

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Abdullah ÖZONUR

**BEYAZ ŞARAP ÜRETİMİNDE *Metschnikowia pulcherrima*
MAYASININ SAF VE KARIŞIK KÜLTÜR
FERMANTASYONUNUN AROMA VE TİOL BİLEŞİKLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA-2022

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEYAZ ŞARAP ÜRETİMİNDE *Metschnikowia pulcherrima* MAYASININ SAF VE KARIŞIK KÜLTÜR FERMANTASYONUNUN AROMA VE TİOL BİLEŞİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Abdullah ÖZONUR

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU
Yıl: 2022, Sayfa: 83
Jüri : Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU
: Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

Bu çalışmada Denizli'nin Güney ilçesi Sauvignon Blanc üzümünden *Metschnikowia pulcherrima* (Mp) ve *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) mayalarının saf ve karışık kültürü (Mp+Sc) kullanılarak beyaz şarap üretilmiş, bu şarapların uçucu tiol ve aroma bileşikleri belirlenmiş, kullanılan mayaların şarapların kalitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Şarapların uçucu tiol bileşikleri analizi 4,4'-ditiodipiridin (DTDP) türevlendirme ajanı kullanılarak LC-MS/MS tekniği ve dış standart yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Şarapların aroma maddelerinin ekstraksiyonu katı faz ekstraksiyon (SPE) yöntemi ile, tanımlanması ve miktarının tespiti ise GC-MS-FID tekniği ile gerçekleştirilmiştir. *S. cerevisiae*'nin 4 MMP bileşiğini (17.8 ng/L), karışık kültür fermantasyonunun 3MH ve 3MHA bileşiklerini (sırasıyla 1111.2 ng/L ve 344.1 ng/L) diğerlerine göre daha yüksek miktarlarda oluşturduğu belirlenmiştir. Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarında 39 adet aroma bileşiği tanımlanmış, bunların miktarları sırası ile 173 mg/L, 176 mg/L, 184 mg/L olarak belirlenmiştir. Saf *M. pulcherrima* yüksek alkol bileşiklerini, karışık kültür fermantasyonu ise ester ve uçucu asit bileşiklerini diğerlerine göre daha yüksek miktarda oluşturmuştur. *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* karışık kültür fermantasyonunun diğer iki saf kültür fermantasyonuna göre uçucu tiol ve aroma konsantrasyonunu arttırdığı ve şarap üretiminde uygulanabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Beyaz Şarap, Sauvignon Blanc, *S. cerevisiae*, *M. pulcherrima*, Karışık Kültür, Uçucu Tioller, Aroma, LC-MS/MS

ABSTRACT

MSc THESIS

EFFECT OF PURE AND MIXED CULTURE FERMENTATION OF *Metschnikowia pulcherrima* YEAST ON AROMA AND THIOL COMPOUNDS IN WHITE WINE PRODUCTION

Abdullah ÖZONUR

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

Supervisor : Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU
Year: 2022, Pages: 83
Jury : Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU
: Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

In this study, white wine was produced by using pure and mixed cultures (Mp+Sc) of *Metschnikowia pulcherrima* (Mp) and *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) yeasts from Sauvignon Blanc grape in Güney county of Denizli, the volatile thiol and aroma compounds of these wines were determined and also, the effects of the yeasts on the quality of the wines were investigated. The analysis of volatile thiol compounds of wines was carried out by LC-MS/MS technique and external standard method using 4,4'-dithiodipyridine (DTDp) derivatizing agent. The extraction of aroma substances of the wines was carried out by the solid phase extraction (SPE) method, and the amount was identified and determined with the GC-MS-FID technique. It was determined that *S. cerevisiae* formed 4 MMP compounds (17.8 ng/L), and mixed culture fermentation formed 3MH and 3MHA compounds (1111.2 ng/L and 344.1 ng/L, respectively) in higher amounts than the others. 39 aroma compounds were identified in Mp, Sc and Mp+Sc wines, and their amounts were determined as 173 mg/L, 176 mg/L, and 184 mg/L, respectively. Pure *M. pulcherrima* produced higher alcohol compounds, while mixed culture fermentation produced ester and volatile acid compounds in higher amounts than the others. It was concluded that the mixed culture fermentation of *M. pulcherrima* and *S. cerevisiae* increased the volatile thiol and aroma concentration compared to the other two pure culture fermentations and was applicable in wine production.

Key Words : White Wine, Sauvignon Blanc, *S. cerevisiae*, *M. pulcherrima*, Mix Culture, Volatile Thiols, Aroma, LC-MS/MS

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bu çalışmada *S. cerevisiae* ve bir non-*Saccharomyces* maya olan *M. pulcherrima* mayalarının saf ve karışık kültür fermantasyonlarının Denizli/Güney Bölgesi Sauvignon Blanc şarabının tiol, aroma bileşikleri ve genel bileşimi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Denizli'nin Güney ilçesinden temin edilen Sauvignon Blanc üzümleri Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Pilot Şarap İşletmesi'nde şaraba işlenmiştir. Üzümler sıkılmış ve elde edilen şıraya SO₂ ilave edilerek 10 °C' de 24 saat durultma işlemi uygulanmıştır. Durultma işleminden sonra şıra sterilize edilmiş, üç kısma ayrılmış ve ilgili mayalar 25g/hL olacak şekilde ilave edilmiştir. Karışık kültür fermantasyonunda ilk gün *M. pulcherrima* mayası ilave edilmiş, 24 saat sonra *S. cerevisiae* mayası eklenmiştir. Alkol fermantasyonu 3 paralelli olarak fermantasyon başlığı olan cam şişelerde 18 °C'de gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon günlük sıcaklık ve yoğunluk takibi yapılarak izlenmiştir. *S. cerevisiae*'nin saf kültür ve *M. pulcherrima* ile karışık kültür fermantasyonu 18°C'de 12 günde, *M. pulcherrima*'nin saf kültür fermantasyonu ise 18°C'de 14 günde tamamlanmıştır. Elde edilen şaraplara 60 mg/L SO₂ ilave edilmiş ve yaklaşık 4 ay analizleri yapılmaya kadar 10-15 °C'lik bir odada tutulmuştur. *M. pulcherrima* mayasının saf kültür fermantasyonu ile elde edilen şarap Mp şarabı, *S. cerevisiae* mayasının saf kültür fermantasyonu ile elde edilen şarap Sc şarabı, karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen şarap Mp+Sc şarabı olarak isimlendirilmiştir.

Şırada SÇKM (°Briks), toplam asitlik, yoğunluk, pH, şeker ve organik asit profili, kullanılabilir azot miktarı ve maya sayımı analizleri yapılmıştır. Şaraplarda şırada yapılan analizlere ilave olarak alkol, uçar asit, serbest ve toplam SO₂, uçucu tioller, makro ve mikro aroma maddelerinin analizleri yapılmıştır.

Şıra ve şaraplarda şeker ve organik asit analizleri HPLC, uçucu tiol bileşikleri LC-MS/MS, aroma maddeleri GC-MS/FID ile belirlenmiştir.

Sauvignon Blanc üzüm şirasının yoğunluğu 1.091 g/cm³, suda çözünür kurumadde miktarı 22.0 °Briks, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 5.85 g/L ve pH değeri 3.15 bulunmuştur. Şıradaki indirgen şeker miktarı 201.5 g/L olarak saptanmıştır.

Mp şarabının alkol miktarı hacmen %11.07, pH'sı 3.10, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 7.31 g/L ve uçar asit miktarı asetik asit cinsinden 0.82 g/L, indirgen şeker miktarı 4.51 g/L, gliserol miktarı 8.64 g/L olarak belirlenmiştir. Sc şarabının alkol miktarı hacmen %12.93, pH'sı 3.04, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 7.62 g/L ve uçar asit miktarı asetik asit cinsinden 0.53 g/L, indirgen şeker miktarı 3.0 g/L, gliserol miktarı 8.32 g/L olarak saptanmıştır. Mp+Sc şarabının alkol miktarı hacmen %11.74, pH'sı 3.06, toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 7.47 g/L ve uçar asit miktarı ise asetik asit cinsinden 0.65 g/L, indirgen şeker miktarı 3.98 g/L, gliserol miktarı 8.54 g/L olarak belirlenmiştir. Mp+Sc şarabında, uçar asit miktarı Mp şarabına göre daha düşük; gliserol miktarı ise Mp ve Sc şaraplarına göre daha yüksek miktarda tespit edilmiştir. Mp şarabında indirgen şeker miktarı diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda bulunmuş ve *M. pulcherrima* saf kültürünün şekerleri tamamen parçalayamadığı görülmüştür.

Uçucu tiol bileşiklerinin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesinde Shimadzu 8040 marka LC-MS/MS tekniği ve dış standart yöntemiyle gerçekleştirilmiş ve türevlendirme ajanı olarak 4,4'-ditiodipiridin (DTDP) kullanılmıştır. Çalışmada 3 adet uçucu tiol bileşiği belirlenmiştir. Algılama eşiği 0.8 ng/L olan 4MMP bileşiği Mp şarabında 14.2 ng/L, Sc şarabında 17.8 ng/L ve Mp+Sc şarabında ise 11.6 ng/L olarak tespit edilmiştir. *S. cerevisiae*'nın saf kültür fermentasyonu ile üretilen şarapta 4MMP bileşiği diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda bulunmuş; her üç şarapta da belirlenen 4MMP bileşiği konsantrasyonlarının algılama eşik değerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Algılama eşiği 60 ng/L olan 3MH bileşiği Mp şarabında 826.7 ng/L, Sc şarabında 983.4 ng/L ve Mp+Sc şarabında ise 1111.2 ng/L olarak tespit edilmiştir. Algılama eşiği 4.2 ng/L olan 3MHA bileşiği ise Mp şarabında 61.2 ng/L, Sc şarabında 211.5

ng/L ve Mp+Sc şarabında ise 344.1 ng/L olarak saptanmıştır. Karışık kültür fermantasyonu sonucu üretilen şarapta 3MH ve 3MHA bileşikleri diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda bulunmuş; her üç şarapta belirlenen 3MH ve 3MHA konsantrasyonlarının algılama eşik değerlerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Mp şarabında toplam 38 adet aroma maddesi tanımlanmış olup bunların toplam miktarı 173 mg/L, Sc şarabında toplam 38 adet aroma maddesi tanımlanmış olup toplam miktarı 176 mg/L, Mp+Sc şarabında ise toplam 39 adet aroma maddesi tanımlanmış olup toplam miktarı 184 mg/L olarak saptanmıştır.

Her üç şarapta da 9 adet yüksek alkol, 3 adet uçucu asit, 3 adet lakton, 2 adet uçucu fenol, 4 adet altı karbonlu bileşik, Sc ve Sc+Mp şarabında 16 adet ester, Mp şarabında 15 adet ester bileşiği ve Mp ve Mp+Sc şarabında 1 adet kükürtlü bileşik tanımlanmıştır. Bu uçucu bileşiklerden yüksek alkoller, esterler ve uçucu asitler sırasıyla miktar olarak en fazla bulunan grup olmuştur.

Mp şarabında 15 adet, Sc şarabında 16 adet ve Mp+Sc şarabında 16 adet ester bileşiği tespit edilmiş, bu bileşiklerin miktarları sırasıyla 7919.9 µg/L, 14949 µg/L ve 16242.9 µg/L olarak belirlenmiştir. Karışık kültür fermantasyonunun izobütil asetat, etil bütanoat, izoamil asetat, dietil süksinat, etil dekanat, etil hekzanoat ve 2-feniletıl asetat gibi şaraplara çiçeksi ve meyvemsi hoş kokular kazandıran ester bileşiklerini saf kültür fermantasyonlarına göre daha yüksek miktarda oluşturduğu tespit edilmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde araştırmada kullanılan non-*Saccharomyces Metschnikowia pulcherrima* suşu deneme koşullarında fermantasyon yeteneği bakımından uçar asit hariç başarılı bulunmuştur. Her üç uygulama içerisinde Mp+Sc şarabı, şarabın duyuşal özelliklerine olumlu etki eden 3MH ve 3MHA uçucu tiol bileşiklerini ve esterleri daha yüksek miktarda ve şarabın aromasını olumsuz etkileyen asetaldehit ve etil asetatı daha düşük düzeyde oluşturarak Sauvignon Blanc şarabının aromatik yapısını olumlu yönde etkilemiştir.



TEŞEKKÜR

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

Üzümlerin temin edilmesini sağlayan KÜP ŞARAPÇILIK'a, Sayın Halil Bakış ve Sayın Asım Altıntaş'a çok teşekkür ederim. Uçucu tiol analizleri sırasında yardımlarını esirgemeyen Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri öğretim üyeleri Doç. Dr. Nebile DAĞLIOĞLU, Dr. İsmail Ethem GÖREN'e ve doktora öğrencisi Aslı ATASOY'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmamda bana yardımcı olan ve yol gösteren Sayın Dr. Öğr. Üyesi Merve DARICI ve Arş. Gör. Bilal AĞIRMAN'a çok teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim ve tez yazımı boyunca bana destek olan sürekli moral ve motivasyon sağlayan değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Bekir SAFKAN ve İlker YILDIZ'a çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi, manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan ve bu dönemde desteklerini esirgemeyen annem Süreyya ÖZONUR ve babam Aydın ÖZONUR'a, ablalarım Pınar ERTİK ve Deniz ÖZONUR'a, eniştem Ersen ERTİK ve yeğenlerim Mira ve Miraç ERTİK'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1. Şaraplarda Tiol Bileşikleri	7
2.2. Non- <i>Saccharomyces</i> Mayaların Uçucu Tiol Bileşiklerine Etkisi Üzerine Yapılan Çalışmalar	13
2.3. <i>M. pulcherrima</i> Mayasının Şarabın Aromasına Etkisi Üzerine Yapılan Çalışmalar	16
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Materyal	21
3.2. Metot.....	22
3.2.1. Üzümlerin Şaraba İşlenmesi.....	22
3.2.2. Şıra ve Şaraplarda Yapılan Genel Analizler.....	24
3.2.2.1. Suda Çözünür Kurumadde (%Briks) Tayini	24
3.2.2.2. Yoğunluk Tayini.....	24
3.2.2.3. Toplam Asitlik Tayini	24
3.2.2.4. pH Tayini.....	24
3.2.2.5. HPLC Yöntemiyle Organik Asit ve Şeker Tayini	24
3.2.2.7. Şırada Kullanılabilir Azot Miktarı (YAN) Tayini	26
3.2.2.8. Maya Sayımı.....	26
3.2.2.9. Alkol Tayini	26

3.2.2.10. Uçar Asit Tayini	26
3.2.2.11. Toplam ve Serbest Kükürt Dioksit Tayini.....	27
3.2.3. Şaraplarda LC-MS/MS ile Uçucu Tiol Bileşiklerinin Analizi	27
3.2.4. Aroma Bileşiklerinin Analizi	31
3.2.4.1. Makro Aroma Bileşiklerinin Analizi.....	31
3.2.4.2. Mikro Aroma Bileşiklerinin Analizi	33
3.2.5. İstatistik Değerlendirme	34
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1. Sauvignon Blanc Şırasının Bileşimi	35
4.2. Alkol Fermantasyonu ve Maya Sayısı	37
4.3. Sauvignon Blanc Şaraplarının Genel Bileşimi	38
4.4. Sauvignon Blanc Şaraplarının Uçucu Tiol Bileşimi.....	42
4.4.1. 4-metil-4-merkaptopentan-2-on (4MMP)	42
4.4.2. 3-merkaptohexan-1-ol (3MH)	44
4.4.3. 3-merkaptohexil asetat (3MHA)	45
4.5. Sauvignon Blanc Şaraplarının Aroma Bileşimi	47
4.5.1. Sauvignon Blanc Şaraplarının Mikro Aroma Bileşimi	47
4.5.1.1. Yüksek Alkoller	48
4.5.1.2. Esterler.....	51
4.5.1.3. Uçucu Asitler.....	54
4.5.1.4. Laktonlar	55
4.5.1.5. Uçucu Fenoller	56
4.5.1.6. 6C'lu Bileşikler	57
4.5.1.7. Kükürtlü Bileşikler	58
4.5.2. Sauvignon Blanc Şaraplarının Makro Aroma Bileşimi.....	58
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	79
EKLER.....	80

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 2.1.	Şaraplarda Tanımlanan Bazı Uçucu Tioller	8
Çizelge 3.1.	Analizde Kullanılan Şekerlerin ve Organik Asitlerin Validasyon Parametreleri	25
Çizelge 3.2.	LC-MS/MS Çalışma Koşulları	28
Çizelge 3.3.	LC-MS/MS Kullanılan Elüsyon Sistem	28
Çizelge 3.4.	Türetilmiş Tiollerin MRM Çiftleri ve Çıkış Süreleri	29
Çizelge 3.5.	Pearson korelasyon katsayısı (R^2), geri kazanım, tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ) değerleri	31
Çizelge 4.1.	Sauvignon Blanc Şirasının Genel Bileşimi	35
Çizelge 4.2.	Mayaların Sauvignon Blanc Şaraplarının Genel Bileşimi Üzerine Etkisi	39
Çizelge 4.3.	Sauvignon Blanc Şaraplarında Belirlenen Uçucu Tiol Bileşikleri ve Miktarları (ng/L)	42
Çizelge 4.4.	Sauvignon Blanc Şaraplarında Belirlenen Aroma Bileşiklerinin Miktarları ($\mu\text{g/L}$)	47
Çizelge 4.5.	Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Yüksek Alkol Bileşikleri ve Miktarları ($\mu\text{g/L}$)	49
Çizelge 4.6.	Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Ester Bileşikleri ve Miktarları ($\mu\text{g/L}$)	51
Çizelge 4.7.	Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Uçucu Asit Bileşikleri ve Miktarları ($\mu\text{g/L}$)	54
Çizelge 4.8.	Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Lakton Bileşikleri ve Miktarları ($\mu\text{g/L}$)	55
Çizelge 4.9.	Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Uçucu Fenol Bileşikleri ve Miktarları ($\mu\text{g/L}$)	56
Çizelge 4.10.	Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan 6C'lu Bileşikler ve Miktarları ($\mu\text{g/L}$)	57

Çizelge 4. 11. Sauvignon Blanc Şaraplarında Belirlenen Makro Aroma Bileşikleri ve Miktarları (mg/L).....	59
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. Tiol oluşum mekanizması	9
Şekil 3.1. Sauvignon Blanc Üzümü	21
Şekil 3.2. Beyaz Şarap Üretim Aşamaları	22
Şekil 3.3. Fermantasyon Denemeleri.....	23
Şekil 3.4. 4MMP Bileşiğinin Kalibrasyon Eğrisi	29
Şekil 3.5. 3MH Bileşiğinin Kalibrasyon Eğrisi	30
Şekil 3.6. 3MHA Bileşiğinin Kalibrasyon Eğrisi	30
Şekil 4.1. Fermantasyon süresince yoğunluk değişimi.....	37
Şekil 4.2. Fermantasyon Süresince Maya Sayısı Değişimi. FB:Fermantasyon Başı, FO: Fermantasyon Ortası, FS: Fermantasyon Sonu	38
Şekil 4.3. 4MMP Bileşiğinin Kromotogramı	43
Şekil 4.4. 3MH Bileşiğinin Kromotogramı	45
Şekil 4.5. 3MHA bileşiğinin kromotogramı	46



SİMGELER VE KISALTMALAR

Mp Şarabı	: <i>M. pulcherrima</i> Saf Kültürü ile Üretilen Şarap
Sc Şarabı	: <i>S. cerevisiae</i> Saf Kültürü ile Üretilen Şarap
Mp+Sc Şarabı	: <i>M. pulcherrima</i> ve <i>S. cerevisiae</i> Karışık Kültürü ile Üretilen Şarap
4MMP	: 4-metil-merkaptopentan-2-on
3MH	: 3-merkaptotekzan-1-ol
3MHA	: 3-merkaptotekzil asetat
DTDP	: 4,4'-ditiodipiridin
GC	: Gaz Kromatografisi
GC-FID	: Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HPLC-MS/MS	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi- Kütle Spektrometresi
L	: Litre
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
ng	: Nanogram
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
µm	: Mikrometre
mEq	: MiliEkivalan
mM	: Milimolar



1. GİRİŞ

Şarap; şarap mayasının, üzümde bulunan şekerleri; etil alkol, karbondioksit ve yüzlerce ikincil ürüne dönüştürdüğü karmaşık bir biyokimyasal proses olarak tanımlanmaktadır. Bir şarabın kalitesi; üzüm çeşidi, bağcılık uygulamaları, şarap yapımında uygulanan teknolojik işlemler ve kullanılan maya türleri gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Mikroorganizmalar üzümlerin kalitesini hasattan önce, şarabın kalitesini ise, fermantasyon sırasında, şarabın yıllandırılması ve muhafazası sırasında etkileyebilir (Comitini ve ark, 2011).

Şarap teknolojisinde alkol fermantasyonu spontan olarak ya da saf maya kullanılarak gerçekleştirilir. Spontan olarak yürütülen fermantasyonda şıra ve üzümde bulunan doğal maya florası etkili olur. Saf maya kullanımında ise ortama özellikleri bilinen seçilmiş kültür mayası eklenir ve fermantasyonun bu maya tarafından gerçekleştirilmesi sağlanır (Canbaş, 2007). Saf maya kullanıldığında şırada fermantasyonun daha çabuk başladığı, daha kısa sürede tamamlandığı ve elde edilen şarapların da duyuşsal özellikler ve genel bileşim bakımından farklı bulundukları bildirilmektedir (Bağatar, 2011).

Şarap mayaları üzümde, şıradan ve şaraptan izole edilen endojen mayalar arasından seçilen kültür mayalarıdır (Nurgel, 2000; Teixeira ve ark, 2014). Şarap mayalarında istenilen teknolojik özellikler şöyle sıralanabilir; seçilen suşun düşük miktarda uçar asit oluşturması, alkol toleransının yüksek olması, ortamdaki şekerin tamamını fermente edebilmesi, fermantasyon hızının istenen düzeyde olması, yüksek ya da düşük sıcaklıklarda çoğalabilmesi, SO₂ toleransının yüksek olması, düşük H₂S üretimi, fermantasyon bittikten sonra kolayca çökmesi, düşük miktarda köpük oluşturması, killer özelliğinin olması, düşük asetaldehit, etil asetat ve asetik asit üretmesi, gliserol üretme gücü, yüksek alkol üretiminin kontrollü olması ve fermantasyon sırasında kullanılacak mayanın aroma bileşiklerini dengeli bir şekilde üretmesi beklenir (Cabaroğlu ve ark, 2020).

Saccharomyces cerevisiae alkol fermantasyonundan sorumlu asıl maya türü olup, şarap fermantasyonunda non-*Saccharomyces* maya türlerinin de yer alması, şarap aromasına katkıda bulunan ikincil metabolitlerin yani aroma maddelerinin oluşumu açısından önem taşımaktadır (Esteve-Zarzosa ve ark, 1998).

Geçmiş yıllarda, non-*Saccharomyces* mayalar, düşük fermantasyon yeteneği, düşük alkol toleransı ve olumsuz duyusal özellikler sergilediğinden dolayı esas olarak bozulma yapan/sorunlu maya olarak düşünülmüştür. Fakat yapılan son çalışmalar, bu düşüncenin aksine şarabın duyusal özelliklerini iyileştirmek, daha meyvemsi ve çiçeksi aromaya sahip ürünler elde etmek için Non-*Saccharomyces* mayaların olumlu etki gösterdiklerini ortaya çıkarmıştır. Bu non-*Saccharomyces* mayalar; *K. apiculata*, *H. uvarum*, *H. vineae*, *C. Zemplinina*, *C. stellata*, *S. pombe*, *H. Anomala*, *L. thermotolerans*, *K. aerobia*, *T. delbrueckii* ve *M. pulcherrima*'dır (Benito, 2018). Non-*Saccharomyces* mayalar esteraazlar, glikozidazlar, lipazlar, β -glukozidazlar, proteazlar, selulazlar gibi çeşitli enzimler üretmektedirler. Bu enzimler, üzüm öncül bileşikleri ile reaksiyona girerek aktif aroma bileşikleri üzerinde rol oynamaktadırlar (Bağder ve Özçelik, 2009).

Şarabın kalitesi üzerine büyük rol oynayan aroma maddelerini kaynaklarına göre 4 grup altında toplamak mümkündür. Bunlar; üzüm çeşidinden kaynaklanan aroma maddeleri (çeşit aroması), üzümün işlenmesi sırasında uygulanan teknolojik işlemlerden kaynaklanan aroma maddeleri (fermantasyon öncesi aroma), fermantasyon sırasında oluşan aroma maddeleri (etil alkol ve malolaktik fermantasyon aroması) ve şarabın olgunlaşması sırasında oluşan aroma maddeleri (olgunluk aroması)'dir (Ribéreau-Gayon ve ark, 2000; Canbaşı ve Cabaroğlu, 2000).

Birçok şarap aroması, üzümde bulunan bazı bileşiklerin yapısında bağlı halde bulunmaktadır. Bu aromalar, şarap üretimi sırasında mikrobiyal aktivite ile serbest hale geçmektedir (Belda ve ark, 2017). Şarapta, bugüne kadar binden fazla uçucu bileşik tanımlanmış olup, bunların dört yüzden fazlası fermantasyon süresince mayalar tarafından üretilmektedir (Romano ve ark, 2003). Şarap

aromalarının başlıcaları kimyasal yapılarına göre: esterler, yüksek alkoller, terpen bileşikleri, asitler, laktonlar, karbonil bileşikler, asetaller, uçucu fenoller, uçucu azotlu bileşikler ve uçucu kükürtlü bileşiklerdir (Cabredo-Pinillos ve ark, 2008; Tao ve ark, 2008).

Uçucu kükürtlü bileşiklerin şaraba, lahana, soğan, çürük yumurta, sarımsak gibi istenmeyen aromaların yanında; greyfurt, çarkıfelek meyvesi, beктаşi üzümü ve guava gibi aromaları da verdiği belirlenmiştir. Uçucu kükürtlü bileşikler içerisinde yer alan ve şarabın aromasına pozitif etki eden uçucu tioller, üzümde kokusuz ve uçucu olmayan formda sistein ve glutatyona bağlı şekilde bulunurlar ve fermantasyon sırasında, mayalarda bulunan karbon sülfür liyaz enziminin etkisiyle serbest hale geçerler (Cordente ve ark, 2012). Sistein, glisin ve glutamin gibi proteinlerin 3 yapı taşının bileşiminden oluşan glutatyon, bitkiler, hayvanlar, mantarlar ve bazı bakterilerde bulunan ve serbest radikallerin etkisini azaltan güçlü bir antioksidandır. Fermantasyon sırasında oluşan en önemli uçucu tioller: 4-merkapt-4-metilpentan-2-on (4MMP), 3-merkapt-3-hekzan-1-ol (3MH), 3-merkapt-3-hekzilasetat (3MHA) bileşikleridir. 4MMP bileşiği şaraplara şimşir ağacı, çarkıfelek meyvesi (passion fruit), frenk üzümü gibi aromalar kazandırırken, 3MH ve 3MHA bileşikleri çarkıfelek meyvesi (passion fruit) ve greyfurt tipi aromalar kazandırır (Padilla, 2016). Uçucu tioller çok düşük algılama eşik değerine sahiptirler. Algılama eşikleri, 4MMP için 0,8 ng/l, 3MH için 60 ng/l ve 3MHA için 4,2 ng/l olarak bildirilmiştir (Tominaga ve ark, 2000).

4MMP ve 3MH sisteine, S-3-(hekzan-1-ol)-sistein (Cys3MH) ve S-3-(4-merkapt-4-metilpentan-2-one)-sistein (Cys4MSP); glutatyona ise S-3-(hekzan-1-ol)-glutatyon (G3MH) ve S-3-(4-merkapt-4-metil-2-one) (G4MMP) şeklinde bağlı halde halde bulunur. 3MHA için ise üzümde öncül bileşik bulunamamıştır. 3MHA, fermantasyon sırasında alkol asetiltransferaz ATF1 enziminin etkisiyle 3MH'nin esterifikasyonu sonucu oluşur (Swiegers ve ark, 2006).

Uçucu tioller başta Sauvignon Blanc olmak üzere bazı beyaz şarapların karakteristik kokusunu veren aromatik bileşiklerdir. Miktarları çok düşük

olduğundan tespit edilmesi çok zordur. Ancak son yıllarda enstrümantal analiz cihazlarının gelişmesi ile uçucu tiollerin tespiti yapılmaya başlanmış ve hızlı sonuç veren yöntemler geliştirilmiştir.

Sauvignon Blanc (*Vitis Vinifera* L.cv.) üzümü Fransa'nın Bordeaux bölgesi ve Loire Vadisi orijinli dünyada en yaygın yetiştirilen beyaz şaraplık üzüm çeşitlerinden birisidir. Sauvignon Blanc, salkımları küçük, kısa, konik formda, hafif oval ve olgunluğa ulaşınca kadar kalın kabuklu olan bir üzüm çeşididir. Sauvignon Blanc şarapları genel olarak çarkıfelek meyvesi, bektaşi üzümü, greyfurt, kuşkonmaz ve mango aromalarının algılandığı şaraplardır ve fiçıda olgunlaştırmayla bu aromalara vanilya, meşe ve füme aromalarıda eklenir (Kaya, 2017). Ülkemizde mevcut olan bağ alanları, coğrafi ve iklimsel özellikleri açısından Sauvignon Blanc üzümü yetiştiriciliğine elverişli bir yapıya sahiptir. Ülkemizde Adapazarı, Geyve tarafında başlayan üretim daha sonraki yıllarda diğer bölgelere de yayılmıştır. Nevşehir, Çanakkale, Trakya Bölgesi, Menderes, Turgutlu üretimin yapıldığı diğer bölgelerdir. Son yıllarda özellikle Denizli'nin Güney ilçesinde çok geniş bağ alanları oluşturulmaya başlanmıştır.

M. pulcherrima şarap üretiminde kullanılan ve ticari olarak satılan non-*Saccharomyces* mayalardan bir tanesidir. Pektinaz, proteaz, selüloz, amilaz, lipaz, glikozidaz ve karbon sülfür liyaz gibi enzimleri üretebilir ve bu nedenle şarap aromasına önemli ölçüde katkı sağlar. Şarapta, etil esterlerin, terpenlerin ve yüksek alkollerin konsantrasyonlarını arttırdığı; uçar asit miktarını ise düşürdüğü bildirilmiştir. *M. pulcherrima*, *S.cerevisiae* ile karşılaştırıldığında daha düşük fermantasyon gücüne sahiptir. *M. pulcherrima* fermantasyonları genellikle gerekli etil alkol içeriğine ulaşamaz yani düşük seviyelerde etil alkol üretir. Aynı zamanda fermantasyon sırasında doğal olarak ürettiği pulcherrimin maddesinin non-*Saccharomyces* mayalar üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Borren ve Tian, 2020).

Uçucu tioller üzerine *Saccharomyces* mayalarının etkisi birçok araştırmaya konu olmuştur. Fakat non-*Saccharomyces* mayaların uçucu tiol oluşturma yeteneği hakkında çok fazla araştırma yapılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının saf ve karışık kültür fermentasyonlarının Sauvignon Blanc üzümünden elde edilen beyaz şarabın;

- Genel bileşimi,
- Uçucu tioller ve
- Aroma bileşikleri üzerine etkisini ortaya koymaktır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Şaraplarda Tiol Bileşikleri

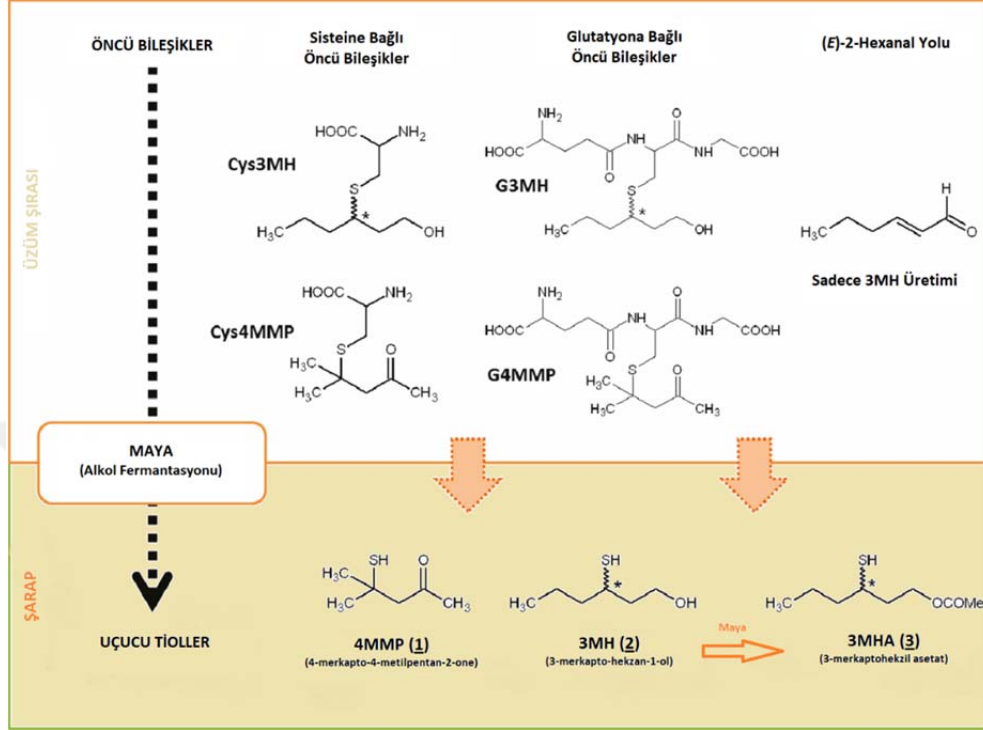
Tioller, yapılarında sülfür bileşiği içeren hoş kokulu aromatik bileşiklerdir. Yakın zamana kadar sülfürlü bileşiklerin (hidrojen sülfür, merkaptan) şaraplarda kötü kokulara neden olan bileşikler olduğu bilinirdi. Ancak analiz tekniklerindeki gelişmeler ile birlikte algılama eşikleri çok düşük olan bazı sülfür içeren bileşiklerin, oldukça hoş kokulu oldukları ve şarap ve birçok tropik meyvenin aromasına katkıda bulundukları tespit edilmiştir (Roland ve ark, 2011). Şaraplarda tanımlanan bazı hoş kokulu uçucu tiollerin verdikleri aroma ve şarapta bulunan konsantrasyonları Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Uçucu tioller ilk olarak Sauvignon Blanc üzümlerinden elde edilen şaraplarda (Tominaga ve ark, 1996) daha sonraları ise Merlot ve Cabernet Sauvignon (Murat ve ark, 2001), Colombard (Ferreria ve ark, 2002), Muscadet ve Bacchus (Schneider ve ark, 2003), Petit ve Gross Manseng (Dagan, 2006), gibi üzümlerden elde edilen şaraplarda tespit edilmiştir.

Tominaga ve ark (2000), uçucu tiollerin üzümde bulunan sistein amino asidinden alkol fermantasyonu sırasında *S.cerevisiae*'nın enzimatik (karbon-sülfür liyaz) aktivitesinden açığa çıktığını belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalar, fermantasyon sırasında uçucu tiollerin oluşmasındaki asıl faktörün maya türü olduğunu göstermiştir (Swiegers ve ark, 2009). Daha sonra yapılan benzer çalışmalar şarap mayalarının, fermantasyon sırasında oluşturdukları karbon-sülfür liyaz enzimi aktivitesinin, sistein ve glutatyona bağlı halde bulunan uçucu tiollerin serbest hale geçmesinde etkili olduğunu doğrulamıştır (Dubourdieu ve ark, 2006). Tiol oluşum mekanizması Şekil 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Şaraplarda Tanımlanan Bazı Uçucu Tioller (Roland ve ark, 2011)

No	Uçucu Tioller	Molekül	Aroma	Algılanma Eşiği (ng/L)	Konsantrasyon (ng/L)
<u>1</u>	4-metil-4-merkaptopentan-2-on (4MMP)		Şişsir ağacı, Frenk üzümü	0,8	<400
<u>2</u>	3-merkaptohexan-1-ol (3MH)		Passion fruit, Greyfurt	60	<19000
<u>3</u>	3-merkaptohexil asetat (3MHA)		Passion fruit, Greyfurt	4.2	<2500
<u>4</u>	3-merkaptopentan-1-ol		Greyfurt	950	90-300
<u>5</u>	3-merkaptuheptan-1-ol		Greyfurt	35	25-75
<u>6</u>	4-metil-4-merkaptopentan-2-ol (4MMPOH)		Limon Kabuęu	55	<90
<u>7</u>	2-metil-3-merkaptobütan-1-ol		Çię Soğan	-	80-150
<u>8</u>	Furfuril merkaptan		Kahve	0.4	0.4-62
<u>9</u>	Benzil merkaptan		Dumanlı	0.3	10-40



Şekil 2.1. Tiol oluşum mekanizması (Roland ve ark, 2011)

Darriet ve ark (1995), yaptıkları çalışmada Sauvignon Blanc üzümünden elde edilen şarapta uçucu tioller ilk kez, purge & trap tekniğini kullanarak gas kromatografisi alev fotometrik dedektör ile belirlemiştir. Çalışmada şimşir ağacı aroması verdiği belirlenen 4MMP bileşiği, kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanmıştır. 4MMP bileşiğinin algılanma eşiği, suda ve şarapta sırasıyla 0.1 ng/l ve 3 ng/l olarak tespit edilmiştir.

Tominaga ve ark (1996), daha önceki çalışmada tanımlayamadıkları ve Sauvignon Blanc şaraplarında şimşir ağacı, greyfurt ve çarkıfelek meyvesi aroması veren 3MHA bileşiğini gaz kromatografisi alev fotometrik dedektör ile tanımlamış ve algılama eşik değerini yaklaşık 2.4-3 ng/l olarak belirlemişlerdir.

Tominaga ve ark (2000), Sauvignon Blanc şaraplarında daha önce tanımlanan beş uçucu tiol, 4-merkapt-4-metilpentan-2-on (4MMP), 4-merkapt-4-

metilpentan-2-ol (4MMPOH), 3-merkapt-3-metilbutan-1-ol (3MMB), 3-merkapt-6-hekzan-1-ol (3MH) ve 3-merkapt-6-hekzil asetatın (3MHA), bazı Gewürztraminer, Riesling, Colombard, Petit Manseng ve Semillon şaraplarında da bulunduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada kullanılan şaraplarda tespit edilen 4MMP, 3MH ve 3MHA konsantrasyonlarının, algılama eşik değerlerinden oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

Howell ve ark (2004), fermantasyon sıcaklığının ve maya suşlarının 4MMP bileşiği üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışmada farklı 2 fermantasyon sıcaklığı ve beyaz şarap yapımında en çok tercih edilen 8 maya suşu kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar maya suşu seçiminin ve fermantasyon sıcaklığının 4MMP bileşiği konsantrasyonunda önemli faktörler olduğunu göstermiştir.

Masneuf-Pomarède ve ark (2006), yaptıkları çalışmada Sauvignon Blanc üzümünden elde edilen şırayı kullanmış ve maya suşlarının ve fermantasyon sıcaklıklarının uçucu tioller üzerine etkisini incelemişler ve her iki faktöründe uçucu tiol konsantrasyonları üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Maya suşlarının 13 °C’de gerçekleştirilen fermantasyonda 3MHA bileşiğini; 20 °C’de gerçekleştirilen fermantasyonda ise 4MMP ve 3MH bileşiğini daha yüksek miktarda oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Swiegers ve ark (2009), endüstriyel olarak satılan 7 farklı *S. cerevisiae* suşunun Sauvignon Blanc şaraplarında uçucu tioller üzerine etkisini incelemişlerdir. Kullanılan maya suşunun 4MMP, 3MH ve 3MHA bileşikleri üzerine etkisi olduğunu tespit etmişler ve VIN7 suşunun uçucu tiol üretimi bakımından en başarılı suş olduğunu bildirmişlerdir. Bu suşun 4MMP, 3MH ve 3MHA bileşiklerini sırası ile 14 ng/L, 460 ng/L ve 80 ng/L düzeyinde oluşturduğunu saptamışlardır.

Benkwitz ve ark (2012), Avustralya, Fransa, Güney Afrika, ABD ve Yeni Zelanda’nın farklı bölgelerinden temin edilen 79 Sauvignon Blanc şarabında uçucu tiol bileşiklerini incelemişlerdir. Yeni Zelanda’nın Marlborough bölgesinden temin edilen şarapların ortalama 3786 ng/L 3MH, 395 ng/L 3MHA bileşiği içerdiği ve

bu şaraplarda tespit edilen 3MH ve 3MHA bileşiklerinin konsantrasyonlarının diğer bölgelerden elde edilen şaraplardaki 3MH ve 3MHA konsantrasyonlarından çok daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yeni Zelanda'nın Wairarapa bölgesinden temin edilen Sauvignon Blanc şaraplarında ise 4MMP bileşiği ortalama 24 ng/L olarak bulunduğu saptanmıştır. Marlborough Sauvignon Blanc şaraplarının ayırt edici şekilde tropikal ve meyve karakterinde olduğu ve elde edilen sonuçların bunu doğruladığı bildirilmiştir.

Farhana ve ark (2012), 55 farklı yerden alınan Sauvignon Blanc üzümünü ticari EC118 mayası ile kontrollü şartlar ve aynı koşullar altında fermantasyona bırakmıştır. Şarapların fermantasyonu süresi genel olarak 21 gün sürmüştür. Bütün şaraplarda miktarları 157 ng/l ile 5561 ng/l arasında değişen 3MH ve miktarları 34 ng/l ile 740 ng/l arasında değişen 3MHA bileşikleri tespit edilmiştir. 3MHA konsantrasyonlarının, 3MH konsantrasyonlarına göre daha az olduğu belirlenmiştir. Tüm şarapları üretmek için aynı maya suşu ve aynı fermantasyon koşulları kullanıldığından, şaraplar arasındaki 3MH ve 3MHA bileşiklerinin miktarlarının farklı olmasının, kullanılan şıraların bileşimindeki farklılıklardan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Dufour ve ark (2013), yaptıkları çalışmada, şarap matriksi oluşturmuş ve endüstriyel olarak kullanılan 7 farklı *S. cerevisiae* suşunun uçucu tiol üretebilme yeteneğini incelemişlerdir. Şaraplarda miktarları 2 ng/l ile 18.6 ng/l arasında değişen 4MMP, miktarları 266 ng/l ile 1193.1 ng/l arasında değişen 3MH bileşiği ve miktarları 42.5 ng/L ile 131.2 ng/L arasında değişen 3 MHA bileşiği tespit etmişlerdir.

Rigou ve ark (2014), Fransa'nın Languedoc Roussillon bölgesinde yetişen ve frenk üzümü aroması içerdiği düşünülen 10 adet kırmızı şarapta uçucu tiol miktarlarını belirlemişlerdir. 4MMP, 3MHA ve 3MH bileşiklerinin bütün şaraplarda belirlendiği ve konsantrasyonlarının sırasıyla en düşük 4.83, 4.62, 678 ng/L, en yüksek ise 54.2, 153 ve 11500 ng/L olarak bulunduğu belirtilmiştir. Elde edilen kimyasal ve duyu analizi sonuçlarına göre, 4MMP bileşiğinin 16 ng/L'ın

üzerine çıkması 4MMP uçucu tiol bileşiğinin kırmızı şaraba frenk üzümü aroması verdiğini göstermiştir.

Concejero ve ark (2016), yaptıkları çalışmada 2012 ve 2013 yıllarında farklı günlerde bağbozumu yapılan Merlot üzümlerinden şarap üretmişler ve bu şaraplardaki uçucu tiol miktarlarını belirlemişlerdir. 2012 yılında üretilen şaraplarda 3MH bileşiğinin konsantrasyonları 49 ng/L ile 1094 ng/L aralığında, 3MHA bileşiğinin konsantrasyonları 2.41 ng/L ile 248 ng/L aralığında belirlenmiştir. 2013 yılında üretilen şaraplarda 3MH bileşiğinin konsantrasyonları 5.19 ng/L ile 2585 ng/L aralığında, 3MHA bileşiğinin konsantrasyonları 1.17 ng/L ile 239 ng/L aralığında tespit edilmiştir.

Deed ve ark (2017), Sauvignon Blanc şirasından şarap üretmişler, fermantasyon sıcaklığı ve kullanılan mayaların şarabın uçucu tiol ve aroma bileşikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. 12.5°C’de gerçekleştirilen fermantasyon sonucu şaraplarda daha düşük miktarda 3MH bileşiği oluştuğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca çalışmada kullanılan ticari maya suşlarının uçucu tioller üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Mafata ve ark (2018), Güney Afrika’da üretilen Pinotage, Şiraz ve Cabernet Sauvignon şaraplarının uçucu tiol bileşik miktarlarını DTDP türevlendirme ajanını kullanarak UPS²-MS/MS cihazı ile tespit etmişlerdir. Pinotage şarabında 3MH, 3MHA ve 4MMP bileşikleri sırasıyla bileşikleri sırasıyla 127-311 ng/L, 6.9-12.2 ng/L ve 0.4-1.6 ng/L aralığında tespit edilmiştir. Cabernet Sauvignon şarabında 3MH, 3MHA ve 4MMP bileşikleri sırasıyla 67-147 ng/L, 23.0-23.7 ng/L ve 2.6-3.2 ng/L aralığında tespit edilmiştir. Şiraz şarabında 3MH, 3MHA ve 4MMP bileşikleri sırasıyla 69-363 ng/L, 4.7-8.4 ve 0.7-2.8 aralığında tespit edildiği bildirilmiştir.

Chen ve ark (2020), yaptıkları çalışmada Yeni Zelenda’nın farklı bölgelerinde üretilen Sauvignon Blanc şaraplarında uçucu tiol bileşiklerinin konsantrasyonlarını incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan 21 adet Sauvignon Blanc

şaraplarında 4MMP, 3MH ve 3MHA bileşiklerini sırasıyla 4-96 ng/L, 40-514 ng/L, 5-47 ng/L konsantrasyonları arasında belirlemişlerdir.

Nicolini ve ark (2020), 15 beyaz, 23 kırmızı hibrit üzüm çeşidinde yaptığı çalışmada, 3MH bileşiğinin öncül bileşenleri olan G3MH ve Cys3MH bileşenlerini incelemişlerdir. G3MH konsantrasyonunun 4.4-1141 µg/kg arasında, Cys3MH konsantrasyonunun ise 0.3 ile 136 µg/kg arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Sadece 2 hibrit üzüm çeşidinde 4MMP öncül bileşiği belirlenmiştir. Öncül bileşiklerin, kırmızı üzüm çeşitlerinde, beyaz üzüm çeşitleri göre daha yüksek konsantrasyonda bulunduğu aktarılmıştır.

Parish-Virtue ve ark (2021), yaptıkları çalışmada Yeni Zelenda'da yetiştirilen Sauvignon Blanc üzümlerini kullanmışlardır. Üzümlerden, serbest şıra, düşük basınç altında pres ve yüksek basınç altında pres ile şıra elde etmişler ve fermantasyon sonucunda elde edilen şaraplarda 3MH ve 3MHA bileşiklerinin konsantrasyonlarını incelemişlerdir. 3MH bileşiğinin konsantrasyonlarının 123 ng/L ile 2368 ng/L, 3MHA bileşiğinin konsantrasyonlarının ise 93 ng/L ile 705 ng/L arasında olduğunu belirtmişlerdir. Her iki bileşikte de en yüksek miktarın serbest şıra ile elde edilen şaraplarda, en düşük miktarın ise yüksek basınç altında elde edilen şıra kullanılarak elde edilen şaraplarda olduğu bildirilmiştir.

2.2. Non-Saccharomyces Mayaların Uçucu Tiol Bileşiklerine Etkisi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Anfang ve ark (2009), yaptıkları çalışmada 11 non-Saccharomyces suşunun (*P. kluyvery*, *C. zemplinina*, *H. uvarum*, *Pichia sp.*, *C. californica*, *C. railenensis*, *C. railenensis/oleophila* ve *I. orientalis*) Sauvignon Blanc şırasında uçucu tiol üretebilme yeteneğini incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan non-Saccharomyces mayaların hepsinin, 3MH bileşiğini algılanma eşiğinin üzerinde (60 ng/l) üretebildiği belirlenmiştir. Ancak sadece birkaç suşun 3MHA bileşiğini 200 ng/l üzerinde üretebildiği saptanmıştır. Çalışmada kullanılan, 2 *C.zemplinina* suşunun 3MH bileşiğini 3000 ng/l üzerinde ürettiği, 2 *P.kluyveri* suşunun da

3MHA bileşiğini 200 ng/l üzerinde ürettiğini belirlenmiştir. Anfang ve ark (2009), aynı çalışmada iyi sonuç veren bu suşlar ile *S. cerevisiae* (VL3) mayasının karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen şaraplarda 3MH ve 3MHA bileşikleri incelenmişlerdir. *C. Zemlinina* ve *S. cerevisiae* karışık kültür fermantasyonlarının 3MH bileşiğinin miktarını saf kültür fermantasyonlarına kıyasla arttırdığı; *P. Kluvery* ve *S. cerevisiae* karışık kültür fermantasyonlarının 3MHA bileşiğinin miktarını 1000 ng/L üzerine çıkardığı tespit edilmiştir.

Zott ve ark (2011), 7 türe ait 15 farklı non-*Saccharomyces* ve 2 farklı *S.cerevisiae* maya suşları ile Sauvignon Blanc sırasında ve deneysel sıra matrisinde saf kültür fermantasyonu gerçekleştirmiş ve kullanılan maya suşlarının uçucu tioller üzerine etkisini araştırmışlardır. Oluşturulan matris ile elde edilen şaraplarda *M.pulcherrima* (Mc1LT1) suşunun 3MH bileşiğini 1000 ng/L'nin üzerinde; 4MMP bileşiğini yaklaşık 10 ng/L olarak tespit edilmiş ve bu suşun 3MH ve 4MMP bileşiklerini çalışmada kullanılan tüm mayalardan daha fazla ürettiği belirlenmiştir. Sauvignon Blanc şirasından elde edilen şaraplarda ise çalışmada kullanılan 3 *M.pulcherrima* (Lc3LT30, Q4LT1, Q6LT26) suşlarının 200 ng/L ile *S.cerevisiae* ile elde edilen şaraplardan daha yüksek miktarda 3MH bileşiği içerdiği belirlenmiştir. 4MMP bileşiği ise en yüksek 90 ng/L ile *S.cerevisiae* (X5) kullanılarak elde edilen şarapta tespit edilmiştir.

Sadoudi ve ark (2012), *C. zemlinina*, *T. delbrueckii* ve *M. pulcherrima* mayalarının saf kültür ve *S. cerevisiae* ile karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen Sauvignon Blanc şaraplarında 4MMP, 3MH ve 3MHA konsantrasyonlarını incelemişlerdir. *C. Zemlinina*'nın saf kültür fermantasyonuyla elde edilen şarapta 4MMP bileşiği 44 ng/L, *M. pulcherrima*'nın saf kültür fermantasyonuyla elde edilen şarapta 3MH bileşiği 3151.8 ng/L olarak tespit edilmiş ve bu konsantrasyonların *S. cerevisiae* ile elde edilen şarapta belirlenen 4MMP ve 3MH konsantrasyonlarından fazla olduğu belirlenmiştir. *S. cerevisiae*'nin saf kültür fermantasyonu ile elde şarapta 3MHA bileşiği 513.6 ng/L olarak belirlenmiş ve bu konsantrasyonun non-*Saccharomyces* mayaların fermantasyonuyla elde edilen

şaraplardaki 3MHA konsantrasyonlarından çok daha fazla olduğu belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlar, kullanılan non-*Saccharomyces* mayaların 3MH bileşiğini 3MHA bileşiğine dönüştürmek için sınırlı bir kapasiteye sahip olduğunu göstermiştir.

Belda ve ark (2017), iki farklı *S. cerevisiae* suşunun saf ve *T. delbrueckii* ile karışık kültür fermantasyonuyla elde edilen Verdejo şaraplarında 4MMP, 3MH ve 3MHA bileşiklerinin konsantrasyonlarını incelemiştir. *T. delbrueckii* kullanılarak yapılan karışık fermantasyonlarda 3MHA bileşiğinin miktarında önemli bir değişiklik belirlenemezken; 3MH bileşiğinin miktarında artış olduğu tespit edilmiştir. Saf *S. cerevisiae* şaraplarının bir tanesinde 4MMP bileşiği belirlenemezken diğer şarapta bu bileşik miktarı 10 ng/L'nin altında belirlenmiştir. *T. delbrueckii* kullanılarak yapılan karışık fermantasyonlarda ise 4MMP bileşiğinin miktarları 60 ng/L üzerine çıktığı belirlenmiştir. Çalışmada 4MMP için öncü bileşik olarak Cys4MMP belirlenmiş ve çalışmada kullanılan *T. delbrueckii* suşunun Cys4MMP öncü bileşiğinden 4MMP bileşi oluşturabileceği tespit edilmiştir.

Englezos ve ark (2018), yaptıkları çalışmada *S. cerevisiae*'nin saf ve *S. bacillaris* ile karışık kültür fermantasyonu ile Chardonnay, Muscat, Riesling ve Sauvignon Blanc şarapları üretmişler ve bu şarapların uçucu tiol ve aroma profilini incelemiştir. Chardonnay, Muscat ve Riesling üzümleri ile yapılan şaraplarda 3MH ve 3MHA bileşikleri tespit edilemediğini; Sauvignon Blanc üzümü ile yapılan saf ve karışık kültür şaraplarında 3MH bileşiğinin tespit edildiğini bildirmişlerdir. 3MH bileşiğinin konsantrasyonu, *S. cerevisiae*'nin saf kültürü ile üretilen Sauvignon Blanc şarabında 198 ng/L, *S. bacillaris* ve *S. cerevisiae* mayalarının karışık kültürü ile üretilen Sauvignon Blanc şarabında 269 ng/L olarak tespit edilmiştir.

Ruiz ve ark (2018), iki farklı *S. cerevisiae* suşunun saf ve *M. pulcherrima* ile karışık kültür fermantasyonuyla elde edilen Verdejo şaraplarında 4MMP, 3MH ve 3MHA bileşiklerinin konsantrasyonlarını incelemiştir. *S. cerevisiae*

kullanılarak elde edilen şaraplarda 3MH ve 3MHA bileşiklerinin konsantrasyonlarının, karışık kültür kullanılarak elde edilen şaraplardaki konsantrasyonlardan fazla olduğunu belirlenmiştir. Aynı çalışmada *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının karışık kültür fermantasyonları ile elde edilen şarapta 4MMP bileşiğinin konsantrasyonları, *S. cerevisiae*'nin saf kültür fermantasyonlarıyla elde edilen şaraptaki 4MMP bileşiğinin konsantrasyonundan 6.4 kat fazla olduğu bildirilmiştir.

Seguinot ve ark (2020), şarap matriksleri oluşturmuş ve *S. cerevisiae* mayasının saf ve *M. pulcherrima* mayası ile karışık kültür fermantasyonun uçucu tioller üzerine etkisini incelemişlerdir. *S. cerevisiae* mayasının saf kültür fermantasyonu sonucu elde edilen şaraplarda 4MMP bileşiği 16 ng/L ile 41 ng/L ve 3MH bileşiği 72 ng/L ile 152 ng/L aralığında tespit edilmiştir. Bu şaraplarda 3MHA bileşiği tespit edilememiştir. *S. cerevisiae* ve *M. pulcherrima*'nın karışık kültür fermantasyonunda 4 MMP bileşiği 66 ng/L ile 326.2 ng/L, 3MH bileşiği 273.7 ile 821.3 ng/L aralığında ve 3MHA bileşiği ise 32.3 ng/L olarak bulunmuştur. Karışık kültür fermantasyonun uçucu tiol konsantrasyonunu arttırdığı belirlenmiştir.

Windholtz ve ark (2021), yaptıkları çalışmada Merlot üzümünden şarap üretmişler, *S. cerevisiae* mayasının saf, *T. delbruecki* ve *M. pulcherrima* mayaları ile karışık ve ardışık kültürlerinin 3MH ve aroma maddeleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Elde edilen şaraplarda 3MH bileşiğinin konsantrasyonları 612 ng/L ile 1897 ng/L aralığında belirlenmiştir. En yüksek 3MH konsantrasyonu 1897 ng/L ile *S. cerevisiae* mayasının saf kültürü ile elde edilmiş, bu şarabı 1048 ng/L ile *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* mayalarının ardışık kültürü ile elde edilen şarapta tespit edildiği saptanmıştır.

2.3. *M. pulcherrima* Mayasının Şarabın Aromasına Etkisi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Sadoudi ve ark (2012), *C. zemplinina*, *T. delbrueckii* ve *M. pulcherrima* mayalarının saf kültür ve *S. cerevisiae* ile karışık kültür fermantasyonu sonucu

Sauvignon Blanc şarapları elde etmiş ve bu şarapların aroma profilini incelemişlerdir. *C. zemplinina* mayasının saf kültürü ile elde edilen şarabın terpen ve lakton bileşiklerini yüksek miktarda içerdiği belirlenmiştir. *M.pulcherrima* ve *S.cerevisiae* mayalarının karışık kültür fermantasyonunun yağ asitlerinin etil esterleri ve yüksek alkollerin asetatları üzerine olumlu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu şarapta, izoamil asetat bileşiği 4736 µg/L, hekzil asetat bileşiği 860.4 µg/L, etil hekzanot bileşiği 1786 µg/L ve etil oktanoat bileşiği 864.9 µg/L miktarlarında belirlenmiş ve bu bileşiklerin miktarlarının diğer şaraplarda belirlenen miktarların çok üzerinde olduğu tespit edilmiştir. *T. delbrueckii* ve *S. cerevisiae* karışık kültür fermantasyonunun terpen bileşikleri ve 2-fenil etil asetat bileşiği üzerine olumlu etki gösterdiği vurgulanmıştır.

Benito ve ark (2015), Riesling üzümünü kullanarak *S. cerevisiae*'nin saf ve *K. Thermotolerans*, *P. kluyveri* ve *M. pulcherrima* mayalarının ardışık kültür fermantasyonları ile şarap üretmişler, şarapların genel bileşimi ve aroma profilini incelemişlerdir. Ardışık kültür fermantasyonlarının, *S. cerevisiae* fermantasyonuna göre daha düşük miktarda asetaldehit, daha yüksek miktarda gliserol ürettiğini bildirmişlerdir. *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* ardışık kültür fermantasyonunun, *S. cerevisiae* saf kültür fermantasyonuna göre etil bütanoat, etil hekzanoat, etil oktanoat ve etil dekanat gibi etil ester bileşiklerini daha yüksek miktarda oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Gonzalez-Royo ve ark (2015), yaptıkları çalışmada *S. cerevisiae*'nin saf ve endüstriyel olarak satılan *T. delbrueckii* (Biodivia) ve *M.pulcherrima* (Flavia) mayalarının karışık kültür fermantasyonu ile Macabeo köpüren şarabı elde etmiş ve bu şarabın genel bileşimi ve aroma profilini incelemişlerdir. *S. cerevisiae* mayasının saf kültür fermantasyonu ile elde edilen şarabın etil dekanat, etil oktanoat, etil laktat ve etil hekzanoat gibi major ester bileşiklerini daha yüksek miktarda ürettiği belirlenmiştir. *M.pulcherrima* ve *S.cerevisiae* mayalarının karışık kültür fermantasyonu ile elde edilen şarapların lakton ve yüksek alkol bileşiklerini daha fazla içerdiği ve elde edilen şaraba meyvemsi aroma kazandırdığı

belirlenmiştir. *T.delbrueckii* ve *S.cerevisiae* mayalarının karışık kültür fermantasyonu ile elde edilen şarapların ise daha düşük uçar asit miktarına sahip olduğu tespit edilmiştir.

Liu ve ark (2016), yaptıkları çalışmada *S. cerevisiae*'nin saf ve *H. uvarum*, *C. stella*, *M. pulcherrima*, *P. fermentans*, *I. Orientalis* mayaları ile karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen Cabernet Sauvignon şaraplarının aroma profilini incelemişlerdir. *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının karışık kültürü ile elde edilen şarapta izoamil asetat, etil bütanoat, etil oktanoat gibi ester, 2-fenil etanol ve izopentanol gibi yüksek alkol bileşikler, *S. cerevisiae* saf kültür şarabına göre daha yüksek miktarda tespit edilmiştir.

Seguinot ve ark (2020), şarap matriksleri oluşturmuş ve *S. cerevisiae* mayasının saf ve *M. pulcherrima* mayası ile karışık kültür fermantasyonun aroma maddeleri üzerine etkisini incelemişlerdir. *S. cerevisiae* ve *M. pulcherrima*'nın karışık kültür fermantasyonunun izobütil asetat, izoamil asetat, izobütanol, fenil etil asetat bileşiklerinin konsantrasyonlarını arttırdığı belirlenmiş ve karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen şarapların aroma profili bakımından daha zengin olduğu tespit edilmiştir.

Karabegovic ve ark (2021), ticari *S. cerevisiae*, *T. delbrueckii* ve *M. pulcherrima* mayalarının saf ve karışık kültürlerini kullanarak ürettikleri Prukupac şarabının genel bileşimi, aroma ve duyuşal profilini araştırmışlardır. Çalışmada 27 adet aroma bileşiği tanımlanmıştır. *M. pulcherrima* mayasının saf kültür fermantasyonu ile elde edilen şarap aroma profili bakımından en zayıf şarap olmuştur. *M. pulcherrima* mayasının *S. cerevisiae* mayası ile karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen şarapta etil izohekzanot, dietil süksinat, etil dodekanoat, etil bütanoat bileşikler, diğer şaraplara göre daha yüksek miktarda tespit edilmiştir.

Ge ve ark (2021), Vidal Blanc üzümünü kullanarak *S. cerevisiae*'nin saf kültür ve *H. Uvarum*, *S. crataegensis*, *M. pulcherrima*, *P. kluyveri*, *R. lusitaniae* mayalarının karışık kültür fermantasyonlarının şarabın aroması üzerine etkisini

incelemişlerdir. Karışık kültür ile üretilen şaraplarda, *S. cerevisiae*'nın saf kültür şarabına göre polifenoller, ester bileşiklerini ve terpen bileşikleri daha yüksek miktarda tespit edildiğini bildirmişlerdir. *S. crataegensis* ve *S. cerevisiae* karışık kültür fermantasyonu sonucu üretilen şarap etil ester, linalool, sitronellol, izoamil etanoate, benzilkarbinil asetat, izobütil asetat gibi bileşikler yüksek konsantrasyonlarda oluşturması nedeniyle Vidal Blanc şarabı üretiminde kullanılabileceği bildirilmiştir.

Munoz-Redondo ve ark (2021), yaptıkları çalışmada *S. cerevisiae*, *M. pulcherrima* ve *T. Delbruecki* mayalarının saf ve karışık kültür fermantasyonları ile Grenache ve Cabernet Sauvignon üzemlerini kullanarak pembe şarap üretmişler ve bu şarapların genel bileşimi ve aroma profilini incelemişlerdir. *S. cerevisiae* ve *M. pulcherrima* mayalarının karışık kültür fermantasyonu sonucu üretilen şarapta ester bileşiklerinin miktarları arttığı ve asetaldehit miktarının azaldığı bildirilmiştir. Karışık kültür fermantasyonunun özellikle izoamil bütirat ve izobütil hekzanoat bileşiklerini önemli miktarda arttığı tespit edilmiştir.

Zhang ve ark (2022), yaptıkları çalışmada erik şarabı üretmişler, *S. cerevisiae* mayasının saf kültür fermantasyonunun ve *M. pulcherrima* mayası ile farklı oranlarda karışık ve ardışık fermantasyonunun erik şarabı aromasının üzerine etkisini incelemişlerdir. Karışık kültür şaraplarının hekzil asetat, izoamil asetat ve 2-feniletıl asetat, etıl oktanoat gibi ester bileşiklerinin konsantrasyonlarını arttırdığını tespit etmişlerdir. Kontrol şarabında terpen bileşiğı tespit edilememiş olup fermantasyonda *M. pulcherrima* mayasının oranının artması ile terpen bileşiğinin konsantrasyonlarının arttığı saptanmıştır. 10:1 oranında *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının ardışık kültürlerinin 258 µg/L ile Linalool bileşiğini en yüksek miktarda oluşturduğunu tespit etmişlerdir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan Sauvignon Blanc üzümleri (Şekil 3.1.) Denizli'nin Güney ilçesinden temin edilmiştir. Üzümler 20 kg'lık kasalarla Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Pilot Şarap İşletmesi'nde şaraba işlenmiştir.



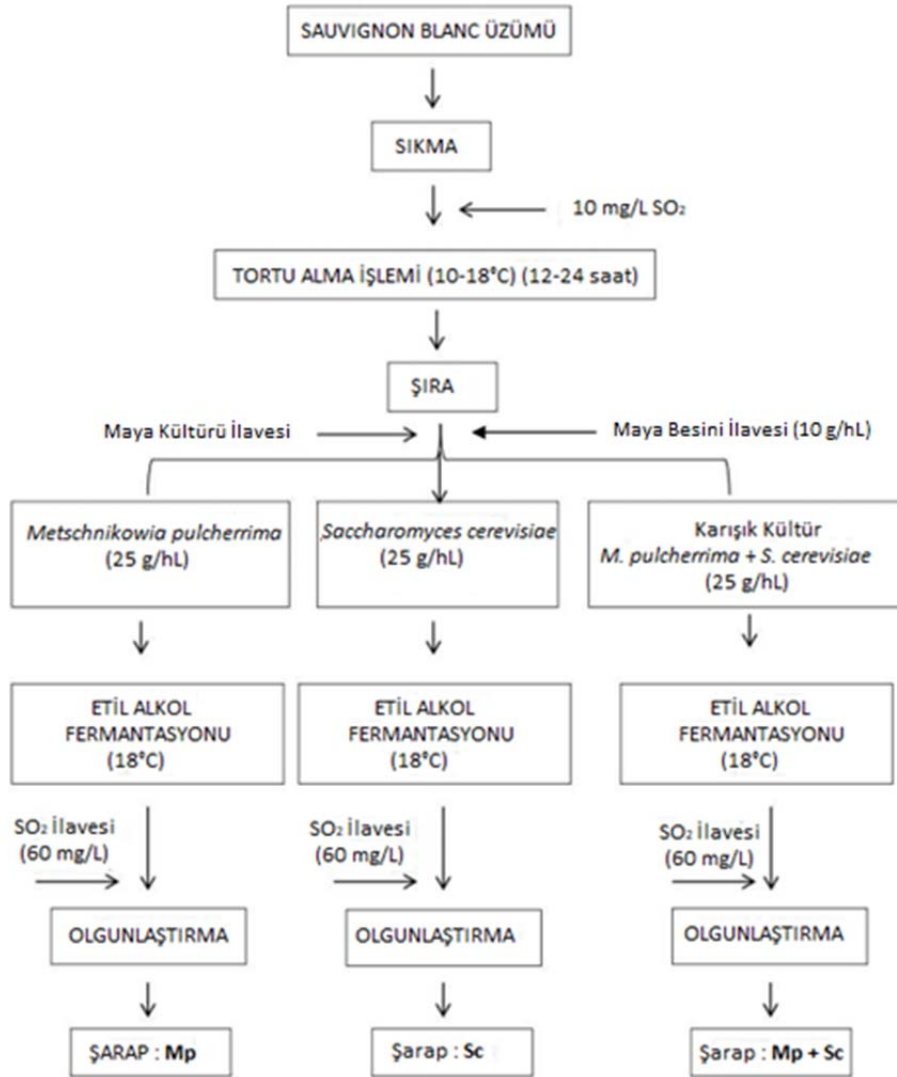
Şekil 3.1. Sauvignon Blanc Üzümü

Ticari maya olarak non-*Saccharomyces* maya olan *Metschnikowia pulcherrima* (Flavia Mp 346, Lallemmand, Danimarka) ve *Saccharomyces cerevisiae* (Sauvy, Lallemmand, Fransa) kullanılmıştır. Maya besini olarak Nutricell Start (Martin Vialatte, Fransa) kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Üzümlerin Şaraba İşlenmesi

Kültür mayaları ile Sauvignon Blanc üzümünden beyaz şarap üretim aşamaları Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Beyaz Şarap Üretim Aşamaları

Denemeler Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Pilot Şarap İşletmesi'nde gerçekleştirilmiştir. Üzümler el presi ile sıkılmış ve elde edilen şıraya 10 mg/L SO₂ ilave edilmiştir. Şıraya 8-12°C'de 24 saat tortu alma işlemi uygulanmıştır. Tortu ayırma işleminden sonra şıraya 10 g/hL olacak şekilde maya besini ilave edilmiştir. Daha sonra 200 mg/L oranında dimetil dikarbonat (DMDC) eklenerek şıra sterilize edilmiş ve 25 g/hL olacak şekilde maya ilavesi yapılmıştır. Karışık kültür fermantasyonunda ilk gün *M. pulcherrima* mayası ilave edilmiş, 24 saat sonra *S. cerevisiae* mayası eklenmiştir. Denemeler üç paralelli olarak, 1 litrelik cam fermantasyon şişelerinde gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon denemeleri Şekil 3.3.'te gösterilmiştir. Fermantasyon sıcaklığı 18°C olarak ayarlanmış ve fermantasyon boyunca her gün yoğunluk ve sıcaklık takipleri yapılmıştır. Yoğunluk 1,00 g/cm³'ün altına düştüğü zaman şarap aktarılmış ve alkol fermantasyonuna son verilerek, 60 mg/L düzeyinde SO₂ ilave edilmiştir. Elde edilen şaraplar analizleri yapılncaya kadar 10-15 °C'de yaklaşık 4 ay tutulmuştur.



Şekil 3.3. Fermantasyon Denemeleri

M. pulcherrima kullanılarak elde edilen şarap Mp şarabı, *S. cerevisiae* kullanılarak elde edilen şarap Sc şarabı, karışık kültür kullanılarak elde edilen şarap ise Mp+Sc şarabı olarak isimlendirilmiştir.

3.2.2. Şıra ve Şaraplarda Yapılan Genel Analizler

Şırada SÇKM (°Briks), toplam asitlik, yoğunluk, pH, indirgen şeker ve organik asit, kullanılabilir azot miktarı tayini ve maya sayımı analizleri yapılmıştır. Şaraplarda şırada yapılan analizlere ek olarak alkol, uçar asit, serbest ve toplam SO₂, uçucu tioller, makro ve mikro aroma maddelerinin analizleri yapılmıştır.

3.2.2.1. Suda Çözünür Kurumadde (%Briks) Tayini

Üzüm sırasında SÇKM refraktometre ile % Briks (20 °C’de) olarak belirlenmiştir (OIV, 2022).

3.2.2.2. Yoğunluk Tayini

Şıranın yoğunluğu 20°C’de Mettler Toledo Densito 30PX markalı elektronik el dansimetresi ile belirlenmiştir. Şarapta yoğunluk ise, 20°C’de salınım (osilasyon) tekniği kullanılarak Anton Paar marka dansimetre ile g/cm³ cinsinden ölçülmüştür (OIV, 2022).

3.2.2.3. Toplam Asitlik Tayini

Toplam asitlik; 10 mL şıra ve şarap örneğine, 30 mL saf su ve 1 mL bromtimol mavisi indikatörünün eklenmesi ve ardından 0.1 N NaOH ile titre edilmesi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuç tartarik asit cinsinden g/L olarak verilmiştir (OIV, 2022).

3.2.2.4. pH Tayini

Şıra ve şarapların pH’sı doğrudan cam elektrotlu pH-metre kullanılarak ölçülmüştür (OIV, 2022).

3.2.2.5. HPLC Yöntemiyle Organik Asit ve Şeker Tayini

Şıra ve şarap örnekleri 0.45 µm membran filtreden geçirildikten sonra 20 µL örnek doğrudan Shimadzu marka HPLC’ye enjekte edilerek organik asit ve

şeker profilleri belirlenmiştir. Üzüm ve şaraplardaki organik asit ve şeker konsantrasyonlarının hesaplanmasında dış standart yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla standart çözeltilerden 5 farklı konsantrasyonda kalibrasyon çözeltileri hazırlanmış, HPLC'ye enjekte edilmiş ve elde edilen verilerden kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur ve bu eğriler kullanılarak örneklerdeki şeker ve organik asit miktarları belirlenmiştir (Rudnitskaya ve ark, 2006).

Organik asitlerin ve şekerlerin analizi, Bio-Rad Aminex HPX-87H (300 x 7.8 mm) kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekerlerin analizi için, rekraktif indeks (RID) dedektörü, organik asit analizi için ise Diode Array (DAD) dedektörü 210 nm dalgaboyunda absorbands alınarak kullanılmıştır. Analizlerde taşıyıcı faz olarak 5 mM'lik sülfirik asit çözeltisi kullanılmıştır. Akış hızı 0.5 ml/dk ve kolon sıcaklığı 50°C olarak ayarlanmıştır (Rudnitskaya ve ark, 2006).

Organik asit ve şeker miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart maddeler, bu maddelere dair genel veriler (molekül ağırlıkları ve formülleri), standartların alıkonma zamanları (RT), çalışılan konsantrasyon aralığı ve kullanılan denklemlerin R^2 değerleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Analizde Kullanılan Şekerlerin ve Organik Asitlerin Validasyon Parametreleri

Standart	Formül	MA (g/mol)	RT	Kons. Aralığı	R^2
Şekerler					
Sakkaroz	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342.3	9.6	0.1-3.7	0.9997
Glikoz	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.16	11.2	0.2-5.2	0.9995
Fruktoz	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.16	12.3	0.2-5.3	0.9996
Organik Asitler					
Sitrik asit	C ₆ H ₈ O ₇	192.124	9.9	0.08-2.2	0.9992
Tartarik asit	C ₄ H ₆ O ₆	150.087	10.6	0.15-5.08	0.9990
Malik asit	C ₄ H ₆ O ₅	134.09	11.9	0.15-5.0	0.9990
Laktik asit	C ₃ H ₆ O ₃	90.08	15.5	0.17-5.5	0.9991

3.2.2.7. Şıradaki Kullanılabilir Azot Miktarı (YAN) Tayini

1N NaOH ile 50 ml şıranın pH'sı 8.5'a ayarlanmış ve 20 ml formaldehit (pH 8.5) ilave edilmiştir. Birkaç dakika beklenmiş ve pH 8.5 olana kadar 0.1 N NaOH ile titrasyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sarfiyat 'n' olarak kaydedilmiş ve sonuç aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır. (Laffort Oenologie, 1997)

$$\text{YAN} = 28 \times n \text{ (mg/L)}$$

3.2.2.8. Maya Sayımı

S. cerevisiae sayımı için YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose Agar) kullanılmış, petriler 28°C'de 2-3 gün inkübasyona bırakılmıştır (Esteve-Zarzoso ve ark, 2000; Fleet ve Heard, 2002).

M. pulcherrima sayımında L-lizin agar besiyeri kullanılmış ve petriler 28°C'de 2-3 gün inkübasyona bırakılmıştır (Halkman, 2005).

3.2.2.9. Alkol Tayini

Alkol analizi NIR (Yakın Kızılötesi Spektroskopisi) yöntemi ile yapılmıştır. Şarapların hacmen etil alkol derecesini belirlemek için Anton Paar NIR Spektrometresi kullanılmıştır. Alkol oranı % hacmen 2 basamaklı olarak ifade edilmiştir (OIV, 2022).

3.2.2.10. Uçar Asit Tayini

Şarapların uçur asit miktarları Dujardin Salleron marka buharlı damıtma sistemi ile 20 mL numuneden elde edilen damıtığın titrasyonu ile belirlenmiştir. Titrasyon sonucu sodyum hidroksit ile elde edilen sarfiyat n, iyotla yapılan ilk titrasyonda elde edilen sarfiyat n' ve iyotla yapılan ikinci titrasyonda elde edilen sarfiyat n'' olarak alınmış ve aşağıdaki formülle hesaplanmış ve uçur asit değeri asetik asit cinsinden g/l olarak verilmiştir (OIV, 2022).

$$\text{Uçar Asit} = 0,3(n - n' / 10 - n'' / 20)$$

3.2.2.11. Toplam ve Serbest Kükürt Dioksit Tayini

Serbest kükürt dioksit tayini, 50 mL şarap örneğinin, 5 mL nişasta çözeltisi, 30 mg EDTA ve 3 mL H₂SO₄ çözeltisi ile 500 mL'lik erlen içerisinde karıştırılıp, 0.025 M iyot ile titrasyonu ile gerçekleştirilmiştir. İyot ile titrasyonda elde edilen sarfiyat **n** mL olarak alınmıştır (OIV, 2022).

Toplam kükürt dioksit tayininde ise, serbest SO₂'deki işleme devam edilmiştir. Örneğe 8 ml 4 M NaOH ve 10 ml H₂SO₄ çözeltisi ilave edilerek 0,025 M iyot ile titrasyonu gerçekleştirilmiştir. Titrasyonda elde edilen sarfiyat **n'** ml olarak alınmıştır. 20 mL 4 M NaOH, 200 mL soğutulmuş saf su ve 30 mL H₂SO₄ ilavesi yapılarak çözelti 0,025 M iyot ile titre edilmiştir ve sarfiyat **n''** ml olarak alınmıştır (OIV, 2022). Şarap örneklerinde bulunan serbest ve toplam kükürt dioksit miktarları aşağıdaki formülle hesaplanmış ve elde edilen değerler mg/L olarak verilmiştir.

$$\text{Serbest SO}_2 = 32 \times n \text{ (mg/L)}$$

$$\text{Toplam SO}_2 = 32 \times (n + n' + n'') \text{ (mg/L)}$$

3.2.3. Şaraplarda LC-MS/MS ile Uçucu Tiol Bileşiklerinin Analizi

Uçucu tiol analizi için Capone ve ark (2015), tarafından bildirilen yöntemde bazı değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Metotta 4,4'-ditiodipiridin (DTDP) türevlendirme ajanı olarak kullanılmıştır. Uçucu tiol bileşiklerinin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesinde Shimadzu 8040 marka LC-MS/MS cihazı kullanılmıştır.

Türevlendirme reaktifinin hazırlanması: 220 mg DTDP, 20 mL su ve 100 µL %37'lik HCl karışımı içerisinde ultrasonik su banyosu kullanılarak çözündürülmüş ve saf su ile 100 ml'lik hacmine tamamlanmıştır. Elde edilen 10mM'lık DTDP çözeltisi analizde kullanılıncaya dek -20°C'de saklanmıştır.

Model Şarabın Hazırlanması

Model şarap, %10 etil alkol-su karışımının potasyum hidrojen tartarat ile doyurulması ve pH değerinin tartarik asit ile 3.2'ye ayarlanması ile hazırlanmıştır.

Uçucu Tiol Standartlarının Hazırlanması ve Türevlendirilmesi

4MMP, 3MH ve 3MHA bileşiklerinin standartlarını içeren ve bu standartların son konsantrasyonları 10 mg/L olan etil alkol çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiden 50 µL alınarak hazırlanan model şaraba eklenmiştir. Hazırlanan 10 mM'lık DTDTP reaktifinden 125 µL model şaraba eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 30 ile 60 dakika beklenmiş ve süre sonunda 150 µL %37'lik HCl ilave edilmiştir. Uçucu tiol standartlarını içeren ve türevlendirilmiş model şarap viale alınmış ve LC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir. LC-MS/MS cihazının çalışma koşulları Çizelge 3.2.'de, kullanılan elüsyon sistemi ise Çizelge 3.3.'te verilmiştir.

Çizelge 3.2. LC-MS/MS Çalışma Koşulları

Cihaz	: Shimadzu 8040
Kolon	: Restek Raptor Biphenyl (100m x 2.1 mm x 2.7 µm)
Kolon Sıcaklığı	: 25°C
Mobil Faz	: gradient akış, A: formik asit / Su (0.5:99.5/ h:h)
	B: formik asit / asetonitril (0.5:99.5/ h:h)
Akış Hızı	: 0.2 mL/dak

Çizelge 3.3. LC-MS/MS Kullanılan Elüsyon Sistem

Süre (Dakika)	% A	% B
3.00	25	75
4.00	10	90
5.00	10	90
5.51	80	20
7.00	80	20

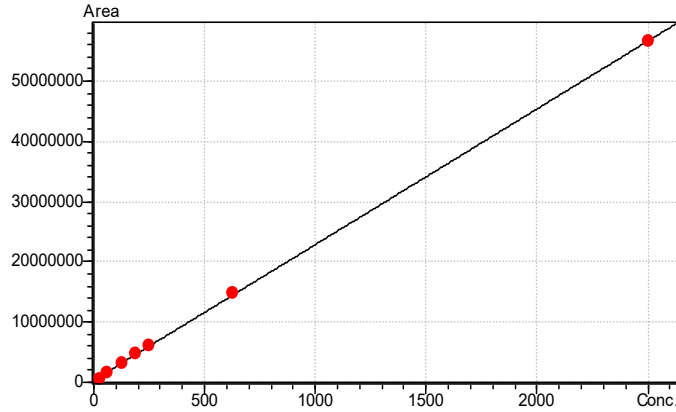
Bileşiklerin tanımlanmasında Çoklu Reaksiyon İzleme (MRM) yöntemi kullanılmış ve her bir standart için çıkış süreleri belirlenmiştir. Bu bileşiklerin MRM çiftleri ve çıkış süreleri Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Türetilmiş Tiollerin MRM Çiftleri ve Çıkış Süreleri

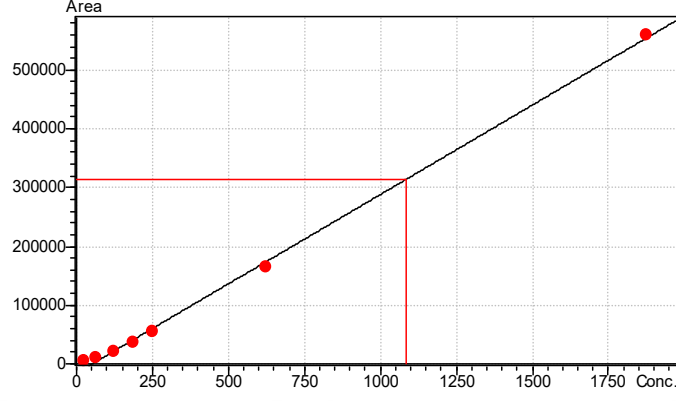
Bileşik	MRM Çiftleri	Çıkış Süresi (dakika)
4MMP	242.05 → 144	3.117
	242.05 → 111	
3MH	244.00 → 144	3.267
	244.00 → 111	
3MHA	286.05 → 144	3.916
	286.05 → 83	

Metot Kurulumu ve Validasyon

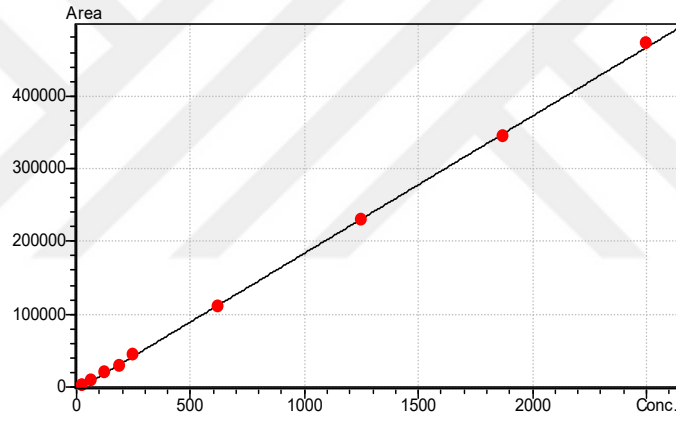
İnfüzyon için türevlendirilen standartlardan 9 farklı konsantrasyonda (2.5, 12.5, 62.5, 125, 250, 625, 1250, 1875, 2500 ng/L) çözelti hazırlanıp LC-MS/MS'e enjekte edilerek kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve elde edilen formüller doğrultusunda hesaplamalar yapılarak bileşiklerin miktarları belirlenmiştir. 4MMP bileşiğinin kalibrasyon eğrisi Şekil 3.4.'te, 3MH bileşiğinin kalibrasyon eğrisi Şekil 3.5.'te, 3MHA bileşiğinin kalibrasyon eğrisi Şekil 3.6.'da verilmiştir.



Şekil 3.4. 4MMP Bileşiğinin Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 3.5. 3MH Bileşiğinin Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 3.6. 3MHA Bileşiğinin Kalibrasyon Eğrisi

Kalibrasyon eğrilerinin R² değerleri, standart çözeltilerin geri kazanım oranları ve en düşük konsantrasyondaki çözeltinin tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ) değerleri Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Pearson korelasyon katsayısı (R^2), geri kazanım, tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ) değerleri

Bileşik	R^2	Geri Kazanım (%)	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)
4MMP	0.999	97.6	3.22	9.67
3MH	0.998	98.4	5.49	16.49
3MHA	0.999	102.1	4.72	14.16

Örneğin Analize Hazırlanması

20 ml şarap örneğine, 20 mg EDTA 2Na, 80 µL %50'lik asetaldehit ve 200 µL 10 mM DTDP reaktifi eklenmiş ve karıştırılarak yarım saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Şarap örneği, sırasıyla 6 ml metanol, 6 ml su ile yıkanan 500 mg, 6 ml, C18 Bond Elut hazır kartuştan 2ml/dakika hızla geçirilmiş ve daha sonra kartuş 12 ml %50'lik metanol ile yıkandıktan sonra 5 dakika hava geçirilerek kurutulmuştur. Kurutma tamamlanınca kartuşta tutulan tiol bileşikleri 3 ml metanol ile elüsyon işlemi yapılarak alınmıştır. Bu şekilde elde edilen elüsyon, azot gazı altında MD 200 Sample Concentrator marka evaporatör kullanılarak kuruluğa kadar konsantre edilmiş ve %10 etil alkol içeren çözeltiden 500 µL eklenerek LC-MS/MS cihazına hazır hale getirilmiştir.

3.2.4. Aroma Bileşiklerinin Analizi**3.2.4.1. Makro Aroma Bileşiklerinin Analizi**

Şarap örneklerinde bulunan makro aroma bileşikleri, örnek damıtıldıktan sonra gaz kromatografisine doğrudan enjeksiyonu ile (validasyon çalışması yapılmış bir metot) kullanılarak belirlenmiştir. Bu bileşikler; asetaldehit, metil asetat, etil asetat, asetal, n-propanol (propan-1-ol), izobütanol (2-metil-1-propanol), n-bütanol (bütan-1-ol), aktif amil alkol (2-metil-1-bütanol) ve izoamil alkol (3-metil-1-bütanol)'dür. Yöntemde şarabın damıtılması ile elde edilen distilat gaz kromatografisine doğrudan enjekte edilerek aroma bileşikleri belirlenmiştir.

Enjeksiyondan önce distilata 0.1 mL iç standart (3-pentanol) ilave edilmiş ve aroma bileşikleri uygun bir kolon ve sıcaklık programıyla birbirinden ayrılmış ve alev iyonlaşma dedektöründe (FID) tespit edilmiştir (Anonim, 2017).

Aroma bileşiklerinin belirlenmesinde kullanılan Agilent 7890A marka gaz kromatografisinin çalışma koşulları aşağıda verilmiştir.

- Kullanılan cihaz : Agilent 5975B VL MSD
- Enjektör : Split mode (50:1)
- Dedektör : Alev iyonlaşma dedektörü (FID)
- Kolon : Kapiler Fused-slica, “VARIAN” marka “CP-WAX 57CB” (60m, film kalınlığı: 0, 4µm)
- Enjeksiyon sıcaklığı : 1600C
- Dedektör sıcaklığı : 2500C
- Taşıyıcı gaz : Helyum (172kPa basınçta ve 1.3 ml/dakika akış hızında)
- Enjeksiyon hacmi : 1 µL
- Başlangıç Sıcaklığı : 400C
- Sabit Süre : 4 dk
- 1.Sıcaklık Artış Hızı : 1.80C/dk
- Sonraki Sıcaklık : 940C
- 2.Sıcaklık Artış Hızı : 30 0C/dk
- Son Sıcaklık : 180 0C
- Sabit Süre : 4 dk

Makro aroma maddelerinin miktarları kalibrasyonla elde edilen cevap faktörleri de dikkate alınarak hesaplanmıştır. Yöntemin validasyon parametreleri, çalışılan aralık, kalibrasyon eğrisinden elde edilen korelasyon katsayısı, geri kazanım, tayin limiti ye ölçüm limiti değerleri (Darıcı ve ark, 2019)’da belirtildiği gibidir.

3.2.4.2. Mikro Aroma Bileşiklerinin Analizi

Aroma bileşiklerinin ekstraksiyonunda Lopez ve ark. (2002) tarafından bildirilen katı faz ekstraksiyon yöntemi (SPE) kullanılmıştır. 50 ml örnek (40 µg/10 µl 4-nonanol iç standart olarak ilave edilmiş), sırasıyla 4 ml diklorometan, 4 ml metanol ve 4 ml %12'lik etanol çözeltisi ile yıkanan 200 mg LiChrolut EN propilen hazır kartuştan 2ml/dakika hızla geçirilmiştir. Daha sonra kartuş 2 ml saf su ile yıkandıktan sonra hava (-0,6 bar, 10 dakika) geçirilerek kurutulmuştur. Kurutma tamamlanınca kartuşta tutulan aroma bileşikleri 1,6 ml %1'lik metanol ile hazırlanmış diklorometan ile vialle elüsyon işlemi ile alınmıştır. Bu şekilde elde edilen ekstrakt doğrudan GC ve GC/MS' e enjekte edilerek aroma bileşikleri belirlenmiştir. Ekstraksiyonlar, her bir örnek için üç kez tekrarlanmıştır

GC-FID ve GC-MS koşulları: Aroma bileşiklerinin miktarı ve tanımlanması "Agilent 6890N" marka gaz kromatografisi ve buna bağlı "Agilent 5975B VL MSD" kütle spektrometresinde eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Miktar tayininde, alev iyonlaşma dedektörlü (FID) gaz kromatografisi kullanılmıştır. Aroma maddelerinin ayrımı CP-WAX 57CB kapiler kolon (60 m x 0.25 mm x 0.4 µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enjektör sıcaklığı 220 °C, dedektör sıcaklığı 250 °C, kolon sıcaklığı, 60°C'de 3 dakika beklemeden sonra, dakikada 2°C artarak 220 °C ye ve daha sonra dakikada 3°C artarak 245°C ye çıkacak ve bu sıcaklıkta 20 dakika sabit kalacak şekilde programlanmıştır. Cihaza enjekte edilen miktar 3 µl'dir. Taşıyıcı gaz olarak He kullanılmıştır. Helyumun akış hızı 1.5 ml/dakika olarak ayarlanmıştır. Dedektör ve enjektör sıcaklıkları 250°C olarak ayarlanmıştır.

Aroma bileşiklerinin tanımlanmasında; Yukarıda belirtilen gaz kromatografisine bağlı "Agilent 5975B VL MSD" marka kütle spektrometresi kullanılmıştır. Enjektör tipi ve sıcaklık programı gaz kromatografisi ile aynı koşulları taşımaktadır. Taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyumun hızı 1.5 ml/dk'dır. Kütle spektrometresinin iyonlaşma enerjisi 70 eV, iyon kaynağı sıcaklığı 250°C, kuadropol sıcaklığı 120°C tutularak, 1 saniye aralıklarla 29-350 kütle/yük (m/e) arasında tarama yapılmıştır. Piklerin tanısı, standardı bulunan bileşikler için

standart çözelti enjekte edilerek, standardı olmayan bileşikler için kütle spektrumunun bilgisayar hafızasındaki kütle spektrumu ile karşılaştırılması yoluyla yapılmıştır. Piklerin tanısı için Nist 2011 ve Wiley 2011 kütüphaneleri kullanılmıştır. Piklerin tanısından sonra aroma maddelerinin konsantrasyonları iç standart yöntemiyle hesaplanmıştır.

Aroma bileşiklerinin miktarlarının hesaplanması: Piklerin tanısından sonra aroma bileşiklerinin miktarlarının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

Hesaplama her bir bileşiğin cevap faktörü dikkate alınmıştır.

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

C_i : Bileşiğin konsantrasyonu

A_i : Bileşiğin pik alanı

A_{st} : İç standartın pik alanı

C_{st} : İç standartın konsantrasyonu (40 µg/100 ml) RF : Cevap faktörü

HF : Hesaplama faktörü (örnek miktarının kg'a çevrilmesi için faktör: 20)

3.2.5. İstatistik Değerlendirme

Elde edilen analiz sonuçları, SPSS 20.0 paket programı kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiş ve önemli bulunan farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Sauvignon Blanc Şırasının Bileşimi

Çalışmada kullanılan Sauvignon Blanc üzüm şırasının genel bileşimi Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Sauvignon Blanc Şırasının Genel Bileşimi

Yoğunluk g/cm ³	1.091
SÇKM (°Brix)	22.0±0.00
pH	3.15±0.00
Toplam Asit ^a (g/L)	5.85±0.06
Şekerler (g/L)	
Sakkaroz	0.6±0.14
Glikoz	100.6±0.28
Fruktoz	100.9±0.36
İndirgen Şeker	201.5±0.41
Organik Asitler (g/L)	
Tartarik Asit	5.79±0.21
Malik Asit	2.06±0.11
Sitrik Asit	0.24±0.00
Şırada Kullanılabilir Azot Miktarı (YAN) (mg/L)	235.6±0.14

^aTartarik asit cinsinden

Üzüm şırasının pH, toplam asit, suda çözünür kurumadde içerikleri ve indirgen şeker miktarı elde edilecek şarabın karakteristiği ve kalitesini etkileyen önemli faktörlerdendir (de Andrés-de Prado ve ark, 2007). Sauvignon Blanc üzümünden elde edilen şıranın yoğunluğu 1.091 g/cm³ ve SÇKM değeri 22.0 °Briks olarak belirlenmiştir. Boulton ve ark (1996), kalite beyaz şaraplık üzümlerde SÇKM miktarının 19.5 – 23.0 °Briks arasında olması gerektiğini bildirmişlerdir.

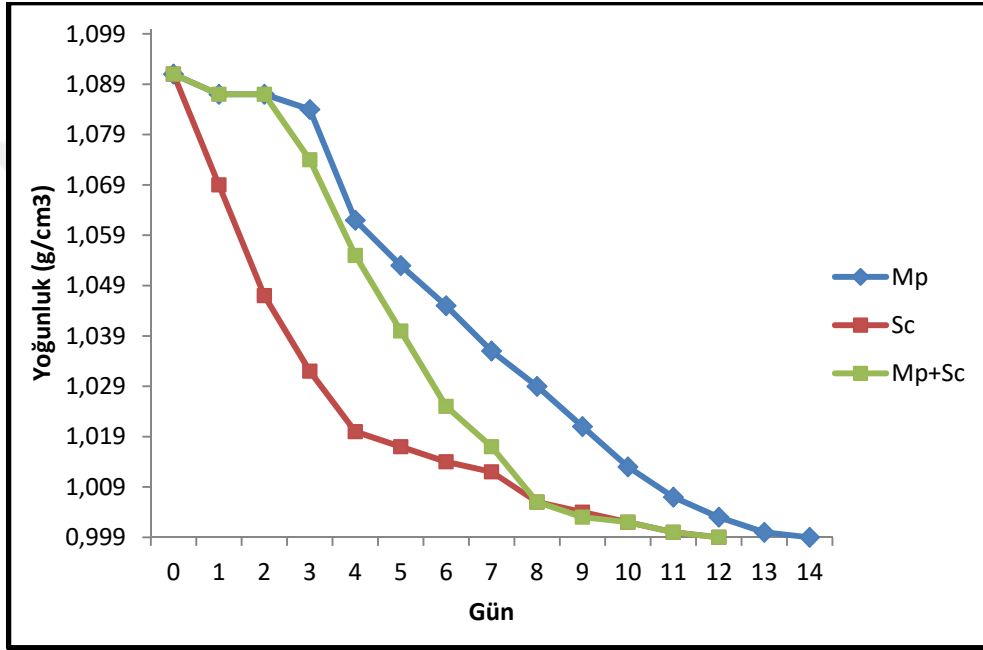
Sauvignon Blanc üzümünden elde edilen şıranın toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden 5.85 g/L, pH değeri ise 3.15 olarak bulunmuştur. Kalite beyaz şaraplık üzümlerde pH değerinin 3.0-3.30 arasında değiştiği ve tartarik asit cinsinden toplam asitlik değerinin 5.00-7.00 g/L arasında olması gerektiği bildirilmiştir (Boulton ve ark, 1996). Pinu ve ark (2019), yaptıkları çalışmada Yeni Zelenda'da yetiştirilen Sauvignon Blanc üzümlerinin toplam asit miktarının tartarik asit cinsinden 5.12 ile 14.63 g/L, pH değerlerinin ise 2.78 ile 4.14 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Elde edilen değerler literatürde belirtilen değerler arasındadır. Çalışmada kullanılan şıranın toplam asitlik değeri kalite şarap için uygundur.

Çalışmada kullanılan şıranın glikoz miktarı 100.6 g/L, fruktoz miktarı 100.9 g/L ve indirgen şeker miktarı 201.5 g/L olarak bulunmuştur. Üzümlerde indirgen şeker miktarı potansiyel alkol miktarını gösterdiği için oldukça önemlidir ve şaraplık üzümlerde indirgen şeker miktarı 150-250 g/L arasında değişmektedir (Cabaroğlu ve ark, 2020).

Mayalar tarafından kullanılabilir azot miktarı (YAN), fermantasyonun düzenli gerçekleşmesi açısından önemlidir. Üzüm çeşidi, üzümün yetiştirildiği bölge ve kültürel uygulamalar azot miktarını etkilemektedir. Çalışmada kullanılan şıranın YAN miktarı 235.6 mg/L olarak bulunmuştur. Beltran ve ark (2004), üzümde 140 mg/L YAN miktarının yeterli olduğunu fakat fermantasyonun düzenli olarak gerçekleşmesi için üzümde YAN miktarının 250 ile 350 mg/L arasında olması gerektiğini bildirmişlerdir. Pinu ve ark (2019), yaptıkları çalışmada Yeni Zelenda'da yetiştirilen Sauvignon Blanc üzümlerinin YAN miktarının 79.5 ile 476.3 mg/L arasında olduğunu bildirmişler ve üzümdeki YAN miktarının 250 mg/L'nin altına düştüğü zaman fermantasyon süresinin uzadığını tespit etmişlerdir. Fermantasyonun düzenli gerçekleşmesi amacıyla başlangıçta şıraya 10 g/hL olacak şekilde maya besini eklenmiştir.

4.2. Alkol Fermantasyonu ve Maya Sayısı

Sauvignon Blanc üzümünden elde edilen şıraların fermantasyon süresi boyunca yoğunluk değişimleri Şekil 4.1.'de verilmiştir. *S. cerevisiae*'nin saf kültür ve *M. pulcherrima* ile karışık kültür fermantasyonu 18°C'de 12 günde, *M. pulcherrima*'nın saf kültür fermantasyonu ise 18°C'de 14 günde sona ermiştir.

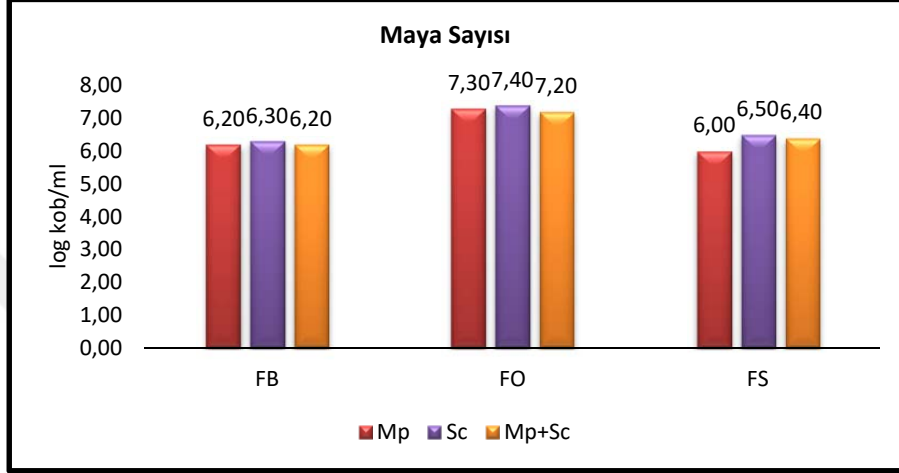


Şekil 4.1. Fermantasyon süresince yoğunluk değişimi

M. pulcherrima kullanılarak üretilen şaraplarda *S. cerevisiae* mayasının saf kültürü kullanılarak üretilen şaraba göre daha yavaş bir fermantasyon başlangıcı görülmüş ve saf kültürü kullanılarak üretilen şarabın fermantasyon hızı daha yavaş seyretmiştir. Bu durum üretimde farklı mayaların kullanılması ve bu mayaların ortama adaptasyonu ile açıklanabilir.

Fermantasyon süresince maya popülasyonu değişimi Şekil 4.2.'de verilmiştir. Mp, Sc ve Mp+Sc şarabında fermantasyon başında maya popülasyonu sırası ile 6.2 log kob/mL, 6.3 log kob/mL ve 6.2 log kob/mL olmuştur ve

fermantasyon ortasında sırası ile 7.3 log kob/mL, 7.4 log kob/mL ve 7.2 log kob/mL'ye çıkmıştır. Fermentasyon sonunda ise 6.0 log kob/mL, 6.5 log kob/mL ve 6.4 log kob/mL'ye düşmüştür.



Şekil 4.2. Fermentasyon Süresince Maya Sayısı Değişimi. FB: Fermentasyon Başı, FO: Fermentasyon Ortası, FS: Fermentasyon Sonu

4.3. Sauvignon Blanc Şaraplarının Genel Bileşimi

Mayaların Sauvignon Blanc şaraplarının genel bileşimi üzerine etkisi

Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının alkol miktarları sırasıyla hacmen %11.07, %12.93 ve %11.74 olarak tespit edilmiştir. Mayaların 1° alkol oluşturmak için farklı miktarlarda indirgen şeker kullandığı belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre Mp şarabında 1° alkol oluşturmak için 18.2 g, Sc şarabında 1° alkol oluşturmak için 15.6 g, Mp+Sc şarabında 1° alkol oluşturmak için 17.2 g şeker kullanmıştır. *M. pulcherrima*'nın saf kültür fermentasyonu ile üretilen şarabın alkol miktarı diğer iki şaraba göre düşük olmuştur. Üç farklı denemenin etil alkol değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Karabegovic ve ark (2021), yaptıkları çalışmada *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının saf ve karışık kültür fermentasyonlarının Prokupac şarabının genel bileşimi üzerine etkisini incelemişlerdir. *M. pulcherrima* mayasının saf kültür fermentasyonu ile üretilen

şarapta alkol miktarı hacmen %11.9, *S. cerevisiae* mayasının saf kültür fermantasyonu ile üretilen şarabın alkol miktarını hacmen %13.3, her iki mayanın karışık kültür fermantasyonu ile üretilen şarapta alkol miktarını hacmen %12.3 olarak bulmuşlardır. Sadoudi ve ark (2012), Sauvignon Blanc şirasını kullanarak yaptıkları çalışmada, *M. pulcherrima* mayasının saf kültür fermantasyonu ile üretilen şarapta alkol miktarı hacmen %10.89, *S. cerevisiae* mayasının saf kültür fermantasyonu ile üretilen şarabın alkol miktarını hacmen %11.02, her iki mayanın karışık kültür fermantasyonu ile üretilen şarapta alkol miktarını hacmen %11.22 olarak bulmuşlardır. Türk Gıda Kodeksi Şarap Tebliği'ne göre şarabın alkol miktarı hacmen % 9-15 arasında olmalıdır (Anonim, 2009). Çalışmada elde edilen alkol değerlerinin literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.2. Mayaların Sauvignon Blanc Şaraplarının Genel Bileşimi Üzerine Etkisi

	Mp	Sc	Mp+Sc
Yoğunluk (g/cm ³ , 20 °C)	0.9991±0.00 ^a	0.9905±0.00 ^a	0.9938±0.00 ^a
Alkol (% hacmen, 20 °C)	11.07±0.02 ^c	12.93±0.00 ^a	11.74±0.00 ^b
Toplam Asit ^a (g/L)	7.31±0.09 ^c	7.62±0.04 ^a	7.47±0.05 ^b
pH	3.10±0.01 ^a	3.04±0.00 ^b	3.06±0.01 ^{ab}
Gliserol (g/L)	8.64±0.05 ^a	8.32±0.08 ^b	8.54±0.10 ^a
Uçar Asit ^b (g/L)	0.82±0.00 ^a	0.53±0.00 ^c	0.65±0.00 ^b
Şekerler (g/L)			
Sakkaroz	s	s	s
Glikoz	1.69±0.01 ^a	1.37±0.03 ^b	1.38±0.06 ^b
Fruktoz	2.82±0.08 ^a	1.63±0.05 ^b	2.60±0.04 ^{ab}
İndirgen Şeker	4.51 ^a	3.00 ^c	3.98 ^b
Organik Asitler (g/L)			
Tartarik Asit	5.64±0.09 ^a	5.42±0.02 ^b	5.58±0.05 ^a
Malik Asit	1.92±0.03 ^a	1.70±0.03 ^b	1.90±0.01 ^a
Laktik Asit	1.83±0.06 ^b	1.95±0.03 ^a	1.86±0.02 ^b
Sitrik Asit	0.30±0.02 ^b	0.40±0.00 ^a	0.32±0.01 ^b
Serbest SO ₂ (mg/L)	9.6±0.22 ^a	8.0±0.19 ^b	9.0±0.34 ^{ab}
Toplam SO ₂ (mg/L)	62.4±1.28 ^a	64.0±1.33 ^a	59.2±0.96 ^b

^a : Tartarik asit cinsinden; ^b : asetik asit cinsinden; s: saptanamadı; ± : standart sapma değerleri; Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulunmuştur.

Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının pH değerleri sırasıyla 3.10, 3.04 ve 3.06 olarak bulunmuştur. Üç farklı denemenin pH değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının toplam asit miktarı tartarik asit cinsinden sırasıyla 7.31 g/L, 7.62 g/L, 7.47 g/L olarak bulunmuştur. Mp şarabının toplam asit miktarı diğer iki şaraba göre daha düşük bulunmuştur. Bu üç şarabın asit miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Pinu ve ark (2019), 380 adet Sauvignon Blanc şarabını inceledikleri çalışmada, şarapların pH değerlerinin 2.86-3.82 arasında, toplam asit değerlerinin ise tartarik asit cinsinden 6.10-14.40 g/L aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada sek şaraplarda tartarik asit cinsinden toplam asit miktarı 4.5 g/L ile 9 g/L arasında değişmekle birlikte kalite açısından en uygun miktarın 6-8 g/L arasında olduğu ve pH değerinin 2.7-3.8 aralığında olması gerektiği belirtilmiştir (Ough ve Amerine, 1988).

Kokusuz, renksiz bir bileşik olan gliserol şarabın viskozitesini artırır ve kıvamlı bir yapı verir. Gliserolün büyük bir kısmı alkol fermentasyonu sırasında üretilir. Gliserol, sek ve dömi-sek şaraplarda 5-14 g/L miktarlarında bulunur. Gliserolün algılanma eşik değeri 5.2 g/l'dir (Swiegers ve ark, 2005). Mp şarabının gliserol miktarı 8.64 g/L, Sc şarabının gliserol miktarı 8.32 g/L, Mp+Sc şarabında ise gliserol miktarı 8.54 g/L olarak tespit edilmiştir. Değerler incelendiğinde *M. pulcherrima* mayasının *S. cerevisiae* mayasına göre daha yüksek miktarda gliserol ürettiği belirlenmiştir. Sadieni ve ark (2012), yaptıkları çalışmada *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayası kullanarak mango şarabı üretmişlerdir. Çalışmada, *M. pulcherrima* mayasının saf kültür fermentasyonu ile elde edilen şarabın gliserol miktarı 6.7 g/L, *S. cerevisiae* mayasının saf kültür fermentasyonu ile elde edilen şarabın gliserol miktarı 5.8 g/L, her iki mayanın karışık kültür fermentasyonu sonucu elde edilen şarabın gliserol miktarı ise 7.6 g/L olarak tespit edilmiştir.

Uçar asitler, alkol fermentasyonu ile oluşan bileşiklerdir ve bunların önemli bir kısmını asetik asit oluşturur. Şıranın bileşimi, fermentasyon için kullanılan maya ve fermentasyon koşulları uçar asit oluşum miktarını etkileyen

faktörler arasındadır (Ough ve ark, 1988). Uçar asit miktarı Mp şarabında asetik asit cinsinden 0.82 g/L, Sc şarabında 0.53 g/L ve Mp+Sc şarabında ise 0.65 g/L olarak belirlenmiştir. *M. pulcherrima* kullanılarak üretilen Mp şarabında asetik asit miktarı diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda saptanmıştır. Bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Türk Gıda Kodeksi şarap tebliğine göre uçar asit miktarı asetik asit cinsinden beyaz şaraplar için en fazla 1.08 g/L (18 meq/L) olmalıdır (Anonim, 2009). Çalışmada elde edilen uçar asit değerlerinin, Şarap Tebliği'nde verilen maksimum değerinin altında olduğu ve uçar asit bakımından Şarap Tebliği'ne uygun olduğu belirlenmiştir. Muñoz-Redondo ve ark (2021), yaptıkları çalışmada *M. pulcherrima* mayası kullanılarak üretilen şarabın, kontrol şarabına göre daha yüksek miktarda uçar asit içerdiğini bildirmişlerdir.

İndirgen Şeker miktarı Mp şarabında 4.51 g/L, Sc şarabında 3.00 g/L, Mp+Sc şarabında ise 3.98 g/L olarak tespit edilmiştir. Şarapların şeker miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). *M. pulcherrima* mayasının saf kültür fermantasyonu ile elde edilen şarapta indirgen şeker miktarı diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda bulunmuş ve şekerleri tamamen parçalayamadığı görülmüştür.

HPLC'de yapılan organik asit tayinine göre, Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının tartarik asit miktarı sırası ile 5.64 g/L, 5.42 g/L 5.58 g/L; malik asit miktarı ise 1.92 g/L, 1.70 g/L ve 1.90 g/L olarak bulunmuştur.

Üzüm ezme aşamasında, etil alkol fermantasyonundan sonra, şarabın yıllandırılması ve şişeleme sırasında kullanılan kükürtdioksit, mikroorganizma faaliyetleri üzerine etki ederek hastalık ve kusurların engellenmesinde ve aynı zamanda oksijenle tepkimeye girerek oksidasyonun önlenmesinde büyük bir öneme sahiptir (Branco ve ark, 2021). Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarında serbest kükürt miktarı sırası ile 9.6 mg/L, 8 mg/L, 9.0 mg/L; toplam kükürt miktarı ise sırası ile 62.4 mg/L, 64 mg/L ve 59.2 mg/L olarak tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde şeker miktarı 5 g/L'nin altında olan beyaz şarapların

kükürt miktarının en fazla 200 mg/L olabileceği bildirilmiştir (Anonim, 2017). Çalışmada tespit edilen değerler Katkı Maddeleri Yönetmeliği'ne uygun bulunmuştur.

4.4. Sauvignon Blanc Şaraplarının Uçucu Tiol Bileşimi

Çalışmada üretilen Sauvignon Blanc şaraplarının uçucu tiol bileşiklerinin miktarları Çizelge 4.3.'te verilmiştir. Çizelgedeki konsantrasyonlar üç farklı enjeksiyonun ortalaması olup, ng/L olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.3. Sauvignon Blanc Şaraplarında Belirlenen Uçucu Tiol Bileşikleri ve Miktarları (ng/L)

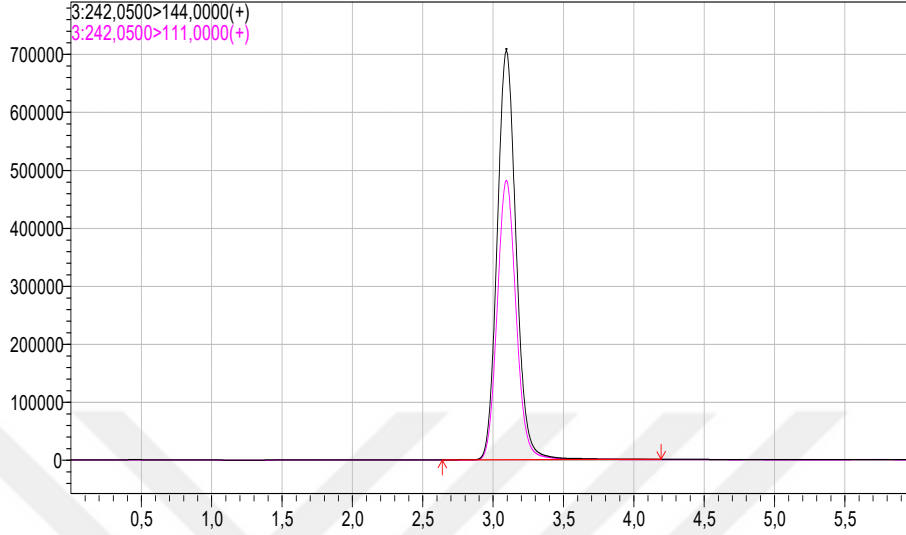
Şaraplar	UÇUCU TIOL BİLEŞİKLERİ		
	4MMP	3MH	3MHA
Mp	14.2±1.91 ^b	826.7±40.77 ^c	61.2±19.46 ^c
Sc	17.8±3.84 ^a	983.4±54.92 ^b	211.5±15.38 ^b
Mp+Sc	11.6±0.66 ^c	1111.2±58.05 ^a	344.1±22.11 ^a

*: Sonuçlar üç ekstraksiyon tekerrürünün ortalaması olarak verilmiştir; ± : standart sapma değerleri; Aynı sütunda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulunmuştur.

4.4.1. 4-metil-4-merkaptopentan-2-on (4MMP)

4MMP bileşiğine ait bir kromatogram Şekil 4.3.'te verilmiştir. 4MMP bileşiği Mp şarabında 14.2 ng/L, Sc şarabında 17.8 ng/L ve Mp+Sc şarabında ise 11.6 ng/L olarak tespit edilmiştir. *S. cerevisiae* kullanılarak üretilen şarapta 4MMP bileşiği diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda bulunmuştur. Her üç şarabında 4MMP miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05).

4MMP bileşiği üzümde G4MMP ve Cys4MMP şeklinde glutatyon ve sisteine bağlı halde bulunur. Alkol fermantasyonu sırasında mayaların karbon sülfür liyaz enzim aktivitesi ile serbest hale geçer. Şaraba şimşir ağacı ve frenk üzümü gibi tropikal meyve aromaları verir. Algılama eşik değeri 0.6 ng/L'dir. Literatürdeki verilere göre şaraplardaki miktarı 400 ng/L'nin altındadır. Buna göre çalışmada elde edilen 4MMP miktarları algılama eşik değerinin üzerindedir.



Şekil 4.3. 4MMP Bileşiğinin Kromotogramı

Zott ve ark (2011), 7 türe ait 15 farklı non-*Saccharomyces* ve 2 farklı *S.cerevisiae* maya suşları ile Sauvignon Blanc şirasında ve deneysel sıra matrisinde saf kültür fermantasyonu gerçekleştirmiş ve kullanılan maya suşlarının uçucu tioller üzerine etkisini araştırmışlardır. Oluşturulan matrikste *M.pulcherrima* (Mc1LT1) suşu ile elde edilen şarapta 4MMP bileşiği yaklaşık 10 ng/L olarak tespit edilmiş ve bu suşun 4MMP bileşiğini çalışmada kullanılan tüm mayalardan daha fazla ürettiği belirlenmiştir. Sauvignon Blanc şirasından elde edilen şaraplarda ise 4MMP bileşiği ise en yüksek 90 ng/L ile *S.cerevisiae* (X5) kullanılarak elde edilen şarapta tespit edilmiştir. Sadoudi ve ark (2012), yaptıkları çalışmada *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının saf ve karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen Sauvignon Blanc şaraplarında uçucu tiol bileşiklerini incelemişlerdir. *M. pulcherrima* mayasının saf fermantasyonu sonucu elde edilen 4MMP miktarı 27.8 ng/L, *S. cerevisiae* mayasının saf fermantasyonu sonucu elde edilen 4MMP miktarı 30.2 ng/L ve her iki mayanın karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen 4MMP miktarı 7.0 ng/L olarak tespit edilmiştir. Ruiz ve ark (2018), iki farklı *S. cerevisiae* suşunun saf ve *M. pulcherrima* ile karışık kültür

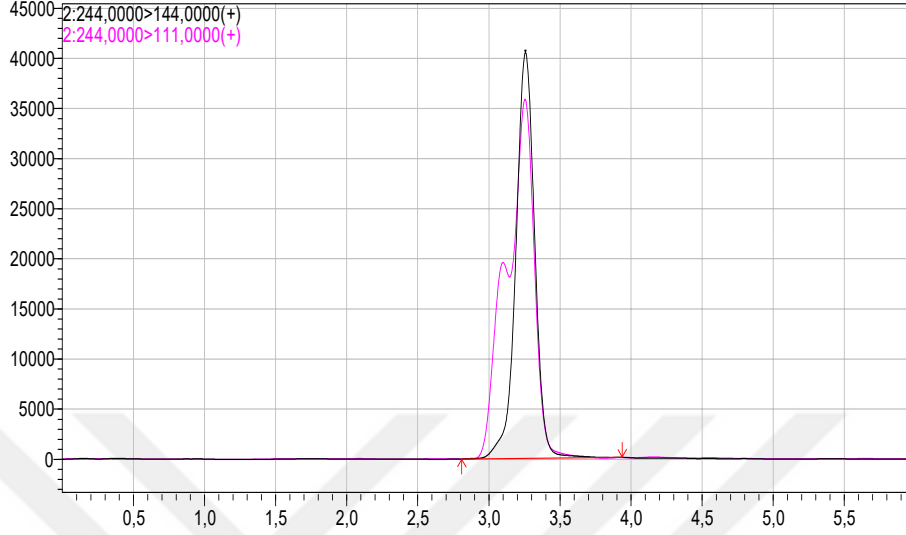
fermantasyonu ile elde edilen Verdejo şaraplarında uçucu tiol bileşiklerinin konsantrasyonlarını incelemişlerdir. *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının karışık kültür fermentasyonları ile elde edilen şarapta 4MMP bileşiğinin konsantrasyonları, *S. cerevisiae*'nin saf kültür fermentasyonlarıyla elde edilen şaraptaki 4MMP bileşiğinin konsantrasyonundan 6,4 kat fazla olduğu bildirilmiştir.

4.4.2. 3-merkaptohexan-1-ol (3MH)

3MH bileşiğine ait bir kromatogram Şekil 4.4.'te verilmiştir. 3MH bileşiği Mp şarabında 826.7 ng/L, Sc şarabında 983.4 ng/L ve Mp+Sc şarabında ise 1111.2 ng/L olarak tespit edilmiştir. Karışık kültür fermentasyonu sonucu üretilen şarapta 3MH bileşiği diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda bulunmuştur. Şarapların 3MH miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

3MH bileşiği üzümde G3MH ve Cys3MH şeklinde glutatyon ve sisteine bağlı halde bulunur. Alkol fermentasyonu sırasında mayaların karbon sülfür liyaz enzim aktivitesi ile serbest hale geçer. Şaraba çarkıfelek ve greyfurt gibi tropikal meyve aromaları verir. Algılama eşik değeri 60 ng/L'dir. Literatürdeki verilere göre şaraplardaki miktarı 19000 ng/L'ye kadar çıkmaktadır. Çalışmada üretilen her üç şarabın 3MH değerleri algılama eşik değerinin çok üzerindedir.

Seguinot ve ark (2020), yaptıkları çalışmada farklı azot ve şeker içeren şarap matriksleri elde etmişler ve *S. cerevisiae*'nin saf ve *M. pulcherrima* ile karışık kültür fermentasyonu sonucu elde edilen şarapların uçucu tiol miktarlarını araştırmışlardır. *S. cerevisiae*'nin saf kültür fermentasyonu sonucu elde edilen şaraplarda 3MH değerleri 72 ng/L ile 152 ng/L arasında değişim göstermiştir. Karışık kültür fermentasyonu sonucu elde edilen 3MH değerleri 273.7 ile 821.3 ng/L arasında değişim göstermiş ve karışık kültür fermentasyonunun uçucu tioller üzerinde olumlu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

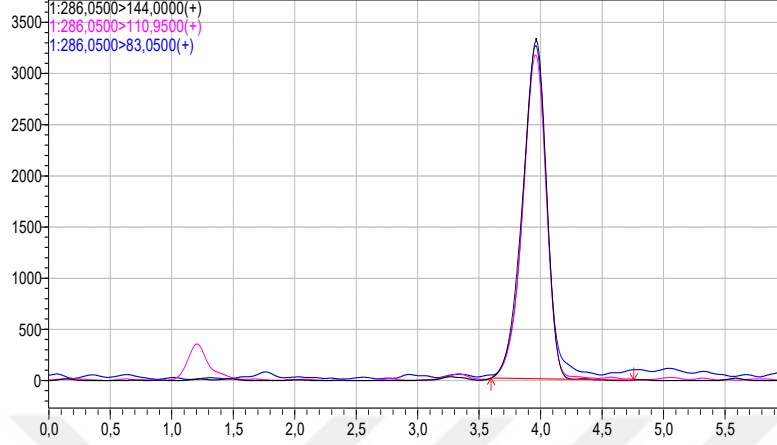


Şekil 4.4. 3MH Bileşiğinin Kromotogramı

Zott ve ark (2011), 7 türe ait 15 farklı non-*Saccharomyces* ve 2 farklı *S.cerevisiae* maya suşları ile Sauvignon Blanc şirasında ve deneysel sıra matrisinde saf kültür fermantasyonu gerçekleştirmiş ve kullanılan maya suşlarının uçucu tioller üzerine etkisini araştırmışlardır. Oluşturulan matris ile elde edilen şaraplarda *M.pulcherrima* Mc1LT1 suşunun 3MH bileşiğini 1000 ng/L'nin üzerinde; Sauvignon Blanc şirasından *M. pulcherrima* Lc3LT30, Q4LT1, Q6LT26 suşları ile elde edilen şaraplarda yaklaşık 200 ng/L ile *S.cerevisiae* ile elde edilen şaraplardan daha yüksek miktarda 3MH bileşiği içerdiği tespit etmişlerdir.

4.4.3. 3-merkaptotekzil asetat (3MHA)

3MHA bileşiğine ait bir kromotogram Şekil 4.5.'te verilmiştir. 3MHA bileşiği Mp şarabında 61.2 ng/L, Sc şarabında 211.5 ng/L ve Mp+Sc şarabında ise 344.1 ng/L olarak tespit edilmiştir. Karışık kültür fermantasyonu sonucu üretilen şarapta 3MHA bileşiği diğer iki şaraba göre daha yüksek miktarda bulunmuştur. Şarapların 3MHA miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.5. 3MHA bileşiğinin kromotogramı

3MHA için üzümde öncül bileşik bulunamamıştır. 3MHA, fermantasyon sırasında alkol asetiltransferaz ATF1 enziminin etkisiyle 3MH'nin esterifikasyonu sonucu oluşur (Swiegers ve ark, 2006). Algılama eşik değeri 4.2 ng/L'dir. Literatürdeki verilere göre şaraplardaki miktarı 2500 ng/L'ye kadar çıkmaktadır. Çalışmada üretilen her üç şarabın 3MHA değerleri algılama eşik değerinin çok üzerindedir.

Seguinot ve ark (2020), yaptıkları çalışmada farklı azot ve şeker içeren şarap matrisleri elde etmişler ve *S. cerevisiae*'nin saf ve *M. pulcherrima* ile karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen şarapların uçucu tiol miktarlarını araştırmışlardır. *S. cerevisiae*'nin saf kültür fermantasyonu sonucu üretilen şaraplarda 3MHA bileşiği elde edilememiştir. Karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen şarapalrda 3MHA bileşiğinin miktarlarının 32.3 ng/L seviyesine kadar çıktığı bildirilmiştir. Sadoudi ve ark (2012), yaptıkları çalışmada *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının saf ve karışık kültür fermantasyonu sonucu elde edilen Sauvignon Blanc şaraplarında uçucu tiol bileşiklerini incelemişlerdir. *M. pulcherrima* mayasının saf fermantasyonu sonucu elde edilen şarapta 3MHA miktarı 3.6 ng/L, *S. cerevisiae* mayasının saf fermantasyonu sonucu elde edilen şarapta 3MHA miktarı 513.6 ng/L ve her iki mayanın karışık kültür

fermantasyonu sonucu elde edilen şarapta 3MHA miktarı 125.4 ng/L olarak bulunmuşlardır. Çalışmada kullandıkları *M. pulcherrima* suşunun 3MH bileşiğini 3MHA bileşiğine dönüştürmek için sınırlı bir kapasiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

4.5. Sauvignon Blanc Şaraplarının Aroma Bileşimi

4.5.1. Sauvignon Blanc Şaraplarının Mikro Aroma Bileşimi

Sauvignon Blanc şaraplarında belirlenen mikro aroma bileşiklerinin miktarları kimyasal yapılarına göre gruplandırılarak Çizelge 4.4'te verilmiştir. Çizelgedeki konsantrasyonlar üç farklı enjeksiyonun ortalaması olup, µg/L olarak ifade edilmiştir. Aroma bileşiklerinin tanımlanmasında kütle spektroskopisinin kütüphanesinden, aroma maddeleri standartlarından ve alıkonma indisi değerlerinden yararlanılmıştır.

Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere, Mp şarabında tespit edilen mikro aroma bileşiklerinin toplam miktarı 173 mg/L, Sc şarabında tespit edilen mikro aroma bileşiklerinin toplam miktarı 176 mg/L, Mp+Sc şarabında tespit edilen mikro aroma bileşiklerinin toplam miktarı ise 184 mg/L olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Sauvignon Blanc Şaraplarında Belirlenen Aroma Bileşiklerinin Miktarları (µg/L)

BİLEŞİKLER (µg/L)	MP	Sc	Mp+Sc
Yüksek Alkoller	156260.5±325.2 ^a	148974.3±348.6 ^c	153649.2±400.8 ^b
Esterler	7919.9±85.8 ^c	14949±102.3 ^b	16242.9±92.4 ^a
Uçucu Asitler	5869.3±48.7 ^c	8243.0±125.8 ^b	10006.8±62.7 ^a
6C'lu Bileşikler	2642.2±49.5 ^b	2694.0±87.3 ^b	3124.6±22.4 ^a
Uçucu Fenoller	310.5±38.7 ^a	244.2±12.9 ^b	264.9±8.4 ^{ab}
Laktonlar	647.6±47.2 ^b	1013.1±91.4 ^a	982.5±63.6 ^a
Kükürtlü Bileşikler	128.4±12.4 ^a	s	78.4±25.8 ^b
Genel Toplam	173778.4±855.3^c	176117.6±964.2^b	184349.3±1000.6^a

s: saptanamadı; ± : standart sapma değerleri; Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

4.5.1.1. Yüksek Alkoller

Yüksek alkoller, alkol fermantasyonunun yan ürünüdür ve aroma maddeleri içerisinde miktarı en fazla bulunan bileşiklerdir. Bu bileşikler alifatik (düz zincir) ve aromatik yapıda bulunurlar ve alkol fermantasyonu sırasında Ehrlich yolu veya karbonhidrat sentezi yollarıyla oluşurlar (Nykänen, 1986). Yüksek alkollerden başlıcaları; 1-propanol, izobütanol, izoamil alkoller ve 2-feniletanol'dür (Ribereau-Gayon ve ark, 2006). Sauvignon Blanc şaraplarında tespit edilen yüksek alkol bileşikleri ve miktarları Çizelge 4.5.'te verilmiştir.

Çizelge 4.5'te de görüldüğü üzere her üç şarapta da 9 adet yüksek alkol bileşiği belirlenmiştir. Yüksek alkol bileşiklerinin toplam miktarı Mp şarabında 156260.5 µg/L, Sc şarabında 148974.3 µg/L ve Mp+Sc şarabında 153649.2 µg/L olarak belirlenmiştir. Şaraplarda belirlenen yüksek alkol bileşiklerinin miktarları istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Görüldüğü üzere *M. pulcherima* mayası yüksek alkol bileşiklerini *S. cerevisiae* mayasına göre daha yüksek miktarda oluşturmuştur.

Çizelge 4.5. Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Yüksek Alkol Bileşikleri ve Miktarları (µg/L)

LRI	Yüksek Alkoller	Mp	Sc	Mp+Sc
1113	İzobütil alkol	1254.8± 8.36 ^c	1836.4±6.45 ^a	1456.3±5.21 ^b
1236	izoamil alkol	118096± 123.7 ^b	114356.5± 105 ^c	119154.4±142.4 ^a
1245	3-etoksi-1-propanol	50.2±3.12 ^c	75.1±4.87 ^b	88.2±3.45 ^a
1253	1-Pentanol	11252.4± 16.8 ^{ab}	10368.5± 11.45 ^b	11456±12.36 ^a
1325	3-Metil-1-pentanol	203.5± 3.68 ^a	90.2± 3.36 ^c	120.4±2.14 ^b
1541	2,3-bütanediol	520.4± 5.42 ^a	320.4±2.45 ^c	445.32±5.48 ^b
1708	Methionol	265.5± 3.48 ^b	197.9± 2.52 ^c	300.4±3.45 ^a
1912	Benzil alkol	252.4± 4.52 ^c	364.2± 4.62 ^a	310.6±3.5 ^b
1943	2-Fenil etanol	24365.3± 45.6 ^a	21365.1±38.32 ^b	20321.6±42.32 ^c
Toplam		156260.5	148974.3	153649.2

LRI: Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapiler kolon üzerinde hesaplanmıştır; ± : standart sapma değerleri; Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulunmuştur.

Her üç şarap örneğinde de izoamil alkol miktar olarak en fazla bulunan bileşik olup bunu 2-fenil etanol ve 1-pentanol izlemiştir. İzoamil alkol şaraplarda bulunan temel yüksek alkoldür ve algılama eşiği model şarapta 30 mg/L'dir. İzoamil alkol miktarı Mp şarabında 118 mg/L, Sc şarabında 114 mg/L, Mp+Sc şarabında ise 119 mg/L olarak saptanmış ve şarapların tamamında izoamil alkol miktarı algılama eşik değerinin üzerinde bulunmuştur. Şarap örneklerinin izoamil alkol değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). Munoz-Redondo ve ark (2021), *S. cerevisiae*'nın saf ve *M. pulcherrima* ile karışık kültür fermantasyonu sonucu elde ettikleri pembe şarapta izoamilalkol miktarlarını sırasıyla 273 mg/L ve 320 mg/L olarak bulmuşlardır.

2-fenil etanol aromatik bir alkol olup şaraba gül ve bal aroması veren algılama eşik değeri 14 mg/L olan bir yüksek alkol bileşiğidir. Şaraptaki konsantrasyonları 153 mg/L'ye kadar çıkmaktadır (Waterhouse ve ark, 2016). Elde edilen şaraplarda 2-fenil etanol miktarı Mp şarabında 24 mg/L, Sc şarabında 21

mg/L ve Mp+Sc şarabında 20 mg/L olarak bulunmuştur. Her üç şarapta elde edilen değerler algıla eşik değerinin üzerindedir. Şaraplarda 2-fenil etanol değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Sadoudi ve ark (2012), yaptıkları çalışmada 2-fenil etanol miktarlarını *S. cerevisiae* mayasının saf kültürü ile elde edilen şarapta 33 mg/L, *M. pulcherrima* mayasının saf kültürü ile elde edilen şarapta 40 mg/L ve bu iki mayanın karışık kültürü ile elde edilen şarapta 48 mg/L olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

40 mg/L'nin üzerinde füzel benzeri kokular veren izobütil alkolün miktarları Mp şarabında 1254.8 µg/L, Sc şarabında 1836.4 µg/L ve Mp+Sc şarabında 1456.3 µg/L olarak tespit edilmiştir.

Methionol şaraplara pişmiş patates kokusu vermektedir ve methionolün model şarapta algılama eşik değeri 1000 µg/L'dir (Azzolini ve ark, 2015). Şaraptaki konsantrasyonları 160 ile 2400 µg/L aralığında değişmektedir (Waterhouse ve ark, 2016). Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının methionol miktarları sırasıyla 265.5 µg/L, 197.9 µg/L, 300.4 µg/L olarak bulunmuş ve bu değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Deed ve ark (2017), farklı maya suşları kullanarak ürettikleri Sauvignon Blanc şaraplarındaki methionol miktarlarını 2111 µg/L ile 2609 µg/L aralığında tespit etmişlerdir.

Algılama eşik değeri 200 mg/L olan benzil alkol algılama eşiklerinin üzerinde şaraplara meyvemsi koku vermektedir. Çalışmada elde edilen Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının benzil alkol miktarları sırasıyla 252.4 µg/L, 364.2 µg/L, 310.6 µg/L olarak algılama eşik değerinin çok altında tespit edilmiştir.

4.5.1.2. Esterler

Sauvignon Blanc şaraplarında tanımlanan ester bileşikleri ve miktarları Çizelge 4.6’te verilmiştir.

Çizelge 4.6. Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Ester Bileşikleri ve Miktarları (µg/L)

LRI	Esterler	Mp	Sc	Mp+Sc
1020	İzobütil asetat	48.2± 2.34 ^{ab}	56.0± 2.38 ^a	61.6±2.45 ^a
1029	Etil bütanoat	348.4± 4.37 ^c	452.6± 3.78 ^b	525.9±2.45 ^a
1039	2-metilbütil asetat	625.4±5.48 ^a	548.3±4.98 ^c	596.4±3.21 ^b
1137	İzoamil asetat	898.4± 2.85 ^c	1765.1± 5.83 ^b	1952±6.87 ^a
1291	Hekzil asetat	142.6± 2.28 ^b	169.9± 2.87 ^a	149.3±2.14 ^b
1331	Etil laktat	1125.4± 6.54 ^c	1658.4± 5.36 ^b	1852.5±3.14 ^a
1446	Etil oktanoat	1050.7± 8.29 ^b	2418.1± 7.35 ^a	2314.2±8.97 ^{ab}
1508	Etil-3-hidroksi-bütanoat	81.4± 2.56 ^c	254.2± 2.26 ^a	168.4±2.69 ^b
1585	Etil dekanat	332.6± 5.22 ^c	925.7± 4.56 ^b	1016.2±3.15 ^a
1647	Dietil süksinat	525.5±2.25 ^c	1826.6± 9.88 ^b	2458.1±5.68 ^a
1642	Etil furoat	S	29.4± 1.31 ^a	26.6±3.21 ^a
1776	Etil-4-hidroksi-bütanoat	252.14±3.15 ^c	625± 436 ^a	542.8±3.58 ^b
1822	2- Feniletil asetat	125.1± 4.49 ^c	258.4± 5.45 ^b	296.4±3.36 ^a
2062	Dietil-dl-malat	525.8±5.12 ^c	928.4± 5.89 ^a	900.6±2.65 ^b
2225	Etil hekzanoat	825.8± 2.36 ^b	1206.5± 8.69 ^{ab}	1256.6±2.28 ^a
2367	Etil hidrojen süksinat	1012.5± 4.62 ^c	1826.4± 4.51 ^b	2125.3±8.75 ^a
Toplam		7919.9	14949	16242.9

S: saptanamadı; LRI: Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapiler kolon üzerinde hesaplanmıştır; ± : standart sapma değerleri; Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulunmuştur.

Şarap aromasını oluşturan en önemli bileşik grubu esterlerdir. Etil alkol fermantasyonu sırasında oluşan ve mayaların ikincil ürünleri olan esterler genellikle şarabın meyvemsi aromasından sorumlu olup genç şarapların duyuşal

özellikleri üzerinde belirleyici rol oynarlar. Zamana bağlı esterler hidrolize olsa da yıllanmış şaraplarda önemli esterlerin miktarları algılama eşik değerlerinin üzerindedir (Ugliano ve Henschke, 2009; Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010). Şaraplardaki toplam miktarları çoğu zaman 100 mg/L'nin altındadır ve meyvemsi, çiçeksi aromanın başlıca kaynağıdır (Ribereau-Gayon ve ark, 2000).

Çizelge 4.6.'da görüldüğü üzere Mp şarabında 15 adet ester bileşiği tanımlanmış olup toplam miktarı 7919.9 µg/L, Sc şarabında 16 adet ester bileşiği tanımlanmış olup toplam miktarı 14949 µg/L ve Mp+Sc şarabında 16 adet ester bileşiği tanımlanmış olup toplam miktarı 16242.9 µg/L olarak belirlenmiştir.

Etil bütanoat şaraba elma ve meyvemsi aroma veren ve model şarapta algılama eşiği 20 µg/L olan bir ester bileşiğidir. Şaraptaki konsantrasyonları genelde genelde 70-540 µg/L arasındadır (Waterhouse ve ark, 2016). Mp şarabının etil bütanoat miktarı 348.4 µg/L, Sc şarabının etil bütanoat miktarı 452.6 µg/L ve Mp şarabının etil bütanoat miktarı 525.9 µg/L olarak bulunmuştur. Bu üç şarabın etil bütanoat miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Ge ve ark (2021), *S. cerevisiae*'nin saf kültür ve *M. pulcherrima* ile karışık kültür fermantasyonu sonucu elde ettikleri Vidal Blanc şaraplarında etil bütanoat miktarlarını sırasıyla 476.1 µg/L ve 506.1 µg/L olarak saptamışlardır.

İzoamil asetat şaraba muz aroması veren ve algılama eşiği 50 µg/L olan bir ester bileşiğidir. Mp şarabının izoamil asetat miktarı 898.4 µg/L, Sc şarabının izoamil asetat miktarı 1765.1 µg/L ve Mp şarabının izoamil asetat miktarı 1952.0 µg/L olarak bulunmuştur. Bu üç şarabın izoamil asetat miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Sadoudi ve ark (2012), yaptıkları çalışmada *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının karışık kültür fermantasyonlarının izoamil asetat miktarını arttırdığını ve izoamil asetat miktarını 4736 µg/L'ye kadar çıkardığını tespit etmişlerdir.

2-feniletil asetat şaraba gül ve bal aroması veren ve algılama eşik değeri şarapta 2400 µg/L olan bir ester bileşiğidir. Şaraptaki konsantrasyonları genelde genelde 0-260 µg/L arasındadır (Waterhouse ve ark, 2016). Mp şarabının 2 feniletil

asetat miktarı 125.1 µg/L, Sc şarabının 2 feniletil asetat miktarı 258.4 µg/L ve Mp şarabının 2 feniletil asetat miktarı 296.4 µg/L olarak bulunmuştur. Bu üç şarabın 2-feniletil asetat miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Munoz-Redondo ve ark (2021), yaptıkları çalışmada *M. pulcherrima* ve *S.cerevisiae* mayasının karışık kültür fermantasyonu sonucu ürettikleri pembe şarabın 2-fenil asetat miktarını 69 µg/L olarak bulmuşlardır. Zhang ve ark (2022), *S. cerevisiae* mayasının saf kültür ve *M. pulcherrima* mayası ile farklı oranlarda karışık ve ardışık fermantasyonları ile elde edilen erik şaraplarında 2-feniletil asetat miktarlarının *M. pulcherrima* mayası kullanılarak üretilen şaraplarda *S. cerevisiae* şarabına daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Etil hekzanot şaraba elma ve armut gibi meyvelerin aromasını veren ve algılama eşiği model şarapta 14 µg/L olan bir ester bileşiğidir. Şaraptaki konsantrasyonları genelde genelde 150-1500 µg/L arasındadır (Waterhouse ve ark, 2016). Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının etil hekzanoat miktarı sırası ile 825.8 µg/L, 1206.5 µg/L ve 1256.6 µg/L olarak hesaplanmıştır ve şaraplarda etil hekzanoat algılama eşik değerinin (14 µg/L) çok üzerinde bulunmuştur. Bu üç şarabın etil hekzanoat miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Munoz-Redondo ve ark (2021), yaptıkları çalışmada *M. pulcherrima* ve *S.cerevisiae* mayasının karışık kültür fermantasyonu sonucu ürettikleri pembe şarabın etil hekzanoat miktarını 1057 µg/L ve *S. cerevisiae*'nin saf kültürü ile elde edilen pembe şarabın etil hekzanoat miktarını 1053 µg/L olarak bulmuşlardır.

Etil oktanot şaraba şeftali ve olgun muz aroması veren ve algılama eşiği model şarapta 5 µg/L olan bir ester bileşiğidir. Şaraptaki konsantrasyonları genelde genelde 140-2500 µg/L arasındadır (Waterhouse ve ark, 2016). Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının etil oktanoat miktarı sırası ile 1050.7 µg/L, 2418.1 µg/L ve 2314.2 µg/L olarak hesaplanmıştır ve şaraplarda etil oktanoat algılama eşik değerinin (5 µg/L) çok üzerinde bulunmuştur. Bu üç şarabın etil oktanoat miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Deed ve ark (2017), yaptıkları çalışmada farklı *S. cerevisiae* suşları kullanarak ürettikleri

Sauvignon Blanc şaraplarında etil oktanoat miktarlarının 565 µg/L ile 1005 µg/L aralığında tespit etmişlerdir.

Etil furoat bileşi Sc ve Mp+Sc şaraplarında sırasıyla 29.4 µg/L ve 26.6 µg/L olarak bulunmuş; Mp şarabında ise tespit edilememiştir.

2-metilbütül asetat bileşiği ise 625.4 µg/L ile Mp şarabında en yüksek miktarda bulunmuştur.

4.5.1.3. Uçucu Asitler

Şarapta birçok farklı asit türü olmasına rağmen, yağ asitleri aroma bileşiklerinin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Yağ asitleri, esas olarak fermantasyon sırasında mayaların ve bakterilerin biyosentezinden kaynaklanmaktadır ve bunların en önemlileri bütanoik, hekzanoik, 3-metil bütanoik ve oktanoik asitlerdir (Vilanova ve ark, 2013). Sauvignon Blanc şaraplarında tanımlanan uçucu asit bileşikleri ve miktarları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Uçucu Asit Bileşikleri ve Miktarları (µg/L)

LRI	Uçucu Asitler	Mp	Sc	Mp+Sc
1799	Hekzanoik asit	2259.4± 3.6 ^c	3328.1± 2.6 ^b	3924.6± 5.2 ^a
2071	Oktanoik asit	3182.6± 7.59 ^b	4226.5±6.6 ^c	5146.5±8.9 ^a
2244	Dekanoik asit	427.3± 1.9 ^c	688.4±1.3 ^b	935.7±1.9 ^a
	Toplam	5869.3	8243.0	10006.8

LRI: Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapiler kolon üzerinde hesaplanmıştır; ± : standart sapma değerleri; Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulunmuştur.

Çizelge 4.7’de görüldüğü üzere her bir şarap örneği için 3 adet uçucu asit bileşiği tanımlanmıştır. Bunların toplam mikrarı Mp şarabında 5869.3 µg/l, Sc şarabında 8243.0 µg/l ve Mp+Sc şarabında 10006.8 µg/l olarak saptanmıştır. *M. pulcherrima* mayasının saf kültürü kullanılarak üretilen şarapta daha düşük miktarda uçucu asit tespit edilmiştir.

Hekzanoik asit, oktanoik asit ve dekanioik asit miktarları Mp şaraplarında sırasıyla 2259.4 µg/l, 3182.6 µg/l, 427.3 µg/l ; Sc şaraplarında sırasıyla 3328.1 µg/l, 4226.5 µg/l, 688.4 µg/l; Mp+Sc şaraplarında sırasıyla 3924.6 µg/l, 5146.5 µg/l, 935.7 µg/l olarak bulunmuştur. Bu üç şarabın uçucu asit miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Sadoudi ve ark (2012), yaptıkları çalışmada *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* mayalarının karışık kültür fermentasyonu sonucu elde edilen Sauvignon Blanc şaraplarında oktanoik ve dekanioik asit miktarlarını saf kültür fermentasyonu ile elde edilen şaraplara göre daha yüksek miktarda bulmuşlardır.

4.5.1.4. Laktonlar

Laktonların büyük bir kısmı maya faaliyeti sonucunda oluşmaktadır. Şaraplarda fermentasyon sırasında oluşan en önemli lakton bileşiği γ -bütirolaktondur. Bu lakton Ehrlich yoluyla glutamik asitin dekarboksilasyonu ve deaminasyonu ile oluşan γ -hidroksibutirik asitin laktonizasyonu ile oluşur. Ancak bu bileşik aynı zamanda üzümde de gelebilir (Ribereau-Gayon ve ark, 2000). Sauvignon Blanc şaraplarında tanımlanan lakton bileşikleri ve miktarları Çizelge 4.8’de verilmiştir. Çizelge 4.8’de görüldüğü üzere Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarında 3’er adet lakton bileşiği tespit edilmiş ve toplam miktarı sırası ile 647.6 µg/L, 1013.1 µg/L, 982.5 µg/L olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.8. Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Lakton Bileşikleri ve Miktarları (µg/L)

LRI	Laktonlar	Mp	Sc	Mp+Sc
1602	γ -bütirolakton	456.8± 2.49 ^c	749.1± 2.36 ^a	682.6±3.15 ^b
-	γ -heptalakton	112.5±1.56 ^c	142.2± 1.29 ^b	157.4±2.25 ^a
2210	4-etoksikarbonil- γ -bütirolakton	78.3±0.98 ^c	121.8±1.52 ^b	142.5±1.10 ^a
	Toplam	647.6	1013.1	982.5

LRI: Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapiler kolon üzerinde hesaplanmıştır; $\pm$: standart sapma değerleri; Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Elde edilen şaraplarda en fazla bulunan bileşik γ -bütirolakton olup miktarları Mp şarabında 456.8 $\mu\text{g/L}$, Sc şarabında 749.1 $\mu\text{g/L}$ ve karışık kültür şarabında ise 682.6 $\mu\text{g/L}$ olarak saptanmıştır.

4-etoksikarbonil γ -bütirolakton ve γ heptalakton miktarları Mp+Sc şarabında diğer şaraplara göre daha yüksek miktarda bulunmuştur. Her üç şarabın lakton bileşiklerinin miktarı arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

4.5.1.5. Uçucu Fenoller

Uçucu fenoller üzümde bulunan fenolik asitlerin, fermantasyon sırasında mayalarda bulunan dekarboksilaz enziminin etkisiyle, parçalanması sonucu oluşurlar ve kuvvetli kokulara sahiptirler (Cabaroğlu, 2003). Şaraplarda bulunan başlıca uçucu fenoller; 4-vinil fenol (5-1200 $\mu\text{g/L}$), 4-vinil gaiakol (5-1200 $\mu\text{g/L}$), 4-etil fenol (0,1-500 $\mu\text{g/L}$) ve 4-etil gaiakol (0,1-400 $\mu\text{g/L}$)'dur. 4-vinil fenol ve 4-vinil gaiakol miktarları 800 $\mu\text{g/L}$ 'nin üzerine çıktığında şaraplarda hoş olmayan kokular (plastik kokusu) oluşturmaktadırlar (Pisarnitskii, 2001). Sauvignon Blanc şaraplarında tanımlanan uçucu fenol bileşikleri ve miktarları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan Uçucu Fenol Bileşikleri ve Miktarları ($\mu\text{g/L}$)

LRI	Uçucu Fenoller	Mp	Sc	Mp+Sc
2147	2-Metoksi-4-vinilfenol	258.1 $\pm$ 1.82 ^a	182.4 $\pm$ 1.93 ^c	226.7 $\pm$ 1.47 ^b
2628	Asetovanilon	52.4 $\pm$ 1.26 ^b	61.8 $\pm$ 6.48 ^a	38.2 $\pm$ 1.56 ^c
	Toplam	310.5	244.2	264.9

LRI: Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapiler kolon üzerinde hesaplanmıştır; $\pm$: standart sapma değerleri; Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çalışmada elde edilen şaraplarda iki adet uçucu fenol bileşiği tanımlanmıştır ve toplam uçucu fenol miktarı Mp şarabında 310.5 µg/l, Sc şarabında 244.2 µg/l ve karışık kültür şarabında 264.9 µg/l olarak saptanmıştır. 2-metoksi-4-vinilfenol miktarı her üç şarapta da asetovanilon miktarına göre daha yüksek miktarda bulunmuştur. Fenol bileşiklerinin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

2-metoksi-4-vinilfenol miktarı Mp şarabında 258.1 µg/l, Sc şarabında 182.4 µg/l ve Mp+Sc şarabında 226.7 µg/l olarak tespit edilmiştir. Rodriguez-Bencomo ve ark (2013), Airen üzümünden elde edilen beyaz şaraplarda 2-metoksi-4-vinilfenol'ün en yüksek miktarda bulunan uçucu fenol olduğunu bildirmişlerdir.

Asetovanilon miktarı Mp şarabında 52.4 µg/L, Sc şarabında 61.8 µg/L ve karışık kültür şarabında 38.2 µg/L olarak hesaplanmıştır.

4.5.1.6. 6C'lu Bileşikler

6C'lu bileşikler genellikle meyve etinde bulunmakla birlikte çoklu doymamış yağ asitlerinin enzimatik oksidasyonu ile de meydana gelebilmektedirler. Tipik otsu ve yeşil çimen kokusuna sahiptirler. Temel 6C'lu bileşikler 1-hekzanol ve cis-3-hekzanol'dür (Waterhouse ve ark, 2016). Sauvignon Blanc şaraplarında tanımlanan 6C'lu bileşikler miktarları Çizelge 4.10' da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Sauvignon Blanc Şaraplarında Tanımlanan 6C'lu Bileşikler ve Miktarları (µg/L)

LRI	6C'lu Bileşikler	Mp	Sc	Mp+Sc
1284	2-Hekzanol	258.1±2.45 ^a	255.9±1.85 ^a	241.6±2.23 ^b
1328	1-Hekzanol	2164.3±5.83 ^b	2259.6±5.21 ^c	2678.0±6.87 ^a
1382	(E)-3-Hekzen-1-ol	145.7± 3.18 ^a	120.4± 3.38 ^b	138.6±2.96 ^{ab}
1394	(Z)-3-Hekzen-1-ol	74.1±2.48 ^a	58.1± 2.15 ^c	66.4±1.85 ^b
	Toplam	2642.2	2694.0	3124.6

LRI: Linear alıkonma indeksi DB-WAX kapiler kolon üzerinde hesaplanmıştır; ± : standart sapma değerleri; Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.10'da görüldüğü üzere Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarında 4'er adet 6C'lu bileşik tanımlanmış ve toplam miktarları sırası ile 2642.2 µg/L, 2694.0 µg/L ve 3124.6 µg/L olarak bulunmuştur. Her üç şarap örneğinde de baskın olan 6C'lu bileşik 1-hekzanoldür. Bu bileşiğin algılama eşiği %10'luk etil alkol çözeltisinde 8000 µg/L'dir. Bu bileşiğin miktarı Mp şarabında 2164.3 µg/L, Sc şarabında 2259.6 µg/L ve Mp+Sc şarabında ise 2678.0 µg/L olarak saptanmıştır. Bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Deed ve ark (2017), maya suşunun Sauvignon Blanc şarabının aroması üzerine etkisini inceledikleri çalışmada 1-hekzanol miktarlarını 2395 µg/L ile 3925 µg/L aralığında bulmuşlar ve bu bileşiğin algılama eşiğinin 1110 µg/L olduğunu bildirmişlerdir.

2-hekzanol, (E)-hekzen-1-ol ve (Z)-hekzen-1-ol bileşikleri Mp şarabında daha yüksek miktarda bulunmuştur. Sadoudi ve ark (2012), *M. pulcherima* ve *S. cerevisiae* mayalarının saf ve karışık kültür fermantasyonu sonucu Sauvignon Blanc şarabı elde ettikleri çalışmalarında, *M. pulcherrima* mayasının saf kültürü fermantasyonu sonucu elde edilen şarapta (E)-hekzen-1-ol ve (Z)-hekzen-1-ol bileşiklerinin miktarlarını, *S. cerevisiae*'nin saf ve *M. pulcherrima* ile karışık kültür fermantasyonu sonucu üretilen şaraplardaki değerlerden daha yüksek bulmuşlardır.

4.5.1.7. Kükürtlü Bileşikler

Mp ve Mp+Sc şaraplarında 2-Aminopropane-1-tiol bileşiği belirlenmiş ve miktarları sırasıyla 128.4 µg/L ve 76.4 µg/L olduğu tespit edilmiştir.

4.5.2. Sauvignon Blanc Şaraplarının Makro Aroma Bileşimi

Sauvignon Blanc şaraplarında belirlenen makro aroma bileşikleri Çizelge 4.11.'de verilmiştir. Çizelgedeki konsantrasyonlar 3 farklı enjeksiyonun ortalaması olup mg/L olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4. 11. Sauvignon Blanc Şaraplarında Belirlenen Makro Aroma Bileşikleri ve Miktarları (mg/L)

	<i>Mp</i>	<i>Sc</i>	<i>Mp+Sc</i>
Aldehitler			
Asetaldehit	26.9±2.51 ^b	52.6±3.23 ^a	21.0±1.18 ^{bc}
Esterler			
Metil asetat	10.2±0.98 ^a	9.0±0.76 ^a	8.5±0.84 ^a
Etil asetat	102.6±4.62 ^a	81.5±3.63 ^b	68.9±4.27 ^c
Σ Esterler	112.8	89.5	77.4
Yüksek Alkoller			
n-propanol	68.2±4.92 ^b	106.5±7.38 ^a	100.9±6.77 ^a
2-metil-1-propanol	43.6±3.55 ^a	39.7±3.41 ^a	41.8±3.78 ^a
2-metil-1-butanol	38.2±3.21 ^a	32.2±3.26 ^{ab}	38.7±3.89 ^a
3-metil-1-butanol	190.4±8.74 ^a	108.5±6.42 ^c	154.4±7.92 ^b
Σ Yüksek Alkoller	340.4	286.9	335.8

*: Sonuçlar üç ekstraksiyon tekrarrünün ortalaması olarak verilmiştir; ± : standart sapma değerleri; Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulunmuştur.

Asetaldehit olgun meyveler ve birçok maddede bulunur. Asetaldehit, düşük konsantrasyonlarda hoş ve meyvemsi aroma; yüksek konsantrasyonlarda ise istenmeyen çimen, çürük elma, ceviz gibi aromalar verir. En temel tanımlayıcısı ‘Yeşil Elma’daki gibi mayhoş tat ve ekşiliktir. Şaraplardaki konsantrasyonu 10-75 mg/L arasında değişir ve algılama eşik değeri 100 mg/L’dir. Kullanılan mayanın türü ve suşu asetaldehit oluşumunda etkilidir. *S. cerevisiae* için asetaldehit konsantrasyonunun 0.5-286 mg/L, bazı *K. apiculata* için konsantrasyonun 9.5-66 mg/L arasında değiştiği bildirilmektedir (Erten ve Cabaroğlu, 2019). Çalışmada *Mp*, *Sc* ve *Mp+Sc* şaraplarının asetaldehit miktarları sırasıyla 26.9 mg/L, 52.6 mg/L ve 21.0 mg/L olarak bulunmuştur. Bu üç şarabın asetaldehit miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0.05). Görüldüğü gibi en düşük asetaldehit miktarı karışık kültür fermantasyonu uygulanan şarapta elde edilmiştir. Karışık kültür fermantasyonu şarabında ulaşılan bu sonuç uygulama

açısından olumlu bir özellik olarak değerlendirilmiştir. Munoz-Redondo ve ark (2021), yaptıkları çalışmada *S. cerevisiae* ve *M. pulcherrima*'nın karışık kültürü ile üretilen pembe şarapta asetaldehit miktarının *S. cerevisiae*'nin saf kültür fermantasyonu ile üretilen şaraba göre daha düşük miktarda olduğu tespit edilmiştir.

Metil asetat renksiz, sıvı bir yapıda olup, meyvemsi kokuya ve keskin acı bir lezzete sahiptir. Çalışmada üretilen Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının metil asetat miktarları sırasıyla 10.2 mg/L, 9.0 mg/L ve 8.5 mg/L olarak bulunmuştur. Bu üç şarabın metil asetat miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Fermantasyon sırasında en fazla oluşan ester, etil asettir. Düşük konsantrasyonlarda şaraba meyvemsi aroma verir ve kompleks bir yapı kazandırır. Konsantrasyonu 120 mg/L üzerine çıktığında şaraba oje gibi istenmeyen aromalar verir. Şaraplardaki konsantrasyonu 2-150 mg/L arasında değişir ve algılanma eşik değeri 7.5 mg/L'dir. Etil asetat şaraba hoş a giden, meyvemsi, ananas benzeri ve çiçeksi aroma verir (Apostolopoulou ve ark, 2005). Çalışmada üretilen Mp, Sc, Mp+Sc şaraplarının etil asetat konsantrasyonları sırasıyla 102.6 mg/L, 81.5 mg/L ve 68.9 mg/L olarak bulunmuştur. Bu üç şarabın metil asetat miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Görüldüğü gibi Mp+Sc şarabının etil asetat değeri, Mp ve Sc şaraplarına göre daha düşük miktarda tespit edilmiş olup tespit edilen her 3 değer 120 mg/L'nin altındadır. Sadieni ve ark (2012), *S. cerevisiae*, *T. Delbrueckii* ve *M.pulcherrima* mayalarının saf karışık kültür fermantasyonu sonucu mango şarabı elde etmişlerdir. *M. pulcherrima* mayasının saf kültür fermantasyonu sonucu elde edilen mango şarabında etil asetat değeri 28.7 mg/L ile en düşük değerde tespit edilmiştir.

Yüksek alkoller, aminoasitlerin katabolizması sırasında ara ürün olarak ortaya çıkan α -keto asitlerin dekarboksilasyonu sonucu oluşurlar. Aromatik bileşikler arasındaki en büyük gruptur. Şaraba hem pozitif hem de negatif aroma kazandırabilirler. Şaraptaki konsantrasyonları 150 ile 550 mg/L arasında

değişmektedir. 300 mg/L'nin altında şaraba kompleks bir yapı kazandırırılar. 400 mg/L üzerindeki konsantrasyonlarda şaraba keskin ve sert alkol aroması vererek aromayı olumsuz yönde etkilerler.

n-propanol, renksiz, uçucu, yanıcı ve akışkan bir sıvı olup alkol kokusunda ve karakteristik olgun meyve aromasına sahip bir bileşiktir. Çalışmada üretilen Mp, Sc, Mp+Sc şaraplarının n-propanol miktarları sırasıyla 68.2 mg/L, 106.5 mg/L ve 100.9 mg/L olarak saptanmıştır. Mp ve Mp+Sc şaraplarının n-propanol miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Munoz-Redondo ve ark (2021), yaptıkları çalışmada *S. cerevisiae* ve *M. pulcherrima*'nın karışık kültürü ile üretilen pembe şarapta n-propanol miktarının 30 mg/L ile *S. cerevisiae*'nin saf kültür fermantasyonu ile üretilen şaraba göre daha düşük miktarda olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmada üretilen Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının 2-metil-1-propanol miktarları sırasıyla 43.6 mg/L, 39.7 mg/L ve 41.8 mg/L olarak bulunmuştur. Bu üç şarabın 2-metil-1-propanol miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Fermantasyon boyunca en yüksek miktarda oluşan yüksek alkoller amil alkollerdir. Aktif amil alkol (2-metil-1- bütanol) ve izoamil alkol (3-metil-1- bütanol) toplam yüksek alkollerin % 60-80'ini oluşturur (Berry ve Slaughter, 2003). Aktif amil alkol, renksiz sıvı ve etil alkol kokusundadır ve Algılama eşik değeri 0.025-0.41 mg/100 mL'dir (Berry ve Slaughter, 2003). Çalışmada üretilen Mp, Sc, Mp+Sc şaraplarının 2-metil-1-bütanol değerleri sırasıyla 38.2 mg/L, 32.2 mg/L ve 38.7 mg/L olarak bulunmuştur. 3-metil-1-bütanol yüksek konsantrasyonlarda şaraba oje ve keskin alkol aroması verir. %10'luk alkol içerisindeki algılama eşik değeri 30 mg/L'dir (Erten ve Cabaroğlu, 2019). Mp, Sc, Mp+Sc şaraplarının 3-metil-1-bütanol değerleri sırasıyla 190.4 mg/L, 108.5 mg/L ve 154.4 mg/L olarak bulunmuştur. Bu üç şarabın 3-metil-1-bütanol miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Çalışmada  retilen Mp, Sc ve Mp+Sc şaraplarının toplam yüksek alkol konsantrasyonları sırasıyla 340.4 mg/L, 286.9 mg/L ve 335.8 mg/L olarak bulunmuştur. Görüldüğü  zere Sc şarabının toplam yüksek alkol değeri, Mp ve Mp+Sc şaraplarına göre daha düşük miktarda bulunmuş olup tespit edilen her 3 şarabın toplam yüksek alkoller değeri 400 mg/L'nin altında olduğu belirlenmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Denizli'nin Güney ilçesinden elde edilen Sauvignon Blanc üzümlünden *Metshnikowia pulcherrima* ve *Saccharomyces cerevisiae* mayalarının saf ve karışık kültürü kullanılarak beyaz şarap üretilmiş, bu şarapların genel bileşimleri, uçucu tiol ve aroma bileşikleri belirlenmiş, kullanılan mayaların şarapların kalitesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Şarapların genel bileşimi incelendiğinde,

- *S. cerevisiae* ile üretilen şarapta daha yüksek etil alkol, daha düşük uçar asit ve gliserol,
- *M. pulcherrima* ile üretilen şarapta *S. cerevisiae* ya göre daha yüksek uçar asit ve gliserol, daha düşük etil alkol belirlenmiş ve *M. pulcherrima* mayasının şekeri tam olarak parçalayamadığı saptanmıştır.
- Karışık kültür ile üretilen şarapta ise *M. pulcherrima* şarabına göre daha yüksek etil alkol ve daha düşük uçar asit miktarı tespit edilmiştir.

Şarapların uçucu tiol bileşimi incelendiğinde,

- *S. cerevisiae* ile üretilen şarapta, şaraba şimşir ağacı ve frenk üzümü gibi aromalar veren 4MMP bileşiği 17.8 ng/L ile *M. pulcherrima* ve karışık kültür şaraplarına göre daha yüksek miktarda saptanmış,
- Karışık kültür ile üretilen şarapta ise, şaraba çarkıfelek meyvesi ve greyfurt gibi aromalar veren 3MH ve 3MHA bileşikleri sırasıyla 1111.2 ng/L ve 344.1 ng/L ile *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* şaraplarına göre daha yüksek miktarlarda tespit edilmiştir.

Şarapların mikro aroma bileşimi incelendiğinde,

- *S. cerevisiae* ile üretilen şarapta, 38 adet aroma bileşiği tanımlanmış ve bu aroma bileşiklerinin toplam miktarı 176 mg/L olarak saptanmıştır. Bu

şarapta, *M. pulcherrima* ve karışık kültür şarabına göre, yüksek alkol ve uçucu fenol bileşiklerinin daha düşük, lakton bileşiklerinin ise daha yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir.

- *M. pulcherrima* ile üretilen şarapta, 38 adet aroma bileşiği tanımlanmış ve bu aroma bileşiklerinin toplam miktarı 173 mg/L olarak saptanmıştır. Bu şarapta, *S. cerevisiae* ve karışık kültür şarabına göre, lakton ve uçucu asit bileşiklerinin daha düşük, yüksek alkol ve uçucu fenol bileşiklerinin daha yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir.
- Karışık kültür ile üretilen şarapta ise, toplam 39 adet aroma bileşiği tanımlanmış ve toplam miktarı 184 mg/L olarak tespit edilmiştir. Bu şarapta, *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* şarabına göre şarabın aromasına olumlu katkı sağlayan izoamil asetat, 2-feniletıl asetat, etıl hekzanoat, izobütıl asetat, etıl dekanıat gibi ester bileşikleri ve uçucu asitler daha yüksek miktarda saptanmıştır.

Şarapların makro aroma bileşimi incelendiğinde,

- *S. cerevisiae* ile üretilen şarapta karışık kültür şarabına göre, asetaldehit ve metıl asetat bileşikleri daha yüksek miktarda, yüksek alkol bileşiklerinin ise daha düşük miktarda olduğu tespit edilmiştir.
- *M. pulcherrima* ile üretilen şarapta *S. cerevisiae* ve karışık kültür şarabına göre etıl asetat ve yüksek alkol bileşiklerinin yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir.
- Karışık kültür ile üretilen şarapta ise, *M. pulcherrima* ve *S. cerevisiae* şarabına göre asetaldehit ve etıl asetat bileşiklerinin daha düşük miktarda olduğu saptanmıştır. Bu şarapta asetaldehit miktarının düşük olması uygulama açısından olumlu bir özellik olarak değerlendirilmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, araştırmada kullanılan non-*Saccharomyces Metschnikowia pulcherrima* suşu, deneme koşullarında fermantasyon yeteneği bakımından uçar asit hariç başarılı bulunmuştur. Her üç uygulama içerisinde Mp+Sc karışık kültür uygulaması Sauvignon Blanc şaraplarının karakteristik aromasında en önemli bileşikler olan 3MH ve 3MHA uçucu tiol bileşiklerini ve esterleri daha yüksek miktarda ve yüksek konsantrasyonlarda şarabın aromasını olumsuz etkileyen asetaldehit ve etil asetatı daha düşük miktarda oluşturarak aromatik kaliteyi olumlu yönde etkilemiştir. Bu nedenle Sauvignon Blanc şarabı üretiminde saf *S. cerevisiae* ile birlikte *M. pulcherrima* karışık kültür uygulamasının üretimde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.



KAYNAKLAR

- Anfang, N., Brajkovich, M., Goddard, M.R., 2009. Co-fermentation with *Pichia kluyveri* increases varietal thiol concentrations in Sauvignon Blanc. Aust. J. Grape Wine Res., 15, 1–8.
- Anonim, 2009. Türk Gıda Kodeksi Şarap Tebliği. Tebliği No: 2008/67, Resmi Gazete sayı 27131.
- Anonim, 2017. Türk Gıda Kodeksi Distile Alkollü İçkiler Analiz Metotları Tebliği. Tebliği No: 2017/9, Resmi Gazete sayı 30014.
- Anonim, 2017. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katlı Maddeleri Yönetmeliği, Resmi Gazete, Sayı:30188 22 Eylül 2017 Ankara.
- Apostolopoulou, A. A., Flouros, A. I., Demertzis, P. G., Akrida-Demertzi, K. 2005. Differences in concentration of principal volatile constituents in traditional Greek distillates. Food Control, 16(2); 157–164.
- Azzolini, M., Tosi, E., Lorenzini, M., Finato F., Zapparoli, G., 2015. Contribution to the aroma of white wines by controlled *Torulaspora delbrueckii* cultures in association with *Saccharomyces cerevisiae*. World J. Microbiol. Biotechnol., 31, 277–293
- Bağatar, B., 2011. Ticari *Saccharomyces cerevisiae* mayasının emir üzümünden elde edilen şarabın aroma aktif bileşikleri üzerine etkisi, Biyoteknoloji Anabilim dalı, Adana.
- Bağder, S., Özçelik, F. 2009. *Saccharomyces* dışındaki mayaların şarap aromasına etkileri. GIDA, 34 (4); 239-244.
- Belda, I., Ruiz, J., Esteban-Fernández, A., Navascués, E., Marquina, D., Santos, A., Moreno-Arribas, M. V., 2017. Microbial contribution to wine aroma and its intended use for wine quality improvement. Molecules, 22(2); 189.
- Benito S. (2018). The impact of *Torulaspora delbrueckii* yeast in winemaking. Applied Microbiology And Biotechnology, 102(7); 3081–3094.

- Benito, S., Hofmann, T., Laier, M., Lochbühler, B., Schüttler, A., Ebert, K., Rauhut, D., 2015. Effect on quality and composition of Riesling wines fermented by sequential inoculation with non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae*. *European Food Research and Technology*, 241(5); 707–717.
- Beltran, G., Novo, M., Rozès, N., Mas, A., Guillamón, J.M., 2004. Nitrogen catabolite repression in *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentations. *FEMS Yeast Research*, 4(6); 625–632.
- Benkwitz, F., Tominaga, T., Kilmartin, P., Lund, C., Wohlers, M., Nicolau, L., 2012. Identifying the chemical composition related to the distinct aroma characteristics of New Zealand Sauvignon Blanc Wines. *Am J Enol Vitic*, 63, 62-72.
- Berry, D. R., Slaughter, J. C. 2003. Alcoholic Beverage Fermentations. *Fermented Beverage Production*, 25–39.
- Borren, E., Tian, B., 2021. The important contribution of non-*Saccharomyces* yeasts to the aroma complexity of wine: A Review *Foods*, 10(1); 13.
- Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, L. F., Kunkee, R. E., 1996. principles and practises of wine making, Chaman Hall, New York, p. 604.
- Branco, P., Coutinho, R., Malfeito-Ferreira, M., Prista, C., Albergaria, H., 2021. Wine spoilage control: impact of Sccharomycin on *Brettanomyces bruxellensis* and its conjugated effect with sulfur dioxide. *Microorganisms*, 9(12); 2528.
- Cabaroğlu, T., 2003. Üzümlerde Aroma Maddeleri ve Şarapçılık Açısından Önemi. *Gıda* 28(6), 599-605.
- Cabaroğlu T., Darıcı M., Erten H., 2020. Şarap teknolojisi (editörler : O. Erkmen, H. Erten, H. Sağlam). *fermente ürünler teknolojisi ve mikrobiyolojisi*, 1.baskı, Nobel Akademik Yayıncılık, s.429-469.

- Cabaroğlu, T., Yılmaztekin, M., 2010. Aroma Biyoteknolojisi. Gıda Biyoteknolojisi. Nobel Yayın Dağıtım, 1. Baskı, Bölüm 10, 375-390.
- Cabredo-Pinillos, S., Cedredrón-Fernández, T., Sáenz-Barrio, C., 2008. Differentiation of “claret”, rosé, red and blend wines based on the content of volatile compounds by hs-spme and gas chromatography. *European Food Research And Technology*, 226, 1317–1323.
- Canbaş, A., 2007. Şarap Teknolojisi Ders Notları, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Mühendisliği Bölümü, Adana.
- Canbaş, A., Cabaroğlu, T., 2000. Kabuk maserasyonunun İskenderiye Misketi üzümünden elde edilen şıradaki aroma maddeleri üzerine etkisi, *Gıda Dergisi*, 25(1), 61-68.
- Capone, D.L., Ristic, R., Pardon, K.H., Jeffrey, D.W., 2015. Simple quantitative determination of potent thiols at ultratrace levels in wine by derivatization and high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (hplc-ms/ms) analysis. *Anal. Chem.*, 87 (2); 1226–1231.
- Chen, L., Capone, D. L., Nicholson, E. L., Jeffery, D. W., 2022. Intraregional profiles of varietal thiols and precursors in Sauvignon Blanc juices and wines from the Adelaide Hills. *Proceedings of the XIIIth International Terroir Congress*, 1-7.
- Clemente-Jimenez, J.M., Mingorance-Cazorla, L., Martí'Nez-Rodríguez, S., Las Heras-Va'Zquez, F.J., Rodríguez-Vico, F., 2005. Influence of sequential yeast mixtures on wine fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 98, 301– 308.
- Comitini, F., Gobbi, M., Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Mannazzu, I., Ciani, M., 2011. Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol.* 28(5):873-82.

- Concejero, B., Hernandez-Orte, P., Astrain, J., Lacau, B., Baron, C., Ferreira, V., 2016. Evolution of polyfunctional mercaptans and their precursors during Merlot alcoholic fermentation. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 770–776.
- Cordente, A. G., Curtin, C. D., Varela, C., Pretorius, I. S. (2012). Flavour-active wine yeasts. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 96(3); 601–618.
- Dagan, L., 2006. Potentiel aromatique des raisins de *Vitis Vinifera* L. cv. Petit Manseng et Gros Manseng. Contribution à l'arôme des vins de pays Côtes de Gascogne. Sciences et Procédés Biologiques et Industriels, Vol. PhD Thesis (p. 238).
- Darıcı, M., Bergama, D., Cabaroğlu, T., 2019. Effect of triple pot still distillation on the volatile compositions during the Rakı production. *J Food Process Preservi* 43, e13864.
- Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boidron, J. N., Dubourdieu, D., 1995. Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L.var. Sauvignon wines: 4-Mercapto-4-Methylpentan-2-one. *Flavour Fragrance J.*, 10, 385–392.
- De Andrés-De Prado, R., Yuste-Rojas, M., Sort, X., Andrés-Lacueva, C., Torres, M., Lamuela-Raventós, R.M., 2007. Effect of soil type on wines produced from *Vitis Vinifera* L. Cv. Grenache in commercial vineyards. *J. Agric. Food Chem*, 55, 779–786.
- Deed, R. C., Fedrizzi, B., Gardner, R. C., 2017. Influence of fermentation temperature, yeast strain, and grape juice on the aroma chemistry and sensory profile of Sauvignon Blanc wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(40); 8902–8912.
- Dubourdieu, D., Tominaga, T., Masneuf, I., Des Gachons, C. P., Murat M.L., 2006. The role of yeasts in grape flavor development during fermentation: the example of Sauvignon Blanc. *Am J Enol Vitic*, 57, 81– 88.

- Dufour, M., Zimmer, A., Thibon, C., 2013. Enhancement of volatile thiol release of *Saccharomyces cerevisiae* strains using molecular breeding. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97, 5893–5905.
- Englezos, V., Rantsiou, K., Cravero, F., Torchio, F., Pollon, M., Fracassetti, D., Cocolin, L. 2018. Volatile profile of white wines fermented with sequential inoculation of *Starmerella bacillaris* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chemistry*, 257, 350–360.
- Erten, H., Cabaroğlu, T., 2019. Off-flavor production by *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* wine yeasts. 8th Symposium of the Oenoviti International Network, 70-77.
- Esteve-Zarzoso, B., Manzanares, P., Ramón, D., Querol, A., 1998 .The role of non-*Saccharomyces* yeasts in industrial winemaking. *Int Microbiol.*,1(2);143-148.
- Esteve-Zarzoso B., Gostincar, A., Bobet, R., Uruburu, F., Querol, A., 2000. Selection and molecular characterization of wine yeasts isoalted from the El Penedes area (Spain). *Food Microbiology*, 17, 553-562.
- Farhana R. P., Jouanneau, S., Nicolau, L., Gardner, R.C., Villas-Boas, S.G., 2012. Concentrations of the volatile thiol 3-mercaptohexanol in Sauvignon Blanc wines: no correlation with juice precursors. *Am. J. Enol. Vitic.* 63(3); 407-412.
- Fleet., G.H., Heard, G.M., 2002. Yeasts growth during fermentation (G.H., Fleet Editör). *Wine Microbiology and Biotechnology*, 2. Baskı, Taylor&Farancis, New York, s. 27-54.
- Ferreira, V., Ortin, N., Escudero, A., Lopez, R., Cacho, J., 2002. Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines: Aroma extract dilutionanalysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *J. Agric. Food Chem.*, 50(14); 4048–4054.

- Ge, Q., Guo, C., Zhang, J., Yan, Y., Zhao, D., Li, C., Yuan, Y., 2021. Effects of simultaneous co-fermentation of five indigenous non-*Saccharomyces* strains with *S. cerevisiae* on Vidal icewine aroma quality. *Foods*, 10(7), 1452.
- González-Royo, E., Pascual, O., Kontoudakis, N., 2015. Oenological consequences of sequential inoculation with non-*Saccharomyces* yeasts (*Torulaspora delbrueckii* or *Metschnikowia pulcherrima*) and *Saccharomyces cerevisiae* in base wine for sparkling wine production. *Eur Food Res Technol* 240, 999–1012.
- Halkman, A.K., 2005. Gıda mikrobiyolojisi uygulamaları, MERCK. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti., Ankara, 358 s.
- Howell, K.S., Swiegers, J.H., Elsey, G.M., Siebert, T.E., Bartowsky, E.J., Fleet, G.H., Pretorius, I.S. And De Barros Lopes, M.A., 2004. Variation in 4-mercapto-4-methyl-pentan-2-one release by *Saccharomyces cerevisiae* commercial wine strains. *FEMS Microbiology Letters*, 240, 125–129.
- Karabegović, I., Malićanin, M., Danilović, B., Stanojević, J., Stamenković Stojanović, S., Nikolić, N., Lazić, M., 2021. Potential of non-*Saccharomyces* yeast for improving the aroma and sensory profile of Prokupac red wine. *OENO One*, 55(2); 181–195.
- Kaya, Z., 2017. Şarap Üretimi ve Kalite, Ambiyans Şarap Evi, Aydın Gastronomy, 1 (2);17-30.
- Liu, P.T., Lu, L., Duan, C.Q., Yan, G.L., 2016. The contribution of indigenous non-*Saccharomyces* wine yeast to improved aromatic quality of Cabernet Sauvignon wines by spontaneous fermentation. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 356–363.
- Mafata, M., Stander, M., Thomachot, B., Buica, A., 2018. Measuring thiols in single cultivar South African red wines using 4,4-dithiodipyridine (DTDTP) derivatization and ultraperformance convergence chromatography-tandem mass spectrometry. *Foods*, 7(9); 138.

- Masneuf-Pomarède, I., Mansour, C., Murat, M. L., Tominaga, T., Dubourdieu, D., (2006). Influence of fermentation temperature on volatile thiols concentrations in Sauvignon Blanc wines. *International Journal Of Food Microbiology*, 108(3); 385–390.
- Muñoz-Redondo, J. M., Puertas, B., Cantos-Villar, E., Jiménez-Hierro, M. J., Carbú, M., Garrido, C., Ruiz-Moreno, M. J., Moreno-Rojas, J. M., 2021. Impact of sequential inoculation with the non-*Saccharomyces T. delbrueckii* and *M. pulcherrima* combined with *Saccharomyces cerevisiae* strains on chemicals and sensory profile of rosé wines. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 69(5); 1598–1609.
- Murat, M.L., Tominaga, T., Dubourdieu, D., 2001. Assessing the aromatic potential of Cabernet Sauvignon and Merlot musts used to produce rose wine by assaying the cysteinylated precursor of 3-Mercaptohexan-1-ol. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5412–5417.
- Nicolini, G., Roman, T., Flamini, R., Tonidandel, L., Gardiman, M., Larcher, R., 2020. Thiol precursors in *Vitis* mould-tolerant hybrid varieties. *J Sci Food Agric*, 100, 3262-3268.
- Nurgel, C., 2000. Emir ve Kalecik karası üzümünün şaraba islenmesinde maya florasındaki gelişmeler ve fermantasyonda kullanılan mayaların kalite üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 161 s., Adana.
- Nykänen, L., 1986. Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 84–96.
- OIV, 2022. OIV Statistical Report on World Vitiviniculture.
- Ough, C. S., Amerine, M. A., 1988. *Methods for Analysis of Must and Wines*.
- Özdamar, K., 2011. *Paket Programlar ile istatistiksel Veri Analizi*. Kaan Kitabevi, Eskişehir, 535 s.

- Parish-Virtue, K., Herbst-Johnstone, M., Bouda, F., Fedrizzi, B., Deed, R.C., Kilmartin, P.A., 2021. Aroma and sensory profiles of Sauvignon Blanc wines from commercially produced free run and pressed juices. *Beverages*, 7, 29.
- Pinu, F.R., Tumanov, S., Grose, C., 2019. Juice Index: an integrated Sauvignon blanc grape and wine metabolomics database shows mainly seasonal differences. *Metabolomics*, 15, 3.
- Pisarnitskii, A. F., 2001. Formation of wine aroma: tones and imperfections caused by minor components. *App. Biochem. Microbio.*, 37(6); 552-560.
- Ribéreau-Gayon P, Gloires, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D., 2000. *Handbook of Enology Volume 2: the chemistry of wine and stabilization and treatments*, John Wiley and Sons, Ltd., England.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. 2006. *Handbook of Enology Vol. 2—the chemistry of wine stabilization and treatments*. 2nd Edition, John Wiley & Sons, Ltd., Hoboken.
- Rigou, P., Triay, A., Razungles, A., 2014. Influence of volatile thiols in the development of blackcurrant aroma in red wine. *Food Chemistry*, 142; 242-248.
- Rodríguez-Bencomo, J. J., Selli, S., Muñoz-González, C., Martín-Álvarez, P. J., Pozo-Bayón, M. A., 2013. Application of glycosidic aroma precursors to enhance the aroma and sensory profile of dealcoholised wines. *Food Research International*, 51(2); 450-457.
- Roland, A., Schneider, R., Razungles, A., Cavelier, F., 2011. varietal thiols in wine: discovery. *Analysis and Applications Chemical Reviews*, 111 (11); 7355-7376.
- Romano, P., Fiore, C., Paraggio, M., Caruso, M., & Capece, A. (2003). Function of yeast species and strains in wine flavour. *International Journal Of Food Microbiology*, 86(1-2); 169–180.

- Rudnitskaya, A., Kirsanov, D., Legin, A., Beullens, K., Lammertyn, J., Nicolaï, B.M., Irudayaraj, J., 2006. Analysis of apples varieties – comparison of electronic tongue with different analytical techniques. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 116(1-2); 23-28.
- Ruiz, J., Belda, I., Beisert, B., 2018. Analytical impact of *Metschnikowia pulcherrima* in the volatile profile of Verdejo white wines. *Appl Microbiol Biotechnol*, 102, 8501–8509.
- Sadineni, V., Kondapalli, N., Obulam, V.S.R., 2012. Effect of co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii* or *Metschnikowia pulcherrima* on the aroma and sensory properties of mango wine. *Ann Microbiol.*, 62, 1353–1360.
- Sadoudi, M., Tourdot-Maréchal, R., Rousseaux, S., Steyer, D., Gallardo-Chacón, J-J., Ballester, J., Vichi, S., Guérin-Schneider, R., Caixach, J., Alexandre H 2012. Yeast interactions revealed by aromatic profile analysis of sauvignon blanc wine fermented by single or co-culture of non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* yeasts. *Food Microbiol* 32, 243–253.
- Seguinot, P., Bloem, A., Brial, P., Meudec, E., Ortiz-Julien, A., Camarasa, C., 2020. Analysing the impact of the nature of the nitrogen source on the formation of volatile compounds to unravel the aroma metabolism of two non-*Saccharomyces* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 316, 108441.
- Schneider, R., Kotseridis, Y., Ray, J. L., Augier, C., Baumes, R., 2003. Quantitative determination of sulfur-containing wine odorants at sub parts per billion levels. 2. Development and application of a stable isotope dilution assay. *J. Agric. Food Chem.*, 51(11); 3243–3248.
- Swiegers, J., Bartowsky, E., Henschke, P. And Pretorius, I., 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11, 139-173.

- Swiegers, J.H., Willmott, R.L., Hilling, A., Capone, D.L., Pardon, K.H., Elsey, G. M., 2006. "Modulation of volatile thiol and ester aromas in wine by modified wine yeast," in *Developments in Food Science. Flavour Science Recent Advances and Trends*, eds W. Bredie and M. Petersen (Amsterdam: Elsevier), 113–116.
- Swiegers, J.H., Kievit, R.L., Siebert, T., Lattey, K.A., Bramley, B.R., Francis, I.L., King, E.S., Pretorius, I.S., 2009. The influence of yeast on the aroma of Sauvignon Blanc wine. *Food Microbiol.*, 26(2); 204–11.
- Tao, Y., Li, H., Wang, H., Zhang, L., 2008. Volatile compounds of young Cabernet Sauvignon red wine from Changli County (China). *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 689–694.
- Teixeira, A., Caldeira, I., And Duarte, F.L., 2014. Molecular and oenological characterization of Touriga Nacional non-*Saccharomyces* yeasts. *Journal of Applied Microbiology* 118, 658–671.
- Tominaga, T., Darriet, P., Dubourdieu, D., 1996. Identification of 3-mercaptohexanol acetate, compound having a powerful odor reminiscent of box-tree, involved in the aroma of Sauvignon wines. *Vitis*, 35, 207–210.
- Tominaga, T., Baltenweck-Guyot, R., Des Gachons, C.P., Dubourdieu, D., 2000. Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis Vinifera* grape varieties. *Am J Enol Vitic.*, 51, 178–181.
- Ugliano, M., Henschke, P. A., 2009. *Yeast and Wine Flavour*. Wine Chemistry and Biochemistry. Moreno-Arribas, M.V., Polo, M.C. Australia: Springer.
- Waterhouse, A. L., Sacks, G. L., and Jeffery, D. W., 2016. *Understanding wine chemistry*. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons Inc.
- Windholtz, S., Redon, P., Lacampagne, S., Farris, L., Lytra, G., Cameleyre, M., Masneuf-Pomarède, I., 2021. non-*Saccharomyces* yeasts as bioprotection in the composition of red wine and in the reduction of sulfur dioxide. *LWT*, 149, 111781.

- Zhang, M., Zhong, T., Heygi, F., Wang, Z., Du, M., 2022. Effects of inoculation protocols on aroma profiles and quality of plum wine in mixed culture fermentation of *Metschnikowia pulcherrima* with *Saccharomyces cerevisiae*. LWT, 161, 113338.
- Zott, K., Thibon, C., Bely, M., Lonvaud-Funel, A., Dubourdieu, D., Masneuf-Pomarede, I., 2011. The grape must non-*Saccharomyces* microbial community: Impact on volatile thiol release. International Journal of Food Microbiology, 151(2); 210.



ÖZGEÇMİŞ

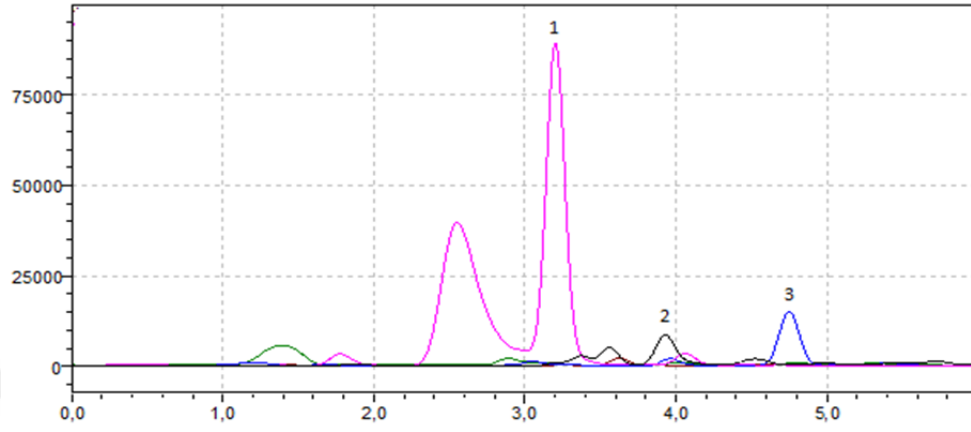
Abdullah ÖZONUR, İlk, orta ve lise öğrenimini Adana’da tamamladı. 2013 yılında Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazandı ve 2018 yılında bu bölümden bölüm birinciliği ile mezun oldu. 2019 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. 2020 yılında Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünde halen sürdürmekte olduğu araştırma görevlisi kadrosuna atandı ve yüksek lisans öğrenimine Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim dalında devam etti.



EKLER

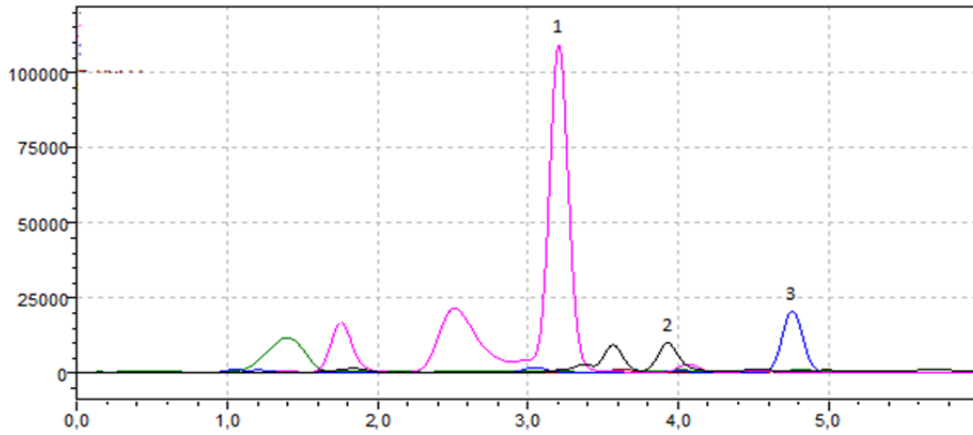


Ek 1. Mp Şarabının Uçucu Tioller Kromotogram Örneği



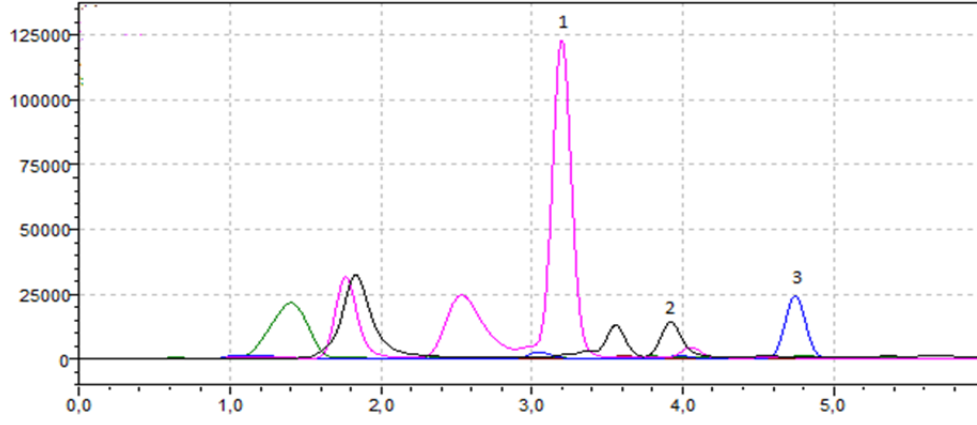
1. 3-merkapt-hekzan1-ol 2. 4-metil-4-merkaptopentan-2-on 3. 3-merkapt-hekzil asetat

Ek 2. Sc Şarabının Uçucu Tioller Kromotogram Örneği



1. 3-merkapt-hekzan1-ol 2. 4-metil-4-merkaptopentan-2-on 3. 3-merkapt-hekzil asetat

Ek 3. Mp+Sc Şarabının Uçucu Tioller Kromotogram Örneği



1. 3-merkapt-hekzan1-ol 2. 4-metil-4-merkaptopentan-2-on 3. 3-merkaptohexzil asetat