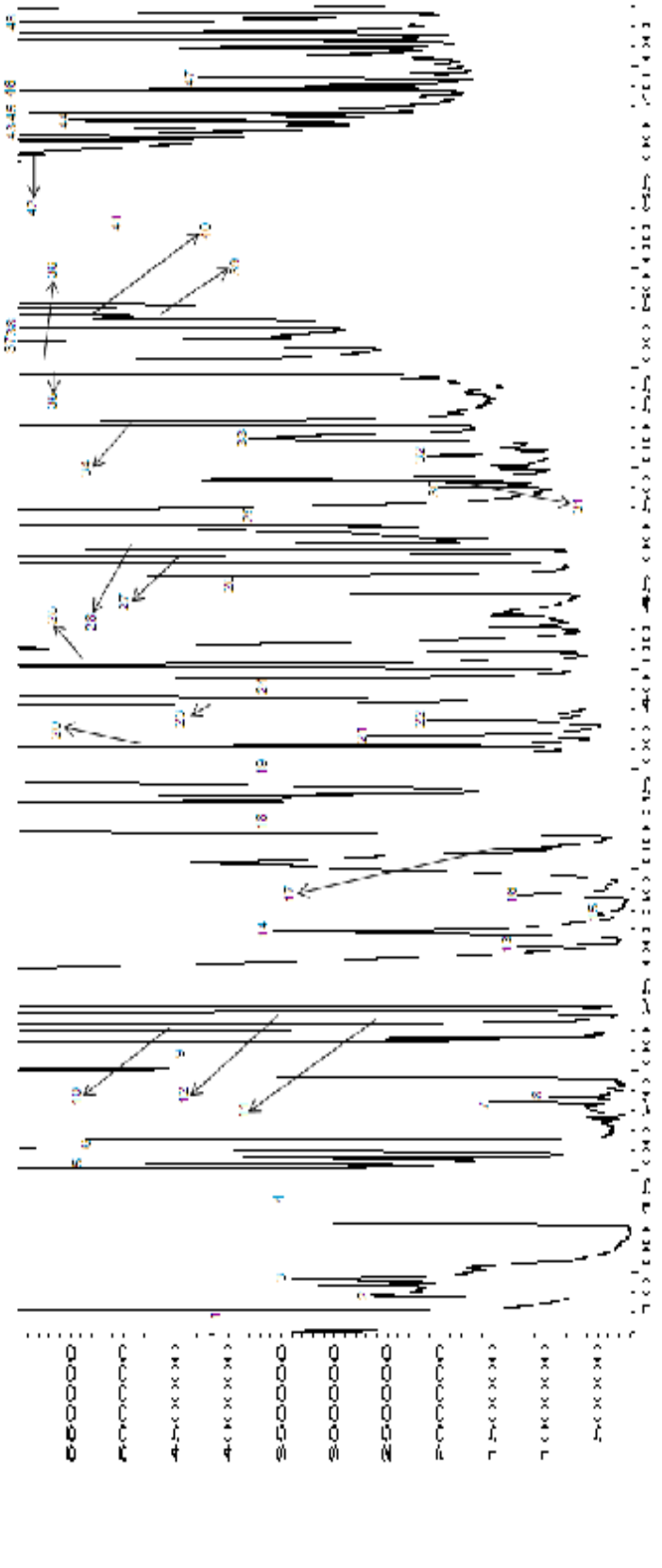
Yüksek alkoller ve esterler şarapta miktar olarak en fazla bulunan aroma maddeleridir. Önceki çalışmalarda Merlot ve Cabernet sauvignon (Kotseridis ve ark., 2000); Pinot noir (Girard ve ark., 2000) ve Loureira, Dona Branca ve Treixadura şaraplarında (Falque ve ark., 2002) da benzer sonuçlar bildirilmiştir. Bu bileşikler tanık maserasyonla elde edilen şarapta toplam aroma maddelerinin % 93.07'sini, soğuk maserasyonda ise % 92.71' i gibi çok büyük bir kısmını oluşturmuştur. Yüksek alkoller ve esterlerin oluşumunda amino asit metabolizması etkili olmakla birlikte, miktarları üzümlerin bileşimine, maya yüküne ve fermantasyon koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Álvarez ve ark., 2006; Valero ve ark., 2002).

Yüksek Alkoller: Şaraplarda yüksek alkoller aroma maddelerinin çok büyük bir kısmını oluşturmuştur. Yüksek alkoller alkol fermantasyonu sırasında Ehrlich veya karbonhidrat sentezi yollarıyla oluşurlar ve alkollü içeceklerde aroma maddelerinin en temel öğesidirler (Guymon, 1970; Berry ve Watson, 1987).



Şekil 4.2. Soğuk maserasyon şarabının GC' de elde edilen aroma madeleri kromatogramı

1: İzobütil alkol, 2: İzoamil asetat, 3: 1-Bütanol, 4: İzoamil alkol, 5: Etil hekzanoat, 6: Asetoin, 7: Metil laktat, 8: Etil laktat, 9: 2-Propanol, 10: 1-Hekzanol, 11: (E)-3-Hekzen-1-ol, 12: 3-Etoksi-1-propanol, 13: (Z)-3-Hekzen-1-ol, 14: 2-Furaldehit(Furfural), 15: Etil oktanoat, 16: 1-Heptanol, 17: (Z)-(5-OH)-2-metil-1,3-diokzan, 18: Propanoik asit, 19: 2,3-Bütandiol, 20: 2-Pentil format, 21: γ-bütirolakton, 22: Bütanoik asit, 23: Etil metil bütanoat, 24: Furfuril alkol, 25: İzovalerik asit, 26: Dietil süksinat, 27: Methionol, 28: Metil valerat, 29: Sitronellol, 30: Etil-4-OH bütanoat, 31: Hekzanoik asit, 32: Benzil alkol, 33: 2-Fenil etanol, 34: Heptanoik asit, 35: (E)-2-Hekzanoik asit, 36: Dehidromevaloniklakton, 37: Pantolakton, 38: 4-Etil gaiakol, 39: γ-Undekalakton, 40: Dietil malat, 41: Oktanoik asit, 42: γ-nonalakton, 43: Nonaoik asit, 44: 4-vinil gaiakol, 45: 4-Etoksi karbonil gamma bütanolakton, 46: Syringol, 47: Etil-2-OH-3-fenil propanoat, 48: Dekanoik asit, 49: 4-(1-OH etil)gamma bütanolakton, 50: Monoetil süksinat, 51: Etil vanilat, 52: 3-Okzo-α-ionon, 53: Fenil etil oktanoat, 54: Tetra dekanoik asit, 55: 3-Etoksi-2-fenil-2-propenal, 56: Homo vanilil alkol, 57: Hekzadekanoik asit



Şekil 4.3.Tanık şarabın GC' de elde edilen aroma maddeleri kromatogramı

1: İzobütil alkol, 2: İzoamil asetat, 3: 1-Bütanol, 4: İzoamil alkol, 5: Etil hekzanoat, 6: Asetoin, 7: 4-Metil-2-pentanol, 8: 2-pentanol, 9: Etil laktat, 10: 1-Hekzanol, 11: 3-Etoksi-1-propanol, 12: (Z)-3-Hekzen-1-ol, 13: 2-Furaldehit(Furfural), 14: Etil oktanoat, 15: 1-Heptanol, 16: (Z)-(5-OH)-2-metil-1,3-diokzan, 17: Propanoik asit, 18: 2,3-Bütandiol, 19: γ-bütirolakton, 20: Bütanoik asit, 21: Etil metil bütanoat, 22: Furfuril alkol, 23: İzovalerik asit, 24: Dietil süksinat, 25: Methionol, 26: Etil-4-OH bütanoat, 27: Hekzanoik asit, 28: Benzil alkol, 29: 2-Fenil etanol, 30: Heptanoik asit, 31: (E)-2-Hekzanoik asit, 32: Pantolakton, 33: Dietil malat, 34: Oktanoik asit, 35: γ-nonalakton, 36: 4-vinil gaiakol, 37: 4-Etoksi karbonil gamma bütanolakton, 38: Syringol, 39: Dekanoik asit, 40: 4-(1-OH etil)gamma bütanolakton, 41: Monoetil süksinat, 42: Etil vanilat, 43: Fenil etil oktanoat, 44: Tetra dekanoik asit, 45: 3-Etoksi-2-fenil-2-propenal, 46: 2-Fenil tüyobütanal, 47: Homo vanilil alkol, 48: Hekzadekanoik asit

Her iki şarap örneğinde de 15 adet yüksek alkol belirlenmiştir. Yüksek alkollerin toplam miktarı tanıkta 105357 µg/l, soğuk maserasyonda 111043 µg/l' dir. Soğuk maserasyon uygulaması şarapta yüksek alkollerin miktarını % 5.3 oranında artırmıştır. Şaraplarda yüksek alkollerin toplam miktarı 300 mg/l' nin altında bulunmuştur. Ribereau-Gayon ve ark. (2000) şaraplarda yüksek alkollerin toplam miktarının 300 mg/l' nin altında olduğu zaman şaraba istenilen aromayı kazandırırken, 400 mg/l' nin üzerinde bu bileşiklerin koku ve tadı olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir.

Yüksek alkoller içerisinde izoamil alkol miktar olarak en fazla bulunmuş, bunu izobütil alkol ve 2-feniletil alkol izlemiştir. İzoamil alkolün miktarı tanıkta 78197 µg/l iken, soğuk maserasyon uygulanan şarapta 78289 µg/l' ye çıkmıştır. Algılanma eşik değeri 40000 µg/l gibi oldukça yüksek bir değer olan bu alkol, Kalecik karası şarabının aromasının oluşumunda rol oynayan bir aroma maddesidir. Bu alkolün koku aktiflik değeri (KAD) tanıkta 1.95 ve soğuk maserasyonda ise 1.96 olarak bulunmuştur. Benzer şekilde Álvarez ve ark. (2006) fermantasyon öncesi 5-8 ºC arasında uygulanan soğuk maserasyonun kırmızı şarapta izoamil alkol miktarını tanık şaraba göre 318.2 mg/l' den 371.7 mg/l' ye çıkardığını bildirmişlerdir.

2-Feniletil alkol ve benzil alkol şaraplara güzel kokular kazandıran aromatik alkollerdir. Her iki aromatik alkolün miktarını soğuk maserasyon uygulaması, tanığa göre önemli düzeylerde artırmış ve sonuçlar istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($p<0.01$). 2-Feniletil alkol miktarı, tanık şarapta 9652 µg/l iken soğuk maserasyon şarabında 14078 µg/l' dir. Soğuk maserasyon 2-fenil etil alkol miktarını % 45.9 oranında artırmıştır. Benzer şekilde, Salinas ve ark., (2005) Monastrell üzümünden elde edilen tanık şarapta 2-fenil etil alkol miktarının 13.47 mg/l olduğunu ve 5 ve 10 ºC' lik soğuk maserasyonlar sonucunda bu bileşiğin miktarının 13.54 mg/l ve 16.42 mg/l' ye yükseldiğini bildirmişlerdir. Öte yandan, Nykanen ve Suomalainen (1989) alkollü içkilerde benzil alkol ve 2-fenil etil alkolün önemli alkol bileşikleri olduğunu ve 2-feniletil alkolün miktarını şıra bileşimi, maya suşu ve fermantasyon sıcaklığının etkilediğini bildirmişlerdir. Çizelge 4.4' de görüldüğü gibi soğuk maserasyon uygulaması 2- fenil etil alkolü şarabın karakteristik kokusunun oluşumunda etkili bir aroma maddesi durumuna getirmiştir. Tanık şarapta KAD' si 1'

in altında olan bu alkolün, soğuk maserasyon uygulamasıyla KAD' si 1.4' e yükselmiştir. Şaraba çiçeğimsi ve özellikle gül kokusu kazandırdığı bildirilen 2-fenil etil alkol önceki çalışmalarda Pinot noir şarabında (Fang ve Qian., 2006) ve Riesling şaraplarında da (Komes ve ark., 2005) önemli bir aroma maddesi olduğu açıklanmıştır.

Şaraplarda 6 C' lu alkollerden 1-hekzanol, *(E)*-3-hekzen-1-ol ve *(Z)*-3-hekzen-1-ol belirlenmiştir. Bu bileşiklerinden *(E)*-3-hekzen-1-ol yalnızca soğuk maserasyon uygulanan şarapta saptanmıştır. 6 C' lu alkollerin toplam miktarı soğuk maserasyon uygulaması ile bir miktar azalmıştır. Bu bileşikler şaraplara otsu ve yeşil bitki kokuları kazandırdıklarından önemlidirler (Ferreira ve ark., 1995; Gomez-Minguez ve ark. 2007). Önceki çalışmalarda fermantasyon öncesi lipoksigenaz enziminin faaliyeti sonucu oluştuğu bildirilen (Ferreira ve ark., 1995; Perez-Coello ve ark., 1999; Gomez-Minguez ve ark., 2007) 6 C' lu bileşiklerin miktarının soğuk maserasyon uygulanan şaraplarda düşük bulunmasının nedeninin, soğuk maserasyonun bu enzimin faaliyetini engellemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Öte yandan maya suşunda bu bileşiklerin miktarını etkilediği bildirilmiştir (Torrens ve ark. 2008).

Esterler: Esterler şaraba meyvemsi aroma vermeleri açısından önemli aroma maddeleridir. Tanık maserasyonla elde edilen şarapta 11 adet, soğuk maserasyon şarabında 15 adet ester bileşiği belirlenmiştir. Esterlerden metil laktat (12.5µg/l), 2-pentil format (175.9 µg/l), metil valerat (42.9 µg/l) ve etil-2-OH-3-fenil propanoat (117.8 µg/l) sadece soğuk maserasyon uygulanan şarapta belirlenmiştir. Ester bileşiklerinin toplam miktarı ise tanık şarapta 8781 µg/l, soğuk maserasyon şarabında ise 13605 µg/l' dir (Çizelge 4.3.). Soğuk maserasyon uygulaması ester bileşikleri miktarlarını önemli düzeylerde artırmıştır. Benzer sonuçlar önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Radeka ve ark., 2007; Salinas ve ark., 2005; Girard ve ark., 2000; Álvarez ve ark., 2006).

Esterler içerisinde miktar olarak en fazla monoetil süksinat, dietil süksinat, etil-4-hidroksi bütanoat ve etil laktat bulunmuştur. Soğuk maserasyon bu bileşiklerin miktarını (dietil süksinat hariç) tanık şaraba göre önemli düzeylerde artırmış ve sonuçlar istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur. Kalecik karası şarabında olduğu

gibi Pinot noir şarabında da soğuk maserasyon uygulamasının esterlerin büyük çoğunluğunun miktarını artırırken, dietil süksinat miktarını azalttığı bildirilmiştir Girard ve ark. (2000). Araştırmacılar, tanıkta 205.9 µg/l olan dietil suksinat miktarının 15 ºC' lik maserasyonda 163.4 µg/l' ye düştüğünü saptamışlardır. Kalecik karası tanık şarapta bu esterin miktarı 1851 µg/l iken soğuk maserasyon uygulanan şarapta 1568 µg/l' ye düşmüştür.

Şaraplarda uzun zincirli yağ asitlerinin etil esterleri olarak etil hekzanoat, etil oktanoat, etil metil bütanoat ve fenil etil oktanoat belirlenmiştir. Soğuk maserasyon uygulaması bu esterlerden fenil etil oktanoat dışındaki esterlerin miktarını artırmıştır. Öte yandan etil hekzanoat ve etil oktanoat sahip oldukları düşük algılanma eşik değerleriyle Kalecik karası şarabının karakteristik kokusunun oluşumunda etkili aroma maddeleridir (Çizelge 4.4.). Şaraplara çiçeğimsi-meyvemsi kokular kazandıran bu iki esterin KAD değeri soğuk maserasyon uygulamasıyla önemli oranda yükselmiştir. Girard ve ark. (2005) soğuk maserasyonun Kalecik karası şarabında olduğu gibi Pinot noir şarabında da etil hekzanoat ve etil oktanoat miktarını artırdığını bildirmişlerdir. Diğer yandan, Salinas ve ark. (2005) Monastrell şarabında tanık şarapta 3.41 mg/l olarak belirledikleri etil esterlerin miktarının 5 ºC' lik soğuk maserasyonla elde edilen şaraplarda 2.52 mg/l' ye düştüğünü saptamışlardır. Yağ asiti etil esterleri şaraplara meyvemsi-çiçeğimsi kokular kazandırmaları açısından önemli aroma maddeleridir. Etievant (1991) genç şarapların aromasıyla şarapların içerdiği etil hekzanoat, etil oktanoat, izoamil asetat, hekzil asetat ve 2-fenil asetat arasında pozitif bir ilişki olduğunu ve bu bileşiklerin miktarlarını kullanılan maya ırkı ve fermantasyon sıcaklığının etkilediğini bildirmiştir.

Hidroksi esterler olarak soğuk maserasyonla elde edilen şarapta etil-4-OH-bütanoat (3844 µg/l) ve etil-2-OH-3-fenil-propanoat (117.8 µg/l) belirlenirken, tanık şarapta sadece etil-4-OH-bütanoat (1432 µg/l) belirlenmiştir. Görüldüğü gibi soğuk maserasyon uygulaması hidroksi esterlerin miktarını artırmıştır. Şaraplarda hidroksi esterler keto asitlerin indirgenmesi sonucu oluşan hidroksi yağ asitlerinden esterifikasyon yoluyla oluşurlar (Fan ve Qian, 2006).

Kalecik karası şaraplarında ester bileşikleri arasında izoamil asetat ve etil vanilat'ta belirlenmiştir. Soğuk maserasyon uygulaması etil vanilat miktarını 98.1 µg/l' den 171.6 µg/l' ye çıkarırken, izoamil asetat miktarı üzerine bir etkisi olmamıştır. Etil vanilat şaraplara çikolata-vanilya kokusu kazandırırken (Kotseridis ve Baumes 2000), izoamil asetat muz-meyvemsi kokular kazandırmaktadır (Perestrelo ve ark, 2006).

Çizelge 4.4. Kalecik karası şarabında bazı önemli aroma maddelerinin (KAD) koku aktiflik değerleri

Aroma Maddesi	**Koku algılanma eşik değeri (mg/l)**	**KAD* (Tanık)**	**KAD* (Soğuk)**	**Verdiği koku**
İzoamil alkol	40000[a]	1.95	1.96	Kırmızı meyve
2-Fenil etil alkol	10000[a]	<1	1.41	Çiçeğimsi, gül
1-Hekzanol	500[b]	2.12	1.94	Otsu, çimen
İzoamil asetat	30[c]	2.59	2.53	Muz
Etil hekzanoat	5[a]	45.3	51.9	Çiçeğimsi-meyvemsi
Etil oktanoat	2[a]	52.9	94.3	Çiçeğimsi-meyvemsi
Bütanoik asit	173[d]	1.06	1.16	Tereyağ-peynir
Hekzanoik asit	420[d]	1.41	2.26	Yağımsı
Oktanoik asit	500[d]	1.79	2.02	Yağımsı

[a] Selli ve ark., (2004); [b] Alonso ve ark., (2009; [c] Perestrelo ve ark., 2006; [d] Vilanova ve ark., 2009.

Terpenoller: Kalecik karası şarabında terpenol olarak sitronellol (15.6 µg/l) sadece soğuk maserasyon uygulanan şarapta belirlenmiştir. Tanık şarapta terpenol belirlenmemiştir. Radeka ve ark. (2007) Malvazija (*Vitis vinifera*) üzümlerinde 7 ºC' de 30 saatlik soğuk maserasyon uygulamasının sitronellol miktarını 30 ºC' ye göre 5.55 µg/l' den 6.72 µg/l' ye çıkardığını bildirmişlerdir. Önceki çalışmalarda Selli ve ark. (2004) farklı teknolojik uygulamalarla elde ettiği Kalecik karası şaraplarında sitronellol miktarının 5 ile 86 µg/l arasında değiştiğini bildirmiştir. Ayrıca Marais (1987) şaraplardaki sitronellol miktarının olgunluğa paralel olarak yükseldiğini bildirmiştir. Sitronellol miktarı şarapta algılanma eşik değerinin (100µg/l; Guth, 1997) altında belirlenmiştir.

Uçucu Fenoller: 4-Etil gaiakol, 4-vinil gaiakol ve siringol şaraplarda uçucu fenol bileşikleri olarak tanımlanan aroma maddeleridir. 4-Vinil gaiakol sadece soğuk maserasyon uygulanan şarap örneğinde belirlenmiştir. Bu bileşiklerin toplam miktarı tanıkta 1170 µg/l ve soğuk maserasyon uygulanan şarapta 1227 µg/l' dir. Soğuk maserasyon uygulamasının uçucu fenoller üzerine belirgin bir etkisi olmamıştır. Uçucu fenollerin, şaraplara oldukça tipik kokular (karanfil, vanilya, biber gibi) kazandırdığı bilinmektedir. Bu bileşiklerin miktarı şarabın aroması üzerinde etkili olur ve bazı şarapların kendilerine özgü aromalarında önemli rol oynarlar (Bayonove ve ark., 1993). Vornam ve Sutherland (1994) uçucu fenol bileşiklerin özellikle vinil fenol ve 4-vinil gaiakol'ün birçok şarapta bulunduğunu bildirmişlerdir.

Laktonlar: Şaraplarda γ-bütirolakton, dehidromevaloniklakton, pantolakton, γ-undekalakton,γ-nonalakton, 4-etoksi karbonil-γ-bütenolakton ve 4-(1-OH etil) γ-bütanolakton lakton bileşiği olarak belirlenmiştir. Lakton bileşiklerinin miktarı γ-nonalakton ve 4-(1-OH etil) γ-bütanolakton hariç soğuk maserasyon uygulamasıyla artmıştır. Önceki çalışmalarda laktonların ve özellikle γ-laktonların şarap aromasına önemli katkıları olduğunu ve bu bileşiklerin miktarının kullanılan maya suşuna ve yıllandırmaya bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Rocha ve ark. 2004).

γ-Bütirolakton lakton bileşiklerinin büyük bir kısmını oluşturmuş ve soğuk maserasyon uygulaması bu bileşiğin miktarını bir miktar yükseltmiştir. Bu lakton bileşiği tanık şarapta 2603 µg/l ve soğuk maserasyon uygulanan şarapta 2977 µg/l' dir.

Aldehitler ve Ketonlar: Şaraplarda toplam üç aldehit (furfural, 3-etoksi-2-fenil-propenal ve 2-fenil tiyobütanal) ve bir adet keton bileşiği (asetoin) belirlenmiştir. 2-fenil tiyobütanal yalnızca tanık şarapta belirlenmiştir. Nykanen (1989) şarapta bu bileşiklerin miktarını maya metabolizması ve özellikle mayanın içerdiği dekarboksilaz aktivitesinin etkilediğini bildirmiştir.

Asetoin şaraplarda miktar olarak en fazla bulunan keton bileşiğidir ve soğuk maserasyon uygulamasıyla bu bileşiğin miktarı artmıştır ($p<0.001$). 3-Hidroksi-2-bütanon olarak da bilinen asetoinin oluşumunda fermantasyon sırasında mayalar önemli rol oynamaktadır. *Saccharomyces cerevisiae* cinsi mayalar şarapta en fazla birkaç mg/l' ye kadar asetoin oluşturma yeteneğine sahipken, apiculata cinsi mayalar

200 mg/l' ye kadar oluşturabilmektedir (Romano ve ark. 1997). Algılanma eşik değeri (150 mg/l; Cullere ve ark. 2004) oldukça yüksek olan asetoinin miktarı her iki şarap örneğinde de algılanma eşik değerinin altında belirlenmiştir. Tanık maserasyonda bu bileşiğin miktarı 1251 µg/l ve soğuk maserasyonda 1533 µg/l olarak bulunmuştur.

13 C' lu Norizoprenoidler: Şaraplarda 13 C'lu norizoprenoidlerden soğuk maserasyonla elde edilen şarap örneğinde 3-okzo-α-ionon belirlenmiştir. Bu bileşiğin miktarı 103.6 µg/l' dir. Şaraplarda norizoprenoidler karotenoidlerin doğrudan parçalanması sonucu ya da fermantasyon sırasında enzimatik veya hidrolizasyon yoluyla glikozit yapıdan serbest hale geçerek oluşmaktadırlar (Mendes-Pinto, 2009). Öte yandan, mikroorganizmalar sahip oldukları enzimler ve karotenoidleri parçalamasından dolayı da bu bileşiklerin miktarının arttığı bildirilmiştir (Bustamante ve Sanchez, 2007). Bu bileşikler, sahip oldukları oldukça düşük algılanma eşik değerleri nedeniyle şarap aromasına katkıları oldukça fazladır.

Asitler: Uçucu asitlerin miktarı tanık maserasyonla elde edilen şarapta 2623 µg/l ve soğuk maserasyon şarabında 3163 µg/l' dir. Soğuk maserasyon uygulaması uçucu asit miktarını % 20.5 oranında artırmıştır. Gallart ve ark. (1997) uçucu asitlerin şıraya meyvelerin katı kısımlarından geçtiklerini ve bu asitlerin büyük bir kısmının alkol fermantasyonu sırasında sentezlendiklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Etievant (1991) fermantasyon ortamında mayaların gelişimini engelleyebilecek koşullar (sıcaklık, pH, oksijen, azot kaynağı gibi) olduğunda asitlerin miktarı ve kompozisyonlarında değişmeler olduğunu belirtmiştir.

Hekzanoik asit ve oktanoik asit şaraplarda miktar olarak en fazla bulunan uzun zincirli yağ asitleridir. Soğuk maserasyon uygulaması bu bileşiklerin miktarlarını önemli düzeylerde artırmıştır. Hekzanoik asidin miktarı tanık şarapta 595.6 µg/l iken soğuk maserasyon uygulanan şarapta 952 µg/l; oktanoik asidin miktarı ise tanıkta 892.5 µg/l iken soğuk maserasyon uygulanan şarapta 1010 µg/l' ye yükselmiştir. Girard ve ark. (2001) soğuk maserasyon uygulamasının şaraptaki asitler üzerine belirgin bir etkisinin olmadığını, bazı asitlerin miktarı azalırken, bazılarının ise arttığını bildirmişlerdir.

Uçucu asitler sahip oldukları yüksek algılanma eşik değerleri nedeniyle şarapların aromasına katkısı oldukça düşüktür. Bu bileşikler algılanma eşik değerlerinin üzerinde şaraplara kötü kokular kazandırmaktadırlar. Kalecik karası şaraplarında asit bileşikleri içerisinde bütanoik asit, hekzanoik asit ve oktanoik asitin KAD 1' in üzerinde bulunmuş olup, soğuk maserasyon uygulaması bu bileşiklerin KAD' sini bir miktar artırmıştır (Çizelge 4.4.). Önceki çalışmalarda Selli ve ark., (2004) ve (2008) GC-Olfaktometri tekniğiyle şaraplarda uçucu asitler içerisinde oktanoik asiti aroma-aktif bileşik olarak belirlemişlerdir. Bu bileşik şaraba peynir ve ter kokusu vermektedir.

Asetaller: Asetal bileşiği olarak sadece *(Z)*-5-OH-2-metil-1,3-diokzan belirlenmiştir. Bu bileşik önceki çalışmalarda Kalecik karası şarabında belirlenmiştir (Selli ve ark. 2004).

4.5. Soğuk Maserasyon Uygulamasının Antosiyaninler Üzerine Etkisi

Kalecik karası şaraplarının antosiyanin bileşikleri Çizelge 4.5.' de ve bu bileşiklerin 520 nm'de HPLC kromatogramı Şekil 4.4.' de verilmiştir. Çizelge 4.5.' de görüldüğü gibi şaraplarda 5 adet antosiyanin-3-glikozit, 5 adet antosiyanin-3-asetil glikozit ve 4 adet antosiyanin-3-*p*-kumaril glikozit olmak üzere toplam 14 adet antosiyanin bileşiği belirlenmiştir. Antosiyanin bileşikleri içerisinde malvidin-3-glikozit ve bunun asetil ve kumaril formları Kalecik karası şaraplarında rengin temelini oluşturmaktadır. Bu bileşiklerin % dağılımı Şekil 4.5. de verilmiştir. Glikozit formundaki antosiyaninler tanıkta toplam antosiyaninlerin % 58' ni ve soğuk maserasyon uygulanan şarapta ise % 60' nı oluşturmuştur. Tanık şarapta antosiyaninlerin toplam miktarı 215.23 mg/l ve soğuk maserasyon uygulanan şarapta 250.68 mg/l olarak saptanmıştır. Önceki çalışmalarda Selli ve ark. (2004) Kalecik karası şarabında toplam antosiyanin miktarını 1998 yılında 136 mg/l ve 1999 yılında 180 mg/l olarak bildirirken; Kelebek (2009) aynı şarap örneğinde 2003 yılında toplam antosiyanin içeriğini 137.5 mg/l ve 2006 yılında ise 294.9 mg/l olarak saptamıştır. Kalecik karası şaraplarının antosiyanin içeriğinde yıllar arasında görülen farkın iklim koşullarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Soğuk maserasyon

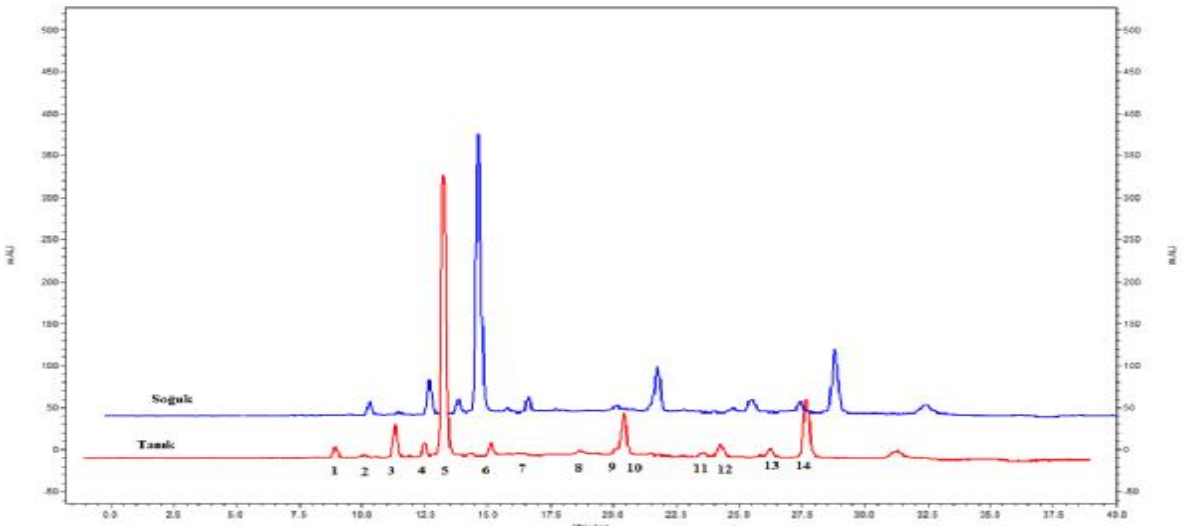
uygulaması şarapların antosiyanin miktarını tanık şaraba göre % 16.5 oranında artırmıştır. Álvarez ve ark. (2006) İspanya' da yetiştirilen Monastrell üzümlerinden elde edilen tanık şarapta toplam antosiyanin miktarını 229.17 mg/l ve 5-8 ºC arasında uygulanan soğuk maserasyonla üretilen şaraplardaki miktarını ise 257.78 mg/l olduğunu bildirmişlerdir. Parenti ve ark. (2004), Tuscan Sangiovese üzümlerinden elde edilen tanık şarapta antosiyaninlerin toplam miktarını 98 mg/l ve soğuk maserasyon uygulamasıyla (5 ºC' de azot gazı altında) elde edilen şaraplarda ise 154 mg/l olarak saptamışlardır. Benzer sonuçlar Syrah (Gomez-Miguez ve ark., 2007), Tempranillo (Álvarez ve ark., 2009) ve Cabernet sauvignon (Gil-Munoz ve ark., 2009) üzümlerinden soğuk maserasyon uygulamasıyla elde edilen şaraplarda da bulunmuştur.

Antosiyaninler içerisinde glikozit formunda olanlar bu bileşiklerin önemli bir kısmını oluşturmuştur. Glikozit formundaki antosiyaninlerin toplam miktarı tanık şarapta 125.58 mg/l iken, soğuk maserasyonla elde edilen şarapta bu miktar 150.68 mg/l' ye yükselmiştir. Gomez-Miguez ve ark. (2007) Syrah üzümlerinden elde edilen tanık şarapta (25ºC' de 6 gün cibre fermantasyonu) toplam glikozit formunda bulunan antosiyaninlerin miktarının 124.8 mg/l' den, soğuk maserasyon uygulamasıyla (15ºC' de 6 gün) 187.93 mg/l' ye yükseldiğini bildirmişlerdir. Malvidin-3-glikozit antosiyaninler içerisinde en baskın bileşiktir. Bu bileşiğin miktarı tanık şarapta 107.18 mg/l ve soğuk maserasyon uygulanan şarapta ise 129.27 mg/l olarak belirlenmiştir. Bu bileşik tanık şarapta toplam antosiyaninlerin % 49.8' ini ve soğuk maserasyonla elde edilen şarapta ise % 51.6' sını oluşturmuştur. Mazza (1995), Cabernet sauvignon, Merlot, Syrah ve Tempranillo üzümlerinden elde ettiği şaraplarda malvidin-3-glikozitin % 44.4-69.4 arasında değiştiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Gomez-Plaza ve ark. (2001), Monastrell şaraplarında antosiyaninlerin önemli bir kısmını glikozitlerin oluşturduğunu ve bu bileşiklerin içerisinde malvidin-3-glikozitin %62-65 arasında değiştiğini saptamışlardır. Soğuk maserasyon uygulaması malvidin-3-glikozit miktarını % 21.0 oranında yükseltmiştir.

Çizelge 4.5. Şaraplardaki antosiyaninlerin bileşimi

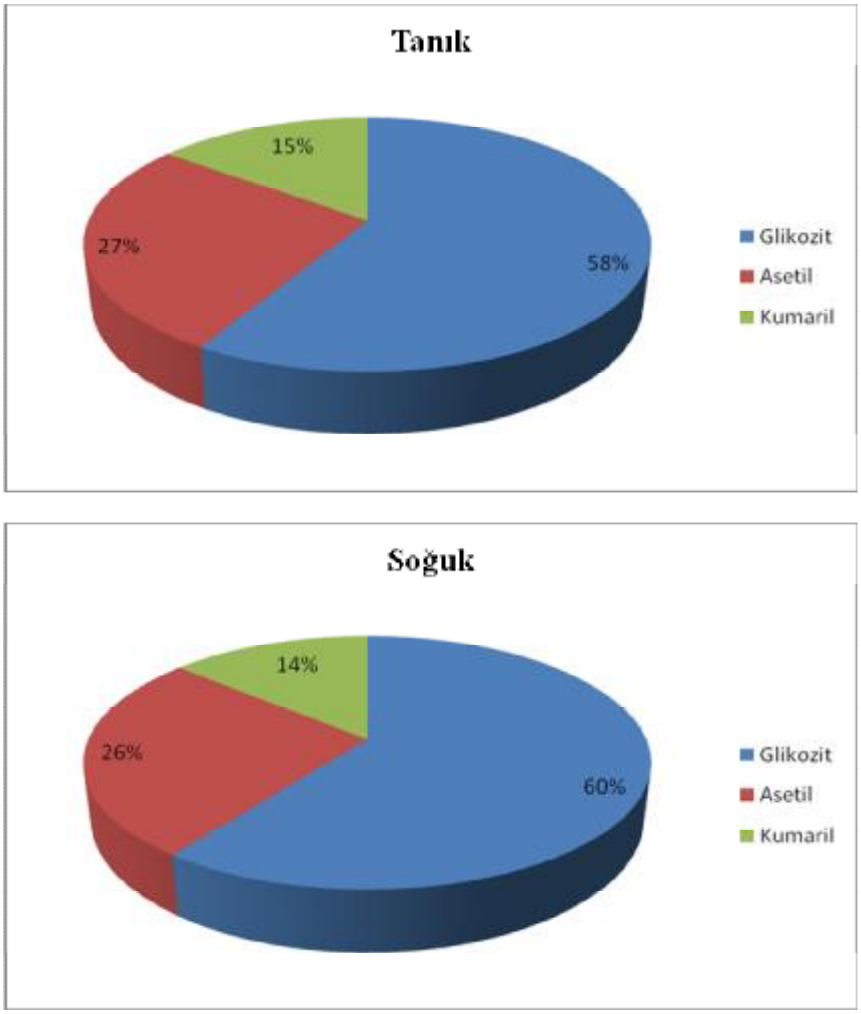
ANTOSİYANİNLER	**Pik no**	**Tanık (mg/l)**	**Soğuk (mg/l)**	**F***
Delfinidin-3-glikozit	1	2.96±0.06	3.36±0.03	ö.d.
Siyanidin-3-glikozit	2	1.24±0.07	1.48±0.09	ö.d.
Petunidin-3-glikozit	3	8.39±0.05	9.79±0.28	ö.d.
Peonidin-3-glikozit	4	5.81±0.04	6.78±0.19	ö.d.
Malvidin-3-glikozit	5	107.18±0.09	129.27±1.19	ö.d.
Delfinidin-3-asetil glikozit	6	1.18±0.14	1.45±0.13	ö.d.
Siyanidin-3-asetil glikozit	7	0.75±0.16	0.81±0.07	ö.d.
Petunidin-3- asetil glikozit	8	2.69±0.17	3.07±0.00	ö.d.
Peonidin-3- asetil glikozit	9	4.63±0.49	5.21±0.12	ö.d.
Malvidin-3- asetil glikozit	10	48.86±0.93	55.34±1.14	ö.d.
Delfinidin-3-*p*-kumaril glikozit	11	1.51±0.01	1.76±0.05	ö.d.
Petunidin-3-*p*-kumaril glikozit	12	1.40±0.16	1.57±0.04	ö.d.
Peonidin-3-*p*-kumaril glikozit	13	2.80±0.02	3.18±0.02	ö.d.
Malvidin-3-*p*-kumaril glikozit	14	25.83±0.44	27.61±0.78	ö.d.
Toplam		**215.23**	**250.68**	ö.d.

*F: Varyans analizine göre farklılık durumu. ö.d. : $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$ önem düzeyinde önemsizdir.



Şekil.4.4. Şaraplardaki antosiyaninlerin 520 nm'de kaydedilen HPLC kromatogramı
(1: delfinidin-3-glikozit; 2: siyanidin-3- glikozit; 3: petunidin-3- glikozit; 4: peonidin-3- glikozit; 5: malvidin-3- glikozit; 6: delfinidin -3- glikozit -asetil; 7: cyanidin-3- glikozit - asetil; 8: petunidin-3- glikozit - asetil; 9: peonidin-3- glikozit - asetil; 10: malvidin-3- glikozit - asetil; 11: delfinidin -3- glikozit -*p*-kumaril; 12: petunidin-3- glikozit -*p*- kumaril; 13: peonidin-3- glikozit -*p*- kumaril; 14: malvidin-3- glikozit -*p*- kumaril).

Benzer bulgular İspanyol Monastrell şarabında da bildirilmiştir (Álvarez ve ark., 2006). Araştırmacılar tanık şarapta malvidin-3-glikozit miktarını 167.42 mg/l olarak saptarken, soğuk maserasyon uygulamasının bu bileşiğin miktarını 184.99 mg/l' ye çıkardığını vurgulamışlardır. Her iki şarapta glikozit formunda malvidin-3-glikozitten sonra miktar olarak en fazla petunidin-3-glikozit bulunmuş ve bunu peonidin-3-glikozit izlemiştir (Çizelge 4.5.). Siyanidin-3-glikozit en düşük konsantrasyonda bulunan glikozit yapıda antosiyanin olup, bu bileşiğin miktarı tanıkta 1.24 mg/l iken, soğuk maserasyon şarabında 1.48 mg/l olarak saptanmıştır.



Şekil 4.5. Tanık ve soğuk maserasyon şaraplarındaki antosiyaninlerin % dağılımı

Antosiyanin bileşiklerinin asetil formunda delfinidin-3-asetil glikozit, siyanidin-3-asetil glikozit, petunidin-3-asetil glikozit belirlenmiştir. Tanık şarapta asetil formundaki antosiyaninlerin toplam miktarı 58.11 mg/l ve soğuk maserasyon uygulanan şaraplarda ise 65.88 mg/l' dir. Soğuk maserasyon uygulaması bu bileşiklerin miktarını % 13.4 oranında artırmıştır. Benzer şekilde Gomez-Miguez ve ark. (2007) Syrah üzümlerine uygulanan soğuk maserasyon uygulamasının şarapların asetil formundaki antosiyaninlerin toplam miktarını 53.29 mg/l' den 103.65 mg/l' ye artırdığını bildirmişlerdir. Asetil formundaki bileşikler içerisinde malvidin-3-glikozit en baskın olan bileşiktir. Bu bileşiğin miktarı tanıkta 48.86 mg/l' den soğuk

maserasyon uygulaması ile 55.34 mg/l' ye çıkmıştır. Önceki araştırmalarda malvidin-3-asetil glikozit miktarı Öküzgözü şaraplarında cibre fermantasyonu süresine bağlı olarak 1.61-64.42 mg/l, Boğazkere şaraplarında 1.31-47.23 mg/l arasında (Kelebek, 2009) ve Monastrell şarabında 1.35-2.37 mg/l (Álvarez ve ark., 2006) arasında değiştiği bildirilmiştir. Kalecik karası şaraplarında peonidin-3-asetil glikozit ve petunudin-3- asetil glikozit miktar olarak malvidin-3-asetil glikozitten sonra en fazla bulunan bileşiklerdir. Soğuk maserasyon uygulaması bu bileşiklerin de miktarını artırmıştır.

Kumaril formunda antosiyanin bileşikleri olarak delfinidin-3-*p*-kumaril glikozit, petunidin-3-*p*-kumaril glikozit, peonidin-3-*p*-kumaril glikozit ve malvidin-3-*p*-kumaril glikozit bileşikleri belirlenmiştir. Kumaril yapıdaki antosiyaninler tanıkta toplam antosiyaninlerin % 15' ni, soğuk maserasyon uygulanan şarapta ise % 14' nü oluşturmuştur. Gonzalez-Neves ve ark. (2007) Tannat şaraplarında kumaril formdaki antosiyaninlerin oranını % 9 ve Merlot şaraplarında ise % 12 olduğunu bildirmişlerdir. Bu bileşikler içerisinde malvidin-3-*p*-kumaril glikozit ve asetil formunda olduğu gibi en baskın bileşiktir. Bu bileşiğin miktarı tanık şarapta 48.86 mg/l iken soğuk maserasyon uygulamasıyla 55.34 mg/l' ye çıkmıştır. Kumaril glikozitler içerisinde siyanidin tanık ve soğuk maserasyon uygulamasıyla elde edilen şaraplarda belirlenmemiştir.

4.6. Şarapların Duyusal Özellikleri

Şarap örneklerinin duyusal analiz sonuçları Çizelge 4.6.'de verilmiştir. Duyusal analizlerde üçgen test ve lezzet profil testi uygulanmıştır.

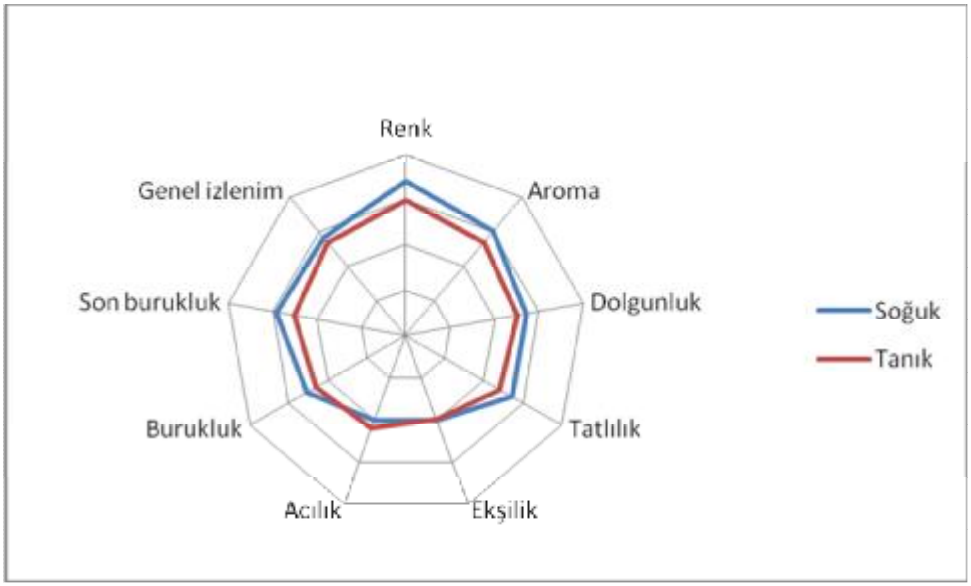
Çizelge 4.6. Şarapların duyusal özellikleri

Kıyaslanan Örnekler	**Farkı Belirleyen Panelist Sayısı**	**Uygulanan İşlemi Tercih Eden Panelist Sayısı**
Tanık şarap ve Soğuk maserasyon şarabı	7*	5*

* : % 5 güven sınırında önemli

Üçgen test yöntemine göre duyusal analizde, 7 panelistin hepsi, soğuk maserasyonla geleneksel yöntemi ayırt etmiş ve 7 panelistten 5' i soğuk maserasyonla elde edilen şarabı tercih etmiştir. Doğru yanıt veren panelist sayısına göre örnekler arasındaki fark % 5 güven sınırında önemli bulunmuştur.

Lezzet profili analizinde şaraplar renk, aroma, dolgunluk, tatlılık, ekşilik, acılık, burukluk, son burukluk, ve genel izlenim açısından değerlendirilmiştir. Lezzet profil analizleri sonucunda soğuk maserasyonla elde edilen şaraplar özellikle renk, dolgunluk ve burukluk açısından daha yüksek puanlar almıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Duyusal analiz sonuçlarının örümcek ağı diyagramı

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu araştırmada, Kalecik karası üzümlerinden elde edilen şarapların aroma maddeleri ve antosiyanin bileşimleri incelenmiş ve fermantasyon öncesi uygulanan soğuk maserasyon uygulamasının bu bileşikler üzerine etkileri araştırılmıştır.

Bu araştırmadan elde edilen bulguları aşağıdaki şekilde özetlemek mümkündür:

1) Şarapta aroma maddelerinin önemli bir kısmını yüksek alkoller ve esterler oluşturmuştur. Tanık şarapta toplam 48 adet ve soğuk maserasyon şarabında 57 adet aroma maddesi belirlenmiştir. Soğuk maserasyon uygulaması hem aroma maddeleri sayısını ve hem de miktarını önemli düzeyde artırmıştır.

2) Şaraplarda karakteristik kokunun oluşumunda koku aktiflik değerlerine göre öne çıkan aroma maddeleri meyvemsi kokulardan sorumlu etil oktanoat ve etil hekzanoat olup, bu bileşiklerin miktarı soğuk maserasyon uygulamasıyla önemli düzeyde artmıştır.

3) Kalecik karası şaraplarında 5'i glikozit, 5'i asetil ve 4'ü kumaril formda olmak üzere toplam 14 adet antosiyanin belirlenmiştir. Antosiyanin bileşiklerinin önemli bir kısmını malvidin-3-glikozit ve bunun asetil ve kumaril formları oluşturmuştur. Soğuk maserasyon uygulaması bu bileşiklerin miktarını tanığa göre yükseltmiştir.

4) Duyusal değerlendirmelerde soğuk maserasyonla elde edilen şaraplar panelistler tarafından tanık şaraba göre daha çok tercih edilmiştir.

Bu bulgular göz önünde bulundurularak, ülkemizin önemli siyah şaraplık çeşitlerinden biri olan Kalecik karası üzümleri üzerinde benzer araştırmalar sürdürülmeli ve elde edilen verilerle bu çeşidin karakteristik özelliklerine daha belirgin bir nitelik kazandırılmalıdır. Öte yandan, soğuk maserasyon uygulamalarında farklı sıcaklık ve sürelerin çalışılması bu çeşidin aroma ve antosiyanin profilinin geliştirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

AKMAN, A.V. ve YAZICIOĞLU, T., 1960. Fermantasyon Teknolojisi, Cilt 2, Şarap Kimyası ve Teknolojisi, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 160, Ankara.

AKMAN, A.V., 1962. Şarap Analiz Metotları. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 33, Ankara (272)s.

ÁLVAREZ, I., ALEIXANDRE, J.L., GARCIA, M.J., LIZAMA, V., 2006. Impact of Prefermentative Maceration on the Phenolic and Volatile Compounds in Monastrell Red Wines. Analytica Chimica Acta. 563, 109-115.

ÁLVAREZ, I., ALEIXANDRE, J. L., GARCIA, M.J., LIZAMA, V., ALEIXANDRE-TUDO, J.L., 2009. Effect of the Prefermentative Addition of Copigments on the Polyphenolic Composition of Tempranillo wines after malolactic fermantation. European Food Research and Technology. 228, 501-510

ALONSO, A., GARCIA-ALIAGA, R., GARCIA-MARTINEZ, S., RUIZ, J.J., CARBONELL-BARRACHINA, A.A., (2009). Characterization of Spanish Tomatoes using Aroma Composition and Discriminant Analysis. Food Science Technology International. 15, 47-55

AMERINE, M.A., BERG, H.V., KUNKEE, R.E., OUGH, C.S., SINGLETON, V.L., WEBB, A.D., 1980. The Technology of Wine Making. The AVI Publishing Company, Inc. Vesport, Connecticut, 797 s.

ANONYMOUS, 1990. Recueil des Methodes Internationales D'Analyse des Vins et des Mouts, Office International de la Vigne et du Vin, Paris, 368 s.

BAKKER, J., 1986. HPLC of Anthocyanins in Port Wines: Determination of Ageing Rates. *Vitis*, 25, 203-214.

BAYONOVE, C., GÜNATA, Z., SAPIS, J.C., DUGELAY, I., BAUMES, R.L., RAZUNGLES, A., 1993. Le potentiel aromatique du raisin et son evolution dans le vin: quelques exemples caractéristiques. in Symp. Intern. Connaissance Aromatique de cépages et qualité des vins, Montpellier-Le Corum, 9-10 Février 1993, C. Bayonove, J. Crouzet, C. Flanzy, J.C. Martin, J.C. Sapis (Eds). Imp. Prim'vert, Béziers, France, p:2-11.

BERRY D.R., WATSON, D.C., 1987. Production of Organoleptic Compounds. In Yeast Biotechnology, Eds. D.R. Berry, I. Russell ve G.G. Stewart, Allen-Unwin, London, pp: 345–368.

BOULTON, R.B., SINGLETON, V.L., BISSON, L.F., KUNKEE, R.E., 1996. Principles and Practises of Wine Making, Chaman Hall, New York, pp(604).

BROUILLARD,R., DANGLES, O., 1994. Anthocyanin Molecular Interaction: The First Step in the Formation of New Pigments During Wine Aging. Food Chemistry, 51, 365-371.

BUSTAMANTE-RODRIGUEZ, E., SANCHEZ, S., 2007. Microbial Production C13-Norisoprenoids and Other Aroma Compounds Via Carotenoid Cleavage. Summer Critical Reviews in Microbiology, 33, 211-230.

CABAROĞLU T., 1995. Nevşehir- Ürgüp yöresinde yetiştirilen beyaz Emir üzümünün ve bu üzümden elde edilen şarapların aroma maddeleri üzerinde araştırmalar. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, ADANA 156 s.

CANBAŞ, A., 1976. Şaraplarda Fenol Bileşiklerinin Önemi ve Şarap Yapımında Fenol Bileşikleri Miktarını Belirleyen Faktörler. Türkiye III. Endüstriyel Şarapçılık Kongresi, Türkiye Ticaret Odaları, Sanayi Odaları Birliği, Ankara, 125-144.

_____, 1978. Nevşehir-Ürgüp çevresi Dimrit Üzümlerinden Daha İyi Kalitede Kırmızı Şarap Elde Etme Olanakları Üzerinde Teknolojik Araştırmalar. Doçentlik Tezi, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Adana, (138)s.

_____, 1981. Üzümlerin Şaraplık Değerini Belirleyen Ölçütler, Türkiye I. Bağcılık Sempozyumu, 14-19 Eylül 1981, Tekirdağ.

_____, 1983a. Portakal Şarabı Üzerinde Deneme. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ADANA.

_____, 1983b. Şaraplarda Fenol Bileşikleri ve Bunların Analiz Yöntemleri. Tekel Enstitüleri, Yayın No: Tekel 279 EM/003, İstanbul, (16)s.

_____,1985. Piyasadan Sağlanan Bazı Kırmızı Şarapların Fenol Bileşikleri Miktarları. *Gıda*, 10, 3-10.

CANBAŞ, A., ÜNAL Ü., 1994. Adana' da Yetiştirilen Bazı Portakal Çeşitlerinin Şaraplık Değerleri Üzerinde Bir Araştırma, Tr. Journal of Agriculture Forestry. 18.

CANBAŞ, A., ÜNAL, Ü., DERYAOĞLU, A., ERTEN, H., CABAROĞLU, T., 1995. Elazığ Yöresi Şaraplık Öküzgözü ve Boğazkere Üzümleri Üzerinde Teknolojik Araştırmalar. I. A 1988 ve 1989 Yılı Denemeleri. Gıda, 20, 281-288.

CANBAŞ, A., ERTEN, H., CABAROĞLU, T., NURGEL, C., SELLİ, S., 2000. Önemli Bazı Üzüm Çeşitlerinin Şaraplık Değerlerinin Belirlenmesi ve Elde Edilen Şarapların Kalitesinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Sempozyumu, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, ANKARA, 1-17.

CANBAŞ, A., 2007. Şarap Teknolojisi Ders Notları, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ADANA.

CEMEROĞLU, B., YEMENİCİOĞLU, A., 2001. Meyve ve Sebzelerin (Bileşimi), İşleme Teknolojisi. Ankara, 77-107.

CULLERE, L., ESCUDERO, A., CACHO, J., FERRIRA, V., 2004. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six Premium quality Spanish aged red wines. Journal of Agricultural Food Chemistry 24, 1653-1660.

DARIAS-MARTIN, J., RORIGUEZ, O., DIAZ, E., LAMUELA-RAVENTÓS, R., 2000. Effect of Skin Contact on the Phenolics in White Wine. Food Chemistry, 71, 483-487.

DELGADO-VARGAS, F., JIMENEZ, A.R., PAREDES-LOPEZ, O., 2000. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing and Stability. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 40, 173-289.

DERYAOĞLU, A., COLIN, J.L., CANBAŞ., 1997. Öküzgözü ve Boğazkere Üzümlerinden Elde Edilen Şaraplardaki Fenol Bileşikleri Üzerine Cibre Fermantasyonu Süresinin Etkisi. Gıda, 22, 337-343.

EBELER, E.S., TERRIEN, M.B., BUTZKE, C.E., 2000. Analysis of brandy aroma by solid phase microextraction and liquid-liquid extraction, Journal of the Science Food and Agriculture. 80, 625-630.

ERTEN H., CANBAŞ A., 2003. Alkol fermantasyonu sırasında oluşan aroma maddeleri. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ADANA.

ETIEVANT, P., 1991. Wine. In Volatile Compounds in Foods and Beverages. Eds. H. Maarse, Marcel Dekker, New York, pp:483–546.

FALQUE, E., FERNANDEZ, E., & DUBOURDIEU, D. (2002). Volatile components of Loureira, Dona Branca, and Treixadura wines. Journal of Agriculture Food and Chemistry, 50, 538–543.

FAN, W., QIAN, M.C., 2006. Characterization of Aroma Compounds of Chinese "Wuliangye" and "Jiannanchun" Liquors by Aroma Extract Dilution Analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 5221-5228.

FANG, Y., QIAN, M.C., 2006. Quantification of Selected Aroma-Active Compounds in Pinot Noir Wines from Different Grape Maturities. Journal of Agriculture. Food Chemistry. 54, 8567-8573.

FARKAS, J., 1988. Technology and Biochemistry of Wine Volume 1, Gorden and Breach Science Pub. New York, (388)s.

FERREIRA, V., FERNANDEZ, P., GRACIA, J.P., CACHO, J.F., 1995. Identification of Volatile Constituents in Wines from *Vitis vinifera* var. Vidadillo and Sensory Contribution of The Different Wine Flavour Fractions. Journal of the Science of Food and Agriculture 69, 299–310.

FERREIRA, V., LOPEZ, R., ESCUDERO, A., CACHO, J.F., 1998. The aroma of Grenache red wine: hierarchy and nature of its main odorants. Journal Science of Food Agriculture. 77, 259-267.

FİDAN, 1975. Şarap Analiz Yöntemleri. Tekel Ens. Yayın No: 18, s(176), İstanbul.

FREITAS, V., CRUZ, H., SILVIA, C., MACHADO, J.M., 1998. Compositional Changes of Condansed Tannins and Anthocyanidins in Grapes of Red *Vitis Vinifera* Varieties from Douro Vineyard. Polyphénols Communications 98,

XIXémes Journees Internationales d'Etude des Polyphénols, Lille, France, 379-380.

GALLART, M., FRANCIOLI, S., VIU-MARCO, A., LOPEZ-TAMAMEZ, E., BUXADERAS, S., 1997. Determination of Free Fatty Acids and Their Ethyl Esters in Musts and Wines. Journal of Chromatography A, 776, 283-291.

GERBAUX, V., VINCENT, B., BERTRAND, A., 2002. Influence of Maceration Temperature and Enzymes on the Content of Volatile Phenols in Pinot Noir Wines. American Journal of Enology and Viticulture, 53, 131-137.

GIL-MUNOZ, R., MORENO-PÉREZ, A., VILLA-LOPEZ, R., FERNANDEZ-FERNANDEZ, J.I., MARTINEZ-CUTILLAS, A., GOMEZ-PLAZA, E., 2009. Influence of Low Temperature Prefermentative Techniques on Chromatic and Phenolics Characteristics of Syrah and Cabernet Sauvignon Wines, European Food Research and Technology. 228,777-788.

GIRARD, B., KOPP, T.G., REYNOLDS, A.G., CLIFF, M., 1996. Influence of Vinification Treatments on Aroma Constituents and Sensory Descriptors of Pinot Noir Wines. American Journal of Enology and Viticulture, 48, 198-206.

GIRARD,B., YUKSEL, D., CLIFF, M.A., DELAQUIS, P., REYNOLDS, A.G., 2000. Vinification Effects on the Sensory, Colour and GC Profiles of Pinot noir Wines From British Columbia. Food Research International 34, 483-499.

GLORIES, Y., 1999. Substances Responsible for Astringency, Bitterness and Colour. Journal International Des Sciences De Vigne De Vin, Wine-Tasting (English Edition), 107-110.

GLORIES, Y., 2001. Caractérisation du Potantiel Phénolique: Adaptation de la Vinification. Progres et Viticole, 118, No: 15-16, 347-350.

GÓMEZ-PLAZA, E., GIL-MUNOZ, R., LÓPEZ-ROCA, J.M., MARTINEZ-CUTILLAS, A., FERNANDEZ, J.I., 2001. Phenolic compounds and color stability of red wines: Effect of skin maceration time. American Journal of Enology and Viticulture. 52, 266-270.

GÓMEZ-PLAZA, E., GIL-MUNOZ, R., LÓPEZ-ROCA, J.M., MARTINEZ-CUTILLAS, A., FERNANDEZ, J.I., 2002. Maintenance of Color Composition of a Red Wine During Storage. Influence of Prefermantative

Practies, Maceration Time and Storages. Lebensm-Wiss. U-Technol. 38, 46-53.

GOMEZ-MIGUEZ, M., GONZALEZ-MIRET, M.L., HEREDIA, F.J., 2007. Evolution of Colour and Anthocyanin Composition of Syrah Wines Elaborated with Pre-fermentative Cold Maceration. Journal of Food Engineering. 79, 271-278.

GOMEZ-MINGUEZ, M.J., CACHO, J.F., FERREIRA, V., VICARIO, I.M., HEREDIA, F.J., 2007. Volatile Components of Zalema White Wines. Food Chemistry. 100, 1464–1473.

GONZALEZ-NEVES, G., FRANCO, J., BARREIRO, L., GIL, G., MOUTOUNET, M., CARBONNEAU, 2007. Varietal differentiation of Tannat, Cabernet Sauvignon and Merlot grapes and wines according to their anthocyanic composition. European Food Research and Technology. 225, 111-117.

GUTH, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. Journal of Agriculture Food and Chemistry. 45, 3027–3032.

GUYMON, J. F., 1970. Composition of California Commercial Brendi Distilates. American Journal of Enology and Viticulture. 21, 61-69.

HEREIDIA, F.J., ESCUDERO-GILETE, M.L., HERNANZ, D., GORDILO, B., MELENDEZ-MARTINEZ, A.J., VICARIO, I.M., GONZALEZ-MIRET, M.L., 2010. Influence of the Refrigeration Technique on the Colour and Phenolic Composition of Syrah Red Wines Obtained by Pre-fermentative Cold Maceration. Food Chemistry. 118, 377-383.

JACKSON, D., SCHUSTER, D., 1987. The Production of Grapes & Wine in Cool Climates. Butterworts Horticultural Books. 150-153s.

KELEBEK, H., 2003. Boğazkere Üzümünün ve Bu Üzümden Elde Edilen Şarabın Antosiyanin Bileşimi Üzerinde Araştırma. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, ADANA, 78 s.

KELEBEK, H., CANBAŞ, A., SELLİ, S., 2007. HPLC-DAD-MS Analysis of Anthocyanins in Rose Wine Made From cv. Öküzgözü Grapes, and Effect of Maceration Time on Anthocyanin Content. Chromatographia. 66, 207-212.

KELEBEK, H., ve CANBAŞ, A., 2008. Denizli Yöresi Öküzgözü Üzümlerinin Antosiyanin ve Renk Bileşimleri Üzerine Cibre Fermantasyonu Süresinin Etkisi. Ulusal Bağcılık-Şarap Sempozyumu ve Sergisi 6-8 Kasım 2008. Denizli.

KELEBEK, H., CANBAŞ, A., CABAROĞLU, T., ERTEN, H., SELLİ, S., 2008. Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik Karası Üzümlerinin ve Bu Üzümlerden Elde Edilen Şarapların Genel Özellikleri. Ulusal Bağcılık-Şarap Sempozyumu ve Sergisi 6-8 Kasım 2008. Denizli.

KELEBEK, H., 2009. Değişik Bölgelerde Yetiştirilen Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik karası Üzümlerinin ve Bu Üzümlerden Elde Edilen Şarapların Fenol Bileşikleri Profili Üzerinde Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı- Doktora Tezi 255 s.

KELEBEK, H., CANBAŞ, A., SELLİ, S., 2009. Effects of Different Maceration Times and Pectolytic Enzyme Addition on the Anthocyanin Composition of *Vitis vinifera* cv. Kalecik karası Wines. Journal of Food Processing and Preservation. 33, 296-311.

KOMES, D., ULRICH, D., LOVRIC, T., 2005. Characterization of Odor-Active Compounds in Crotian Rhine Riesling Wine, Subregion Zagorje. European Food Research and Technology. 222, 1-7.

KONTEK, A., RADULESCU, V., 1998. Phenolics Composition of Red Wines Related With Very Long Maceration Time. Polyphénols Communications 98, XIX^{émes} Journees Internationales d'Etude Des Polyphénols, Lille, France, 345-346.

KOTSERIDIS, Y., RAZUNGLES, A., BERTRAND, A., BAUMES, R. (2000). Differentiation of the aroma of Merlot and Cabernet sauvignon wines using sensory and instrumental analysis. Journal of Agriculture Food and Chemistry. 48, 5383–5388.

KOTSERIDIS, Y., BAUMES, R., 2000. Identification of Impact Odorants in Bordeaux Red Grape Juice, in the Commercial Yeast Used for Its Fermentation, and in the Produced Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48, 400-406.

MARAIS, J., 1987. Terpen concentrations and wine quality of *Vitis vinifera* L. cv. Gewürztraminer as affected by grape maturity and cellar practices, Vitis. 26, 231-245.

MATEUS, N., PASCUAL-TERESA, S., RIVAS-GONZALO, C., 2002. Structural Diversity of Anthocyanin-Derived Pigments in Port Wines. Food Chemistry. 76, 335-342.

MAZZA, G., 1995. Anthocyanin in Grape and Grape Products. CRC Critical Rewievs in Food Science and Nutrition. 35, 341-371.

MAZZA, G., FUKUMOTO, L., DELAQUIS, P., GIRARD, B., EWERT, B., 1999. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet franc, Merlot, and Pinot noir wines from British Columbia. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 4009-4017.

MENDES-PINTO, M.M., 2009. Carotenoid Breakdown Products The Norisoprenoids in Wine aroma. Archives of Biochemistry and Biophysics. 483, 236-245.

NAGEL, C., WULF, L., 1979. Changes in the Anthocyanins, Flavonoids and Hydroxycinnamic Acid Esters During Fermentation and Aging of Merlot and Cabernet Sauvignon. American Journal of Enology and Viticulture. 30, 111-116.

NAVARRE, C., 1988. L'Oenologie, Technic & Documents., Lavoisier, Paris, 331 (s).

NETZEL, M., STRASS, G., BITSCH, I., KONITZ, R., CHRISTMANN, M., BITSCH, R., 2003. Effect of Grape Processing on Selected Antioxidant Phenolics in Red Wine. Journal of Food Engineering. 56, 223-228.

NURGEL, C., ERTEN, H., CANBAŞ, A., CABAROĞLU, T., SELLİ, S., 2002. Contribution by *Saccharomyces cerevisiae* Yeasts to Fermentation and Flavour Compound in Wines from cv. Kalecik karası Grape. Journal of the Institute of Brewing. 108, 68–72.

NYKANEN, L., SUOMALAINEN, A., 1989. Aroma of beer. wine and distilled alcoholic beverages, D. Reider Publishing Company, London.

OUGH, C.S., AMERINE, M.A., 1988. Methods for Analysis of Must and Wines, John Wiley and Sons, New York.

PARENTI, A., SPUGNOLI, P., CALAMAI,L., FERRARI, S., GORI, C., 2004. Effects of Cold Maceration on Red Wine Quality From Tuscan Sangiovese Grape. European Food Research and Technology. 218, 360-366.

PERESTRELO, R., FERNANDES, A., ALBUQUERQUE, F.F., MARQUES, J.C., CAMARA, J.S., 2006. Analytical Characterization of the Aroma of Tinta Negra Mole red wine: Identification of The Main Odorants Compounds. Analytica Chimica Acta. 56, 154–164.

PEREZ-COELLO, M.S., BRIONES PEREZ, A.I., UBEDA IRANZO, J.F., MARTIN ÁLVAREZ, P.J., 1999. Characteristics of Wines Fermented with Different Saccharomyces cerevisiae Strains Isolated from the La Mancha Region. Food Microbiology. 16, 563–573.

RADEKA, S., HERJAVEC, S., PERSURIC, D., LUKIC, I., SLADONJA, B., 2007. Effect of Different Maceration Treatments on Free and Bound Varietal Aroma Compounds in Wine of *Vitis vinifera* L. Cv. Malvazija Istarska Bijela. Food Technology Biotechnology. 46, 86-92.

REVILLA, E., RYAN, J. M., MARTIN-ORTEGA, G., 1998. Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 4592–4597.

REVILLA, I., LUISA, M., GONZÁLEZ-SANJOZÉ, L., 2001. Evolution Durin the Storage of Red Wines Treated with Pectolytic Enzymes: New Anthocyanin Pigment Formation. Journal of Wine Research. 12, 183-197.

RIBÉREAU-GAYON, P.,1982. The Anthocyanins of Grapes and Wines. Anthocyanins as Food Colors. Academics Pres, Inc., Orlando, FL. 209-243.

RIBÉREAU –GAYON, P., GLORIES, Y., 1986. Phenolics in Grapes and Wine. Proceeding of the Sixt Australian Wine Industry Technical Conference, Terry Lee, Adelaide, South Australia. 247-256.

RIBÉREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., DUBOURDIEAU., 2000. Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments. John Wiley and Sons Ltd.

ROCHA, S.M., RODRIGUES, F., COUTINHO, P., DELGADILLO, I., COIMBRA, M.A., 2004. Volatile composition of Baga red wine Assessment of the identification of the would-be impact odourants. Analytica Chimica Acta. 513, 257-262

ROMANO, P., SUZZI, G., COMI, G., ZIRONI, R., MAIFREDI, M., 1997. Glycerol and other fermentation products of apiculate wine yeasts. Journal of Applied Microbiology, 82, 615-618.

ROTTER, B., 2008. Prefermantation Cold Maceration. www.brsquared.org/wine

SALINAS, M.R., GARIJA, J., PARDO, F., ZALACAIN, A., ALONSO, G.L., 2005. Influence of Prefermentative Maceration Temperature on the Colour and the Phenolic and Volatile Composition of Rosé Wines. Journal of the Science of Food and Agriculture. 85, 1527-1536.

SELLİ, S., CABAROĞLU, T., CANBAŞ, A., ERTEN, H., NURGEL, C., LEPOUTRE, J.P., GUNATA, Z., 2004. Volatile Composition of Red Wine from cv. Kalecik Karası Grown in Central Anatolia. Food Chemistry. 85, 207-213.

SELLİ, S., 2004. Kalecik Karası, Bornova Misketi ve Narince Üzümlerinin Aroma Maddeleri ve Bu Üzümlerden Elde Edilen Şarapların Aroma Maddeleri Üzerine Kabuk Maserasyonu ve Glikozidaz Enziminin Etkileri. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, ADANA, 179 s.

SELLİ, S., CANBAŞ, A., VARLET, V., KELEBEK, H., PROST, C., SEROT, T., 2008. Characterization of The Most Odor-Active Volatiles of Orange Wine Made from a Turkish cv. Kozan (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56, 227–234.

SIMS, C.A. and MORRIS, J.R., 1985. A Comparision of the Color Components and Color Stabilty of Red Wine from Noble and Cabernet Sauvignon at Various pH Levels. American Journal of Enology and Viticulture. 36, 181-184.

SIMS, C.A., BATES, R.P., 1994. Effect of skin Fermentation Time on the Phenols, Anthocyanins, Ellagic Acid Sediment, and Sensory Characteristics of a Red Vitis rotundifolia Wine. American Journal of Enology and Viticulture 45, 56-62.

SOMERS, T.C., EVANS, M.E., 1974. Wine Quality: Correlations with Colour Density and Anthocyanin Equilibria in a Group of Young Red Wines. Journal of the Science of Food and Agriculture 25, 1369-1379.

SOMERS, T.C., ZIEMELIS, G., 1985. Spectral Evoluation of Total Phenolics Components in *Vitis vinifera*: Grapes and Wines. 36, 1275-1284.

SOQUET, J.M., CHEYNIER, V., MOUTOUNET, M., 1998. Phenolics Composition of Grape Stems. Polyphenol Communication 98, XIXth International Conference on Polyohenols, Lille (France), 1-4 September, 359-360.

TORRENS, J., URPI, P., RIU-AUMATELL, M., VICHI, S., LOPEZ-TAMAMES, E., BUXADERAS, S., 2008. Different Commercial Yeast Strains Affecting The Volatile and Sensory Profile of Cava Base Wine. International Journal of Food Microbiology. 124, 48–57.

TSANOVA-SAVOVA, S., DIMOV, S., RIBAROVA, F., 2002. Anthocyanins and Color Variables of Bulgarian Aged Red Wines. Journal of Food Composition and Analysis. 15, 647-654.

VALERO, E., MOYANO, L., MILLAN, M. C., MEDINA, M., & ORTEGA, J. M., (2002). Higher alcohols, and esters production by *Saccharomyces cerevisiae*. Influence of the initial oxygenation of the grape must. Food Chemistry. 78, 57–61.

VILA, D.H., MIRA, J.H., LUCENA, R.B., RECAMALES, A.F., 1999. Optimization of an extraction method of aroma compounds in white wine using ultrasound, Talanta. 50, 413-421.

VİLANOVA, M., GENİSHEVA, Z., BESCANSA, L., MASA,A., OLİVEİRA, J.M., 2009. Volatile composition of wines from cvs. Blanco lexitimo, Agudelo and Serrado (*Vitis vinifera*) grown in Betanzos (NW Spain). Journal of Institute of Brewing. 115, 35-40

VORNAM, A.H., SUTHERLAND, J.P., 1994. Beverages, Technology, Chemistry and Microbiology, Chapman and Hall, 386-392.

YOKOTSUKA, K., NAGAO, A., NAKAZAWA, K., SATO, M., 1999. Changes in Anthocyanins in Berry Skin of Merlot and Cabernet Sauvignon Grapes Grown in Two Soil Modified With Limestone or Oyster Shell Versus a Native Soil Over Two Years. American Journal of Enology and Viticulture, 50, 1-12

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Adana' da doğdu. İlkokul 5. Sınıfın II. dönemine kadar Batman' da öğrenim gördü. 5. sınıf II. dönemi, orta ve lise öğrenimimi Adana' da tamamladı. 2002 yılında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazandı ve 2007 yılında bu bölümden mezun oldu. 2007 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalın'ında yüksek lisans öğrenimine başladı ve hala devam etmekte.