

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GİLABURU (*Viburnum opulus L.*) MEYVESİNDEN ŞARAP ÜRETİM
SÜRECİNDE YÜKSEK HİDROSTATİK BASINCIN KULLANILMASI

HÜSEYİN CAN AYÇİÇEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sami BULUT

EDİRNE-2024

HÜSEYİN CAN AYÇİÇEK'in hazırladığı “**GİLABURU (*Viburnum opulus L.*) MEYVESİNDEN ŞARAP ÜRETİM SÜRECİNDE YÜKSEK HİDROSTATİK BASINCIN KULLANILMASI**” başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda bir **Yüksek lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):

İmza

Prof. Dr. SAMİ BULUT

Doç. Dr. FATMA COŞKUN

Dr. Öğr. Üyesi EMEL YILMAZ

Tez Savunma Tarihi: 17/07/2024

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Sami BULUT

İmza

Tez Danışmanı

.....

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Muharrem Tolga SAKALLI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

17/07/2024

Hüseyin Can AYÇİÇEK

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Gilaburu (*Viburnum opulus L.*) Meyvesinden Şarap Üretim Sürecinde Yüksek Hidrostatik Basıncın Kullanılması

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÖZET

Gilaburu (*Viburnum opulus L.*) meyvesi, dünyada pek az yerde yetişen, ülkemizde ise özellikle Kayseri ili ve civarında oldukça fazla miktarda yetiştirilen bir meyvedir. Bu meyveden geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilen fermantasyonla gilaburu içeceği üretilmektedir. Laktik asit bakterileri (LAB) tarafından gerçekleştirilen fermantasyon sonucunda elde edilen bu geleneksel içeceğimizden başka gilaburu meyvesinden elde edilen bir içecek bulunmamaktadır. Kükürt dioksit şaraplarda en yaygın kullanılan koruyucuların başında gelmektedir. Ancak kükürt dioksit gibi sülfidler, bazı tüketiciler için alerjen olabilmektedir. Araştırmacılar, kükürt dioksitin ikamesi olarak kullanılabilecek bir yöntem bulmaya çalışmaktadırlar. Bu çalışmada, sağlığa faydaları ile ön plana çıkan gilaburu meyvesinden kükürt dioksit kullanılmadan şarap elde edilmiş ve elde edilen şarabın raf ömrü yüksek hidrostatik basınç (YHB) kullanılarak artırılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla gilaburu meyvesinden elde edilen şırada alkol fermantasyonu gerçekleştirilmiş, daha sonra, elde edilen şarap, optimize edilmiş sıcaklık, basınç ve süre parametresinde (4 °C, 275 MPa ve 3 dakika) yüksek hidrostatik basınca maruz bırakılmıştır. Basınçlanmış şaraplar ve basınçlanmamış kontrol örnekleri, 25°C oda sıcaklığı ve 4 °C buzdolabı sıcaklığında 40 gün süreyle depolanmıştır. Depolama boyunca şaraplardaki mikrobiyal yük, pH, titrasyon asitliği, suda çözünür kuru madde miktarı, renk parametreleri ve toplam fenolik bileşen miktarları tespit edilmiş ve örnekler duyuşal değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlar gilaburu şarabındaki tüm canlı aerobik bakteri ve maya – küflerin ılımlı bir YHB uygulaması ile elimine edilebildiğini göstermiştir. Depolama boyunca yapılan test ve analizler, YHB'nin renk hariç, gilaburu

şarabının fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine olumsuz etkisinin sınırlı olduğuna işaret etmektedir.

Yıl : 2024

Sayfa Sayısı : 61

Anahtar Kelimeler : Isıl olmayan işlem, fermantasyon, depolama, raf ömrü,



Master's Thesis

Use of high hydrostatic pressure in production of fruit wine from European Cranberrybush (*Viburnum opulus L*)

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

ABSTRACT

Viburnum opulus L., commonly known as gilaburu, is a fruit that is cultivated in very few places worldwide, but is abundantly grown in Kayseri province and its surroundings in Turkey. This fruit is used to produce gilaburu juice through traditional fermentation methods. There is no other beverage that is made from the gilaburu fruit except this traditional beverage, resulting from fermentation by lactic acid bacteria (LAB). Sulfur dioxide is one of the most widely used preservatives in wines. However, sulfites like sulfur dioxide can act as allergens for some consumers. Researchers are looking for alternative methods to replace sulfur dioxide. In this study, wine produced from the gilaburu fruit, which is known for its health benefits, without using sulfur dioxide and its shelf life was extended using high hydrostatic pressure (HHP). For this purpose, alcohol fermentation was performed on the must obtained from the gilaburu fruit, and the resulting wine was subjected to high hydrostatic pressure under optimized temperature, pressure and duration parameters (4 °C, 275 MPa, and 3 minutes). The pressurized wine and the non-pressurized control samples were stored for 40 days at 25 °C room temperature and 4 °C refrigerator temperature. During storage, microbial load, pH, titratable acidity, soluble solid content, color parameters, and total phenolic content of the wines were determined, and the samples were subjected to sensory evaluation. The results showed that all viable aerobic bacteria and yeast and mold in gilaburu wine could be eliminated by a mild high hydrostatic pressure (HHP) application. Tests and analyses conducted during the storage period indicated that HHP had a limited

undesirable effects on the physicochemical and sensory properties of gilaburu wine, except for color, which darkened during the storage at room temperature.

Year : 2024

Number of Pages : 61

Keywords : Nonthermal processing, fermentation, storage, shelf life



TEŞEKKÜR

Analizlerimi gerçekleştirmek amacıyla laboratuvar çalışmalarında destek olan Dr. Öğr. Üyesi Emel YILMAZ, Dr. Öğr. Üyesi İrem DAMAR, Dr. Öğr. Üyesi Abdullah AKGÜN'e ve Öğr. Gör. Dr. Ahmet YETKİN'e,

Fermantasyonda kullanılan mayaların tedarigi için Öktem Bağcılık ve Şarapçılık'a,

Tez çalışmasının gerçekleşmesindeki maddi desteğinden dolayı Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: 2023/12),

Alkol tayini esnasındaki paha biçilemez yardımları sayesinde beni büyük bir yükten kurtaran Dr. Öğr. Üyesi Şafak YILDIRIM'a,

Gilaburu meyvelerinin teminini benden daha fazla görev edinen ve bana her anlamda yardımcı olan çok kıymetli Mustafa KÖŞK'e,

Maddi ve manevi, her türlü desteği sağlayan aileme,

Çalışmamda ve yüksek lisans sürecimde bana akıl hocalığı yaparak yolumu aydınlatan çok değerli Prof. Dr. Sami BULUT'a,

Ve özellikle beni büyütüp okutan, hakkını asla ödeyemeyeceğim biricik anneannem Sadiye SERİM'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Hüseyin Can AYÇİÇEK

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
BÖLÜM 1	1
GENEL BİLGİLER	1
1.1. Gilaburu meyvesi	1
1.2. Şaraplar ve meyve şarapları	3
1.3. Yüksek hidrostatik basınç (YHB) teknolojisi	4
1.4. Şarap üzerine YHB çalışmaları	7
BÖLÜM 2	8
MATERYAL ve METOT	8
2.1. Materyal	8
2.1.1. Hammaddeler.....	8
2.1.2. Kimyasallar.....	8
2.2. Metot	9
2.2.1. Gilaburu meyvesinden şarap üretimi	9
2.2.2. YHB İşlemi	11

2.2.3.	Titrasyon asitliği miktarının belirlenmesi.....	13
2.2.4.	pH değerlerinin belirlenmesi	13
2.2.5.	Suda çözünür kuru madde miktarının belirlenmesi	13
2.2.6.	Toplam indirgen şeker miktarının belirlenmesi.....	13
2.2.7.	Renk değerlerinin belirlenmesi.....	15
2.2.8.	Alkol tayini	15
2.2.9.	Mikrobiyolojik yükün belirlenmesi	15
2.2.10.	Gilaburu şarabının toplam fenolik madde miktarı	16
2.2.11.	Gilaburu şarabının duysal kalitesi.....	16
2.2.12.	İstatistiksel Analiz.....	16
BÖLÜM 3		17
BULGULAR ve TARTIŞMA		17
3.1.	Gilaburu suyunun fizikokimyasal özellikleri.....	17
3.2.	Alkol fermentasyonu boyunca gözlemlenen değişimler	19
3.2.1.	Alkol fermentasyonu boyunca °Brix değişimi	19
3.2.2.	Alkol fermentasyonu boyunca pH değişimi	21
3.3.	Gilaburu şarabı eldesi sonrası gerçekleştirilen analizler ve YHB ile raf ömrü çalışmaları	22
3.3.1.	Gilaburu şarabının hacmen alkol miktarı.....	22
3.3.2.	YHB'nin şarabın mikrobiyal yüküne etkisi	22
3.3.3.	Depolama boyunca mikrobiyal yükteki değişim	24
3.3.4.	Depolama boyunca fizikokimyasal özelliklerdeki değişim	26
3.3.5.	Depolama boyunca rengin değişimi	28
3.3.6.	Depolama boyunca toplam fenolik madde miktarındaki değişim	33
3.3.7.	Depolama boyunca duysal kalitedeki değişim.....	34
BÖLÜM 4		37

ÖNERİLER.....	37
4.1. Öneriler	37
KAYNAKÇA.....	38
EKLER.....	43
ÖZGEÇMİŞ	46



SİMGELER ve KISALTMALAR

°Brix	Suda çözünür kuru madde derecesi
ANOVA	Varyans Analizi
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
EUR	Euro
g	Gram
G	Yerçekimi kuvveti eşdeğeri
GAE	Gallik asit eşdeğeri
kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
log	Logaritma
mg	Miligram
mL	Mililitre
MPa	Megapascal
N	Normalite
ng	Nanogram
nm	Nanometre

p	İstatistiksel önem değeri
ppm	Milyonda bir birim
TA	Titrasyon asitliği
YHB	Yüksek Hidrostatik Basınç



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Hasat edilmiş gilaburu meyvesi	2
Şekil 2.1. Gilaburu meyvesinden şarap üretimi, YHB işemi ve depolama aşamalarını gösteren akım şeması.	10
Şekil 2.2. Gilaburu meyvesinden şarap üretimi fermantasyon düzeneği	11
Şekil 2.3. Gilaburu şarabı örneklerinin depolanması; a) Buzdolabı sıcaklığında (4°C), b) Oda sıcaklığında (25°C) depolama	12
Şekil 3.1. Fermantasyon boyunca suda çözünür kuru madde değişimi	20
Şekil 3.2. Fermantasyon boyunca pH değişimi.....	21
Şekil 3.3. Depolama boyunca L*, a*, b* renk değerlerinde meydana gelen değişimler	30
Şekil 3.4. Depolama boyunca duyuusal test parametrelerindeki değişim.....	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Gilaburu suyunun bazı fizikokimyasal ve fiziksel özellikleri.....	17
Çizelge 3.2. Çeşitli YHB’lerde mikroorganizma yükündeki değişim	23
Çizelge 3.3. Gilaburu şarabının depolanması boyunca mikrobiyolojik yükteki değişim	25
Çizelge 3.4. Depolama boyunca °Brix değişimi	26
Çizelge 3.5. Depolama boyunca pH değişimi	27
Çizelge 3.6. Depolama boyunca titrasyon asitliği değişimi	27
Çizelge 3.7. Depolama boyunca ΔE değerleri	29
Çizelge 3.8. Depolama boyunca L^* , a^* , b^* değerlerine ilişkin sayısal değerler	31
Çizelge 3.9. Depolama boyunca toplam fenolik madde miktarı değişimi.	33

BÖLÜM 1

GENEL BİLGİLER

1.1. Gilaburu meyvesi

Gilaburu (*Viburnum Opulus L.*) *Adoxeaceae* familyasına ait olan (Anonim, 2011a) Avrupa kökenli, geniş bir coğrafyaya yayılmış, ancak daha çok batı Rusya'nın ortalarında bulunan (Velioglu, Ekici, & Poyrazoglu, 2006), 3,5 – 4,5 metre uzunluğunda yabani bir çalı bitkisidir (Anonim, 2018). Gilaburu meyvesi (Şekil 1.1), ülkemizde Anadolu'da doğal olarak kendiliğinden yetişmektedir (Anonim, 2018). İngilizcede guelder rose, European Cranberrybush, European guelder, water elder, gibi çeşitli isimler almaktadır (Kajszczak, Zaklos-Szyda, & Podsedek, 2020). Gilaburu, meyvesinin çiçekleri çok güzel bulunduğundan Osmanlı İmparatorluğu döneminde gülebru olarak anılmış, zamanla günümüze gilaburu olarak evrilmiştir (Koca, 2009). Bunlar dışında giraboğulu, gili gili gibi isimler de atfedilmiştir (Koca, 2009).

Meyveleri olgunlaşmamışken yeşil renge, olgunlaştıktan sonra ise kırmızı renge sahip olan gilaburu (Çam, Aslan, Dinç, & İçyer, 2012), kendine özgü, buruk bir tada sahiptir (Velioglu vd., 2006). Meyvelerinin çapı 0.8-1 cm'dir ve tek çekirdekli (Koca, 2009). Meyvenin bir salkımı 30-40 adet meyveden oluşmaktadır (Koca, 2009). Gilaburu bitkisi, dikildiğinde 3 yıl ürün vermeyen, çok yıllık bir bitkidir ve 300 yıl kadar yaşayabilmektedir (Koca, 2009). Ayrıca periyodisite, yani yıla bağlı olarak verimde değişkenlik göstermemektedir (Anonim, 2018).

Gilaburu meyvesi, tannik asit ve askorbik asit gibi organik asitleri, vitaminlerden A, C, E vitaminlerini ve sodyum, potasyum, magnezyum ve klorür gibi mineralleri barındırmaktadır (Çam vd., 2012). Ayrıca meyve, bileşiminde bulunan valerik asitin

sebebi olduğu keskin bir kokuya sahiptir (Ünsal, 2022). Gilaburu yüksek miktarda karotenoid, antosiyanin ve fenolik asit içermektedir (Ünsal, 2022). L-malik asit ise gilaburu meyvesinin temel organik asididir (Çam vd., 2012).



Şekil 1.1. Hasat edilmiş gilaburu meyvesi

Türkiye'nin Orta Anadolu'sunda ve bazı bölgelerinde yetiştirilen gilaburulardan geleneksel bir içecek üretilmektedir. Hasat edildikten sonra, yıkanıp, plastik şişelere, şişede boşluk kalmayacak kadar su ile doldurulan gilaburular, 3 veya 5 ay kendiliğinden gerçekleşen fermentasyona bırakılmaktadır (Sagdic, Ozturk, Yapar, & Yetim, 2014). Geleneksel gilaburu içeceğinin buruk tadını gidermek amacıyla fenolik bileşenleri uzaklaştırmak için aktifleştirilmiş karbonla muamele edilmektedir (Velioglu vd., 2006).

Gilaburunun yüksek tansiyon, nefes darlığı, sindirim sorunları, soğuk algınlığı gibi hastalıkları önlediğine ve böbrek taşlarını erittiğine inanılmaktadır (Çam vd., 2012). Yayınlanan in-vitro çalışmaların sonuçlarına göre gilaburunun farklı morfolojik kısımları anti-mikrobiyal, anti-diyabetik, anti-obezite, anti-enflamatuvar ve anti-kanserojenik özellikler göstermektedir (Kajszczak vd., 2020). Gilaburunun sağlık üzerine olumlu etkileri, fenolik bileşikler, C vitamini, karotenoidler, iridoidler ve uçucu yağlar gibi biyoaktif bileşenlerin varlığından kaynaklanmaktadır (Kajszczak vd., 2020).

Gilaburu meyvesi birçok patojenik gram pozitif ve gram negatif bakteri üzerinde antibakteriyel etki gösterirken, mayalara karşı antimikrobiyal etkisi sınırlıdır (Kajszczak vd., 2020).

Gilaburu, Akkışla (Anonim, 2021), Bünyan (Anonim, 2018) ve Gemerek (Anonim, 2017) gilaburuları olmak üzere üç adet tescilli coğrafi işarete sahiptir.

1.2. Şaraplar ve meyve şarapları

Üzüm, bütün dünyada şarap üretiminin ana hammadde kaynağı olarak kabul edilmektedir (Joshi, Panesar, & Kosseva, 2017). Ancak üzüm haricinde şarap üretimi için kullanılabilecek birçok meyve mevcuttur (Jagtap & Bapat, 2015). Tüketicilerin ihtiyaçlarına cevap vermek amacıyla, çeşitli tat ve tarzlara sahip meyve şarapları geliştirilmiştir (Yang, Cai, Lu, & Gómez Plaza, 2021). Litchi şarabı, elma şarabı, erik şarabı, ananas şarabı, muz şarabı, yabanmersini şarabı gibi meyve şaraplarının başarıyla üretildiği literatürde bildirilmiştir (Yang vd., 2021). Genel olarak tek başına “şarap” denildiğinde üzümden alkol fermentasyonu yoluyla elde edilen içecek, anlaşılmaktadır (Jagtap & Bapat, 2015). Üzüm dışındaki meyvelerden şarap üretimi yapıldığı zaman ise ufak bir farkla şarabın ön adı olarak ilgili meyvenin adı eklenmekte ve şarap öyle adlandırılmaktadır (Jagtap & Bapat, 2015).

Şarap, basit bir meyve ürünü olmaktan ziyade, çok sayıda kimyasal değişimin meydana geldiği özel bir fermentasyon ürünüdür (Jagtap & Bapat, 2015). Meyvelerde bulunan şekerler mayalar tarafından fermente edilerek etanol, karbondioksit ve gliserole dönüştürülmektedirler (Velic vd., 2018). Fermentasyon sırasında etanole ek olarak bir dizi yan ürün de oluşmaktadır (Duarte vd., 2010). Bu yan ürünlerden bazıları karbonil bileşenleri, alkoller, esterler, asitler ve asetaller gibi son ürünün duyu kalitesini etkileyen ürünlerdir ve konsantrasyonları birkaç ng/L seviyesinden, yüzlerce mg/L seviyesine kadar geniş bir aralıkta olabilmektedir (Duarte vd., 2010). Bu nedenle şarap, etanol eklenmiş meyve suyundan çok uzak bir içecektir (Jagtap & Bapat, 2015).

Meyve seçimi, şarap üretiminde çok önemli bir aşamadır (Matei, 2017a). Meyvenin doğal olarak yüksek şeker ve düşük asit içeriğine sahip olması şarap üretimi için avantaj sağlamaktadır (Matei, 2017b). İhtiyaç halinde meyveye çeşitli ayarlamalar yapılmalıdır. Genel olarak biraz olgunlaşmış meyve olması daha iyi kabul edilmektedir.

Meyvelerin çok erken hasat edilmesi durumunda şarapların karakteristik özellikleri eksik olmaktadır (Matei, 2017a).

Üzüm şarabı ve meyve şarabı üretim yöntemleri birbirlerine benzemektedir (Velic vd., 2018). Üzüm haricindeki meyvelerden şarap üretimi üzüm şaraplarına göre daha problemlidir; ancak bu zorlukların varlığı bilim insanları ve şarap üreticileri tarafından kabul edilmiş ve çözüm yolları araştırılmıştır. Üzüm haricindeki meyvelerden şarap üretimi genellikle ilgili meyve için şarap üreticisinin şarapçılık bilgisine ve kullanılan ham maddenin özelliklerine bağlıdır (Joshi, Panesar, Rana, vd., 2017).

Meyve şarabı üretiminin ana problemlerinin başında bazı meyvelerin özünden şeker ve diğer çözünebilir maddeleri ekstrakte etmenin zorluğu, ikinci olarak da çoğu meyveden elde edilen meyve sularının, üzüm suyuna kıyasla yüksek asit ve düşük şeker içeriğine sahip olması veya alkol fermentasyonu için gerekli olan azottan yoksun olması gelmektedir (Joshi, Panesar, Rana, vd., 2017)

Dengeli bir sıra elde etmek şarapçılıkta çok önemli bir aşamadır. Hemen hemen bütün meyveler, meyvelerin suları ve ekstraktları az miktarda şeker içermektedir. Ancak sofr şarabı üretimi yapmak için şeker miktarının ayarlanması gerekmektedir. Bununla birlikte, şeker miktarı uygun olsa bile yüksek asitliğin olması durumunda sırada seyreltme yapılması gerekmektedir (Joshi, Panesar, Rana, vd., 2017). Fermentasyon öncesi başlangıç şeker miktarının en az 19 °Brix (Suda çözünür kuru madde derecesi), pH'nın 3.0 – 3.75 ve asitliğin tannik asit cinsinden 5.0 – 8.0 g/L aralığında olması tavsiye edilmektedir (Matei, 2017a). Fermentasyon öncesinde yoğun pektini parçalamak amacıyla pektik enzimler eklenebilmektedir. Bu işlem fermentasyon bittiğinde şarabın durulmasına da yardımcı olmaktadır. Meyve şarabı olacak şıranın şeker oranı, pH'sı ve asitliği uygun değilse fermentasyon öncesinde gerekli ayarlamalar yapılmalıdır. Fermentasyonun tamamlanmasının ardından yapılacak işlemler ise klasik üzüm şarabı üretim prosesiyle oldukça benzerlik göstermektedir (Matei, 2017a).

1.3. Yüksek hidrostatik basınç (YHB) teknolojisi

Geleneksel şarap üretiminde kükürt dioksit (SO₂) ve ısıl işlem uygulaması, mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmek için kullanılan yöntemlerdendir (Wang, Hu, Wang, Liao, & Zhang, 2022). Kükürt dioksit, şarap gibi düşük pH'a sahip gıdalarda

etkinliği kanıtlanmış, kullanımı çok eskilere dayanan en etkili koruyuculardan biridir (Christofi, Malliaris, Katsaros, Panagou, & Kallithraka, 2020). Mikroorganizmaların gelişmesini inhibe edebilen geniş spektrumlu antimikrobiyal bir ajan olan kükürt dioksit aynı zamanda antioksidan özelliğe de sahiptir. Kükürt dioksit mikroorganizmaların hücre zarından girerek protein ve enzimlerinin aktivitesini bozmakta ve bu sayede gelişmelerini engellemektedir. Enzimlerin inaktivasyonunu, Maillard reaksiyonlarının inhibisyonunu sağlaması ve fenolik polimerizasyon hızını azaltması sayesinde şarapların esmerleşmesini ve renk kaybını önlemektedir (Christofi vd., 2020). Ancak kükürt dioksit, bazı tüketiciler için, baş ve karın ağrısı (Wang vd., 2022), alerjik reaksiyonlar gibi insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sebep olabilmektedir (Christofi vd., 2020). Bu durum gıda endüstrisini alternatif işleme yöntemlerini araştırmaya yönlendirmektedir. Durultma ve filtrasyon gibi teknikler mikrobiyal gelişimi kontrol etmek için etkili tekniklerdir ancak bu teknikler şarabın duyuşsal özellikleri üzerinde olumsuz etki göstermektedir (Buzrul, 2012). Uzun süreli yüksek sıcaklıkta ısıt işlemlerinin uygulamaları ise, ürün kalitesi üzerinde olumsuz etkiye sahiptir ve besin öğelerinin ve biyoaktif bileşenlerin kaybına sebep olmaktadır (Wang vd., 2022). Yüksek hidrostatik basınç teknolojisi (YHB) ise, bu alternatif teknolojiler arasındaki popüler teknolojilerden biridir (Buzrul, 2012).

YHB teknolojisi basitçe, işlenecek ürünün, uygun bir esnek ve geçirimsiz ambalaj materyali ile paketlenen sonra, bir hazne içerisinde bulunan sıvıya daldırılarak birkaç yüz mega paskal (MPa) yüksek basınca maruz bırakıldığı ve basınçlama işleminin genellikle oda sıcaklığında gerçekleştiği ısıt olmayan bir gıda muhafaza teknolojisidir. Ürün, yüksek basınca dayanıklı bir malzemeye paketlenmekte ve belirli bir süre yüksek basınç altında tutulmaktadır (Aganovic vd., 2021). İşlemin tamamlanmasıyla basınç yavaşça düşürülmekte ve ürün haznedan çıkarılmaktadır (Balasubramaniam vd., 2015). Yüksek basınç uygulaması 100 – 1000 MPa basınçta gerçekleştirilmektedir ancak araştırmacılar genellikle 100 – 800 MPa basınç ve 20 – 60 °C sıcaklıklar üzerinde durmuşlardır (Aganovic vd., 2021).

YHB teknolojisi, bakteri, maya ve küf popülasyonlarında önemli azalmalar sağlayabilen ve gıdaların muhafaza süresinin uzamasına yardımcı olabilen bir teknolojidir (Jadhav, Annapure, & Deshmukh, 2021). Bu teknolojinin mikroorganizmaların üzerinde ne derece etki göstereceği, uygulamanın yapıldığı basınca, basınçlama süresine, sıcaklığa, gıdanın kompozisyonuna ve mikroorganizmaya ait

faktörlere bağlıdır (Jadhav vd., 2021). Mikroorganizmanın çeşidi (bakteri, maya, küf), formu (vejetatif hücre veya spor) ve büyüme evresi mikroorganizmaların basınca dayanımını etkilediği gibi, aynı tür içindeki farklı suşların da basınca dayanımı farklı olabilmektedir (Daryaei, Yousef, & Balasubramaniam, 2016). Mikroorganizmaların YHB'ye ve ısıtma işleme gösterdiği direnç birçok yönden benzerlik göstermektedir. Gram-Pozitif bakteriler Gram-Negatif bakterilere, sporlar vejetatif hücrelere göre hem ısıtma işleme hem de basıncın yarattığı strese genellikle daha dirençlidirler. Bununla birlikte, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* gibi düşük ısıtma dirence sahip olduğu bilinen bazı bakterilerin suşlarının yüksek basınca aşırı direnç gösterdiği bilinmektedir (Daryaei vd., 2016).

Yüksek basınçla işleme teknolojisinin gıdada bulunan mayaları, küfleri inaktive etme yeteneği 1894 yılında Bert Hite tarafından ortaya konmuş ancak bu teknolojinin yararları 1924 yılında yayınladığı '*Commercial Fruit And Vegetable Products (Ticari Meyve ve Sebze Ürünleri)*' kitabında atıf alana kadar istediği dikkati çekememiştir. Sonraki yıllarda yüksek basıncın mikroplar, nişastalar, enzim ve enzim aktivitesini de kapsayan çeşitli proteinler üzerindeki etkilerini açıklayan çok sayıda makale yayınlanmıştır. Gelişen teknoloji ile birlikte YHB ekipmanlarının üretimi kolaylaşmış ve gıda muhafazası için ilk ticari uygulamalar 1980'lerin sonunda yoğurt ve çilek reçeli gibi ürünlerde gerçekleştirilebilmiştir (Farkas, 2016).

İçecekler, et ürünleri, meyve suları ve su ürünleri günümüzde yüksek basınç teknolojisi uygulanan başlıca gıda ürünleridir. 2019 yılında gıda işleme amacıyla %59'u kuzey Amerika'da, %24'ü Avrupa'da ve %18'i Asya'da olmak üzere dünyada 550'den fazla ticari yüksek basınç makinesi kullanılmıştır. Bu, küresel ölçekte yıllık yaklaşık 130 bin litre ve 1,5 milyon tondan fazla gıdanın işlenmesine karşılık gelmektedir (Aganovic vd., 2021).

Isıtma işleme veya ısıtma olmayan diğer alternatif teknolojilerle karşılaştırıldığında YHB teknolojisi kısmen pahalı bir teknoloji olarak kabul edilmektedir. İşlem maliyeti, yüksek basınç haznesinin büyüklüğüne, doluluk oranına ve işlem koşullarına (basınç ve işlem süresi) bağlı olarak 0.1 – 0.3 EUR/kg'dır. Isıtma işlem (HTST: Yüksek Sıcaklıkta Kısa Süreli Pastörizasyon) maliyetinin yaklaşık 0.005 – 0.01 EUR/kg civarında olduğu

(Aganovic vd., 2021) dikkate alındığında, YHB ile işlemenin nispeten yüksek maliyetli olduğu anlaşılmaktadır.

1.4. Şarap üzerine YHB çalışmaları

YHB'nin şarapların kalite parametreleri ve raf ömrü üzerine etkilerini araştıran birçok çalışma mevcuttur. van Wyk ve Silva (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, Cabernet Sauvignon üzümünden yapılan şarapta YHB ile *Brettanomyces bruxellensis* inaktivasyonu araştırılmıştır. *B. Bruxellensis*, dünya çapında şarap endüstrisi için istenmeyen duyuşal özelliklere yol açan önemli bir bozulma yapan mikroorganizmadır. Bahsi geçen çalışmada 400 ve 600 MPa basınçlarda 5 saniyelik bir YHB uygulaması sonucunda *B. bruxellensis*'in tamamen inaktive olduğunu (6 logdan daha fazla bir azalma) gözlemleyen araştırmacılar, 200 MPa basınçta 15 ve 120 saniye YHB uygulaması ile *B. bruxellensis* sayısında sırasıyla, 1.3 ve 5.7 log azalma kaydetmişlerdir. Bu sonuç, yüksek hidrostatik basıncın *B. bruxellensis* inaktivasyonu üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Tonello, Largeau, DemazeauveLonvaud-Funel (1996) tarafından yapılan bir çalışmaya göre 3 farklı şarap (beyaz, kırmızı, rose) yüksek hidrostatik basınca maruz bırakılmış ve bu şaraplarda bulunan maya, asetik asit bakterileri ve laktik asit bakterilerinin kantitatif olarak inaktivasyonu araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan şaraplarda etanol seviyelerinin (%9, 11, 13, 15 (v/v)) ayarlanması için etil alkol kullanılmıştır. 300 MPa basınçta 6 dakika boyunca oda sıcaklığında YHB uygulanan şaraplarda bütün mayalar elimine olmuştur. Aynı işlem sadece 1 dakika süreyle yapıldığında %9 ve %11 etanol içeren şaraplardaki mayaların inaktivasyonunda kayda değer bir artış gözlemlenmezken, %13 ve %15 etanol içeren şaraplardaki mayaların inaktivasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada sağlığa faydaları ile ön plana çıkan gilaburu meyvesinden şarap elde edilmeye çalışılmış, elde edilen şarabın raf ömrü, kükürt dioksit kullanılmadan YHB kullanılarak artırılmaya çalışılmış, ayrıca şarabın kalitesinin YHB'den ne derece etkilendiği araştırılmıştır. Isıl olmayan bir gıda muhafaza yöntemi olan YHB teknolojisi ile gilaburu şarabında bozulmalara yol açabilecek istenmeyen mikroorganizmalarla patojen mikroorganizmaların, şarabın kalitesinde önemli bir azalmaya meydan vermeden elimine edilmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Hammaddeler

Tez çalışmasında kullanılan gilaburu meyveleri Kayseri ilinin Bünyan ilçesindeki yerel bir üreticiden (38°50'39.3''K 35°50'38.0''D) temin edilmiştir. Gilaburu meyveleri hasattan hemen sonra Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Biyoişlem Laboratuvarı'na getirilmiştir. Meyveler saplarından ayrıldıktan sonra kullanılacakları ana kadar bir derin dondurucuda -18 °C'de muhafaza edilmiştir. Alkol fermantasyonunu gerçekleştirmek amacıyla, yerel bir şarap üreticisinden temin edilen (Öktem Bağcılık ve Şarapçılık, Havsa, Edirne) *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces bayanus* karışımı ticari bir maya kültürü kullanılmıştır.

2.1.2. Kimyasallar

Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasallar şu şekildedir;

Bakır sülfat (Merck, Almanya), çinkosülfat (Merck, Almanya), DRBC Agar (Merck, Almanya), etil alkol %99 saflıkta (Merck, Almanya), fenolftalein (Merck, Almanya), folin ciocalteu (Sigma Aldrich, ABD), gallik asit (Sigma Aldrich, ABD), hidroklorik asit (HCL Derişik %37) (Merck, Almanya), metilen mavisi (Merck, Almanya), okzalik asit (Merck, Almanya), potasyum di hidrojen fosfat (Carlo Erba, Almanya), di-Sodyum hidrojen fosfat (Tekkim, Türkiye), pH Buffer solution (Carlo Erba, Almanya), potasyum ferrosiyenid (K₄[Fe(CN)₆] 3H₂O) (Sigma Aldrich, ABD), PCA Agar (Merck, Almanya), potasyum klorür (Sigma Aldrich, ABD), potasyum tartarat

(Merck, Almanya), sodyum hidroksit (NaOH) (Merck, Almanya), sodyum karbonat (Sigma Aldrich, ABD), sodyum klorür (Sigma Aldrich, ABD).

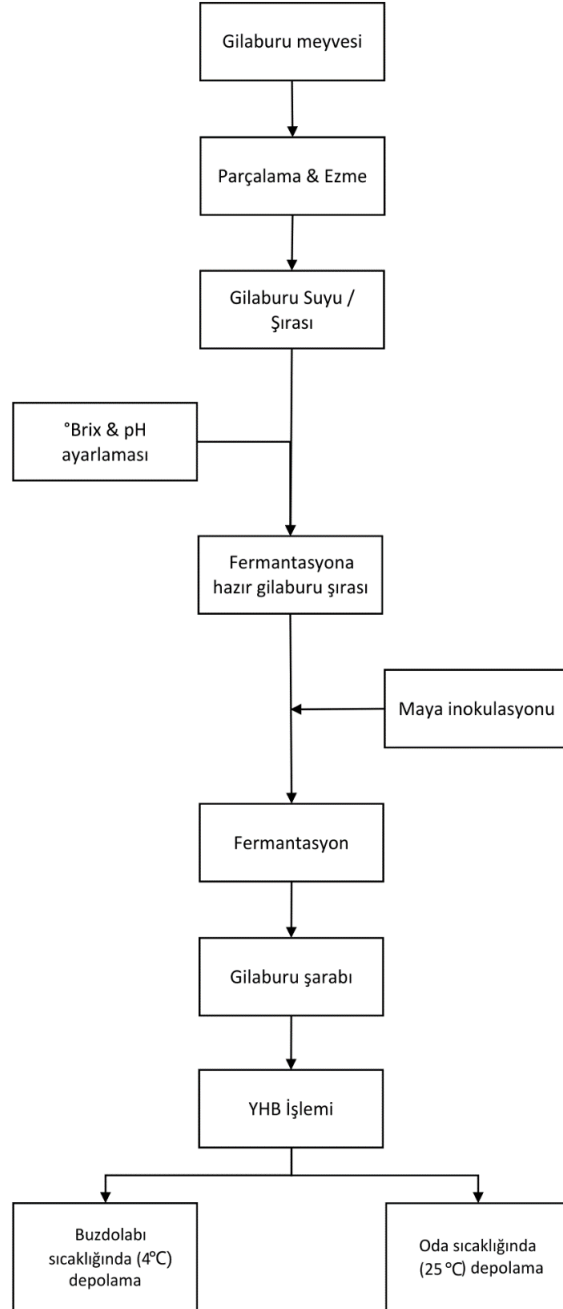
2.2. Metot

2.2.1. Gilaburu meyvesinden şarap üretimi

Şarap üretimleri Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Biyoişlem Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Gilaburu meyvesinden şarap üretimi için Matei (2017a) tarafından uygulanan yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Gilaburu meyvesinden şarap eldesi için yapılan işlemler genel hatlarıyla Şekil 2.1'de verilmiştir. Dondurulmuş olan gilaburu meyveleri buzdolabında (4°C) çözündürüldükten sonra aseptik koşullar altında çekirdekleri parçalanmadan ezilmiş, bir kaba süzgeç yardımıyla, bek alevi altında 1 litre hacimdeki steril cam şişelere süzölmüş ve böylece şıra elde edilmiştir. Elde edilen şıra 15 mL hacimdeki steril santrifüj tüplerinde bir santrifüj (Sigma 3-30K, Almanya) yardımıyla 7000 G kuvvetinde 10 dakika süreyle santrifüj edilerek tortularından ayrılmıştır.

Fermantasyon başlatılmadan önce şıraya çeşitli ayarlamalar yapılmıştır. Şıranın suda çözönen kuru madde değeri şeker ilave edilerek bir refraktometre (Isolab – Dijital Refraktometre, Almanya) yardımıyla 23 °Brix'e ayarlanmıştır. Ardından 4N NaOH çözeltisi ile şıranın pH'sı 3,5'e ayarlanmıştır. Daha sonra şıraya %1 maya (*Saccharomyces cerevisiae* & *Saccharmyces bayanus*) inoküle edilmiş ve fermantasyonun gerçekleştirileceğı şişelerin doluluk seviyesi %70 olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan şişeler çalkalamalı bir inkübatörde (Shin Saeng, SKIR-601L, Güney Kore) 2 saat süreyle çalkalandıktan (130 rpm, 25°C sıcaklık) sonra, 25°C'ye ayarlı statik bir inkübatöre (Memmert IN110, Almanya) alınarak fermantasyona bırakılmıştır. Şişelerin kapağına iki adet hortum monte edilmiş ve bu hortumlardan birinin ucu dışarıda bulunan bir su kabının içerisine daldırılarak fermantasyon sırasında oluşan gazların kontrollü çıkışı sağlanmıştır (Şekil 2.2). İkinci bir hortum fermantasyon boyunca yapılacak olan analizler için örnek almak amacıyla şişe kapağına monte edilmiştir. Bu hortumun bir ucu şıranın içerisine kalacak şekilde konumlandırılmış, diğör ucu (dışarıdaki uç) bir kısıkaç ile kapatılmıştır. Örnek alma sırasında hortumun ucuna steril bir şırınga takılarak kısıkaç yerinden çıkarılmış ve örnekler şırınga yardımıyla alınmıştır. Bu

şekilde dışarıdan içeriye hava girişi engellenmiştir. Alkol fermentasyonu boyunca pH, °Brix ve toplam asit miktarındaki değişiklikler izlenmiş ve bu verilerin yatay bir seyir izlemesiyle birlikte şişelerden gaz çıkışının da durduğu gözlemlendiğinde, fermentasyonun tamamlandığı anlaşılmıştır. Fermentasyonu tamamlanan şaraplar basınçlama işlemi için 4 °C sıcaklıktaki buzdolabında soğumaya bırakılmıştır.



Şekil 2.1. Gilaburu meyvesinden şarap üretimi, YHB işlemi ve depolama aşamalarını gösteren akım şeması.



Şekil 2.2. Gilaburu meyvesinden şarap üretimi fermantasyon düzeneği

2.2.2. YHB İşlemi

Fermantasyonun tamamlanmasıyla elde edilen şaraplar yüksek hidrostatik basınç işlemine tabi tutularak maya ve küflerin inaktive edildiği optimum koşullar (minimum basınç ve süre kombinasyonu) araştırılmıştır. Daha sonra optimum koşullarda basınçlanan şaraplar raf ömrü denemelerine alınmıştır. Bu amaçla hiç işlem (basınç) görmemiş kontrol örnekleri ve YHB'ye maruz bırakılmış örnekler 4°C buzdolabı ve 25 °C oda sıcaklığında 40 gün süreyle depolanmıştır.

Basınçlama denemeleri için 50 mm iç çap ve 0.7 L çalışma hacminde bir basınçlama haznesine sahip olan yüksek basınç cihazı (MSE-CIP-WB-5500, MSE Teknoloji Ltd., Gebze, Türkiye) kullanılmıştır. Sistemdeki basınç aktarımı %5 (v/v) oranında kesme sıvısı (Tess-San, İstanbul) katılmış saf su ile sağlanmıştır. Basınç çemberi ve içerisindeki sıvının sıcaklığı ise soğutucu sirkülatöre (Model RE1050S, Lauda Dr. R. Wobser GmbH ve Co.KG., Almanya) bağlı, basınç kabını çevreleyen bobinler ile

sağlanmıştır (Bulut, 2014). Basınçlanma çemberinin sıcaklığı basınçlama işleminden önce soğutucu sirkülator yardımıyla $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ getirilmiş ve basınç çemberi kapağında bulunan ısı çifti (thermocouple) aracılığıyla gözlemlenmiştir (Sevinir, 2018)

YHB işlemi için $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki buzdolabından çıkartılan şaraplar önceden steril stomacher torbalarından bir ısı yapıştırıcı kullanılarak hazırlanmış küçük plastik torbalara hava kabarcıkları kalmayacak şekilde yine ısı yapıştırıcı kullanılarak paketlenmiştir. Bu şekilde hazırlanan örnekler uygun boyuttaki plastik filmlere (Poliamid / Polietilen, Saran Plastik Ltd., Düzce, Türkiye) konarak ikinci kez bir vakum paketleme makinası (model MV – 20 Lipovak Ltd. Gebze, Türkiye) kullanılarak paketlenmiştir. Paketlenen örnekler basınç çemberine yerleştirildikten sonra basınç istenilen seviyeye yaklaşık olarak 6 MPa/s hızla yükseltilmiştir. İstenilen basınç düzeyinde 3 dk süreyle basınçlama işlemi uygulandıktan sonra basınç boşaltma vanası açılarak basınç aşamalı olarak (yaklaşık 10 s içerisinde) düşürülmüştür.

Basınçlanan örnekler test ve analizlerde kullanılmış veya raf ömrü denemeleri için aseptik şartlar altında 15 mL’lik steril santrifüj tüplerine yaklaşık 0,5 cm tepe boşluğu kalacak şekilde doldurulmuş ve raf ömrü boyunca bu tüplerde tutulmuştur (Şekil 2.3).

Ön denemelere dayanarak yürütülen basınçlama çalışmalarında basınçlama süresi 3 dk ve basınçlama sıcaklığı (basınçlama çemberi başlangıç sıcaklığı) $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ olarak sabit tutulmuştur.



Şekil 2.3. Gilaburu şarabı örneklerinin depolanması; a) Buzdolabı sıcaklığında ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$), b) Oda sıcaklığında ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) depolama

2.2.3. Titrasyon asitliği miktarının belirlenmesi

Gilaburu meyvelerinin toplam asitliğini belirlemek için potansiyometrik titrasyon yöntemi kullanılmıştır (Zoecklein, Fugelsang, Gump, & Nury, 1999). Şaraplar için, analiz yapılmadan önce bünyelerinde bulunan karbondioksit gazı uçurulmuş ardından analiz yapılmıştır. Titrasyon sonrası hesaplama Eşitlik 2.1'e göre yapılmıştır. Sonuçlar % malik asit olarak ifade edilmiştir.

$$\% \text{Titrasyon asitliği} = \frac{V \times F \times N \times E}{W} \times 100 \quad (2.1)$$

V: Harcanan sodyum hidroksit (NaOH) miktarı (mL)

F: Kullanılan sodyum hidroksitin faktör değeri

N: Kullanılan sodyum hidroksitin normalitesi

E: İlgili asidin miliekivalan ağırlığı (Malik asit için 0,067)

W: Örnek miktarı (mL)

2.2.4. pH değerlerinin belirlenmesi

Tampon çözeltiler ile kalibre edilmiş bir pH metre (Mettler Toledo Seven Compact pH/Ion S220, İsviçre) kullanılarak 25 °C oda sıcaklığında ölçümler gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2011b). Şaraplarda bu işlem bünyelerinde bulunan karbondioksit gazı (CO₂) uçurulduktan sonra yapılmıştır.

2.2.5. Suda çözünür kuru madde miktarının belirlenmesi

Suda çözünür kuru madde miktarı dijital refraktometre kullanılarak 25 °C oda sıcaklığında belirlenmiş ve sonuçlar °Brix olarak ifade edilmiştir. Şarap örnekleri ile çalışılırken CO₂ uçurulduktan sonra suda çözünür kuru madde tayini yapılmıştır.

2.2.6. Toplam indirgen şeker miktarının belirlenmesi

İndirgen şeker miktarı Lane – Eynon metoduna göre yapılmıştır (Akgün, A., Damar, İ., Yılmaz, E., & Çınar, K., 2017). Bu amaçla gilaburu örnekleri parçalanıp elde edilen meyve suyu kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Bir balon jojeye (250 mL)

süzüntüden 10 mL alınmış ve balon joje yarısına kadar saf su ile doldurulduktan sonra üzerine 5 mL Carrez 1 ve 5 mL Carrez 2 çözeltisi eklenmiştir. Ardından balon joje saf su ile menisküs çizgisine tamamlanmıştır. Örneğin durulması için 25 – 30 dakika beklendikten sonra kaba filtre kağıdından süzülerek elde edilen berrak filtrattan 50 mL başka bir balon jojeye (100 mL) aktarılmış ve üzerine 5 mL derişik (%37'lik) hidroklorik asit (HCl) eklenmiştir. Balon jojenin kapağı kapatılmış, 5 dakika 65 °C sıcaklıktaki su banyosunda (Memmert WNB-14, Almanya) bekletilmiştir. Çözelti soğutulmuş ardından fenolftalein indikatörü ve 5N NaOH ile pembe renk gözlemleninceye kadar nötrleme işlemi yapılmış ardından balon joje menisküs çizgisine kadar (100 mL) saf su ile tamamlanmıştır. Çözelti bürete doldurulmuştur. Bir erlene 5 mL Fehling – A ve 5 mL Fehling – B eklenmiş ısıtıcı tabla üzerinde elde edilen filtrat ile titrasyon yapılmıştır. Tayin iki paralel olarak yapılmış, harcanan filtrat miktarından hesaplama yapılmış (Eşitlik 2.2.) sonuçlar %İndirgen şeker olarak verilmiştir. Kullanılan çözeltiler:

Carrez 1: 15 g potasyum ferrosiyaniid saf suda çözülmüş ve 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Carrez 2: 30 g çinkosülfat saf suda çözülmüş ve 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Fehling A: 34.64 g bakır sülfat penta hidrat saf suda çözülmüş, ardından 500 mL'ye tamamlanmıştır. Kaba filtre kağıdından süzdükten sonra koyu renkli amber şişeye aktarılmıştır.

Fehling B: 173 g senyet tuzu saf suda çözülmüş, üzerine biraz saf suda çözülmüş 50 g sodyum hidroksit (NaOH) eklenmiştir. Daha sonra çözelti saf su ile 500 mL'ye tamamlanmış ve iki gün bekletildikten sonra kaba filtre kağıdından koyu renkli amber şişeye süzölmüştür.

Fenolfitaleyn: %70'lik etil alkol ile %1 (w/v) olarak hazırlanmıştır.

Metilen mavisi: Saf su ile %1'lik çözelti olarak hazırlanmıştır.

$$\%İndirgen \text{ şeker} = \frac{DxFx100}{V} \quad (2.2)$$

F: Kullanılan standart invert şeker çözeltisinin faktör değeri

D: Örneğin seyrelme derecesi (Bu yöntem için 50)

V: Harcanan filtrat miktarı (mL)

2.2.7. Renk değerlerinin belirlenmesi

Bir renk ölçüm cihazı (Konika Minolta model CM-5, Osaka, Japan) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler kuartz küvetler kullanılarak her bir örnek için üç kez tekrarlanarak gerçekleştirilmiştir. CIE L* (parlaklık), a* (kırmızılık) ve b* (sarılık) her örnek üzerinde üç kez ölçülmüş ve üç okumanın ortalaması kaydedilmiştir. Renk koordinatları CIE-LAB sistemindeki Parlaklık (L*), kırmızılık (a*) ve sarılık (b*) olarak gösterilmiştir. Toplam renk farklılığı (ΔE) aşağıdaki bağıntı (Eşitlik 2.3.) kullanılarak hesaplanmıştır (Jung vd. 2003). Araştırmalar işlem görmemiş kontrol örnekleriyle karşılaştırmalı olarak yürütülmüş ve ΔE hesaplanması için raf ömrü başlangıcındaki basınçlanmamış örneklerin renk değerleri kontrol örneği olarak kullanılmıştır.

$$\Delta E = [(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0)^2 + (b^* - b_0)^2]^{\frac{1}{2}} \quad (2.3)$$

2.2.8. Alkol tayini

Şarap örneklerinin hacmen alkol miktarını belirlemek amacıyla dijital ebülyometre (BULTEH 2000 Digital Ebulliometer, Bulgaristan) cihazı kullanılmıştır. Ölçüm öncesi cihaz saf suya karşı sıfırlanmış daha sonra örnek ölçümleri dijital olarak gerçekleştirilmiştir (Zoecklein vd., 1999). Sonuçlar %Hacim alkol olarak ifade edilmiştir.

2.2.9. Mikrobiyolojik yükün belirlenmesi

Şaraplarda bulunan mikroorganizma sayısını belirlemek için damlatma yöntemi kullanılmıştır. Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS / Phosphate buffered saline) ile örneğin seri dilüsyonları hazırlanmış ve petrilere 3 paralel olacak şekilde ekim yapılmıştır. Toplam aerobik mikroorganizma sayısını belirlemek için Plate Count Agar (Merck, Almanya) kullanılmış ve hazırlanan petrilere 37°C sıcaklıkta 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Toplam maya-küf sayısını belirlemek için ise Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Merck, Almanya) kullanılmış ve 25°C sıcaklıkta 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar kob (koloni oluşturan birim) /mL olarak ifade edilmiştir (Regecová vd. 2012).

2.2.10. Gilaburu şarabının toplam fenolik madde miktarı

Toplam fenolik madde miktarı, şaraplar için modifiye edilmiş bir Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir (Büyüktuncel, Porgalı, & Çolak, 2014). Bu spektroskopik yöntem için gerekli olan kalibrasyon eğrisini oluşturmak amacıyla saf suyla 50, 100, 150, 200 ve 250 ppm’lik gallik asit çözeltileri hazırlanmıştır. Deney tüplerine, kalibrasyon eğrisi için 0,1 mL gallik asit çözeltilerinden, şarap için ise %13’lük etanol (v/v) ile 20 kat seyreltilmiş 0,1 mL örnek konmuştur. Ardından 2 mL %2’lik (w/v) sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. İki dakika sonra 1:1 oranında saf suyla seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiştir. Tüpler 30 dakika bekletildikten sonra 750 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800 Spectrophotometer, Japonya) ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar çizilen kalibrasyon eğirisinden yararlanılarak (Ek 1, 2, 3) mg gallik asit eşdeğeri / L olarak ifade edilmiştir.

2.2.11. Gilaburu şarabının duyuşal kalitesi

Gilaburu şarabının duyuşal kalitesini belirlemek amacıyla 6 eğitimli paneliste renk, berraklık, koku-aroma, asitlik-ekşilik, alkol sertliği, tat ve genel izlenim olmak üzere farklı kalite kriterlerinde, en düşük 1, en yüksek 9 puan olacak şekilde puanlama testi yapılmıştır. Şaraplar panelistlere her tadım arasında ağız tadını nötrlemeleri amacıyla su ile ve rastgele seçilmiş üç basamaklı kodlarla sunulmuştur. Duyuşal analiz formu Ek 4’te verilmiştir.

2.2.12. İstatistiksel Analiz

Örneklerin istatistiksel değerdendirmesi IBM SPSS 27 (IBM, Amerika Birleşik Devletleri) programı kullanılarak yapılmıştır. Tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA), homojen dağılmış örnekler için Tukey, homojen dağılmamış örnekler için ise Tamhane kullanılarak yapılmıştır. Örnekler %95 güven sınırları içerisinde ($p < 0,05$) istatistiki değerdendirmeye alınmıştır.

BÖLÜM 3

BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Gilaburu suyunun fizikokimyasal özellikleri

Gilaburu suyunun titrasyon asitliği (TA), pH, Brix ve renk değerleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Gilaburu suyunun bazı fizikokimyasal ve fiziksel özellikleri

Gilaburu suyu	
Titrasyon asitliği (%)	1,61 ± 0,04
pH	2,87 ± 0,01
°Brix	10,2 ± 0,00
İndirgen şeker (%)	6,62 ± 0,08
L*	43,99 ± 0,01
a*	70,30 ± 0,01
b*	65,59 ± 0,09

Malik asit, gilaburu meyvesinin temel organik asidi olduğundan bu çalışmada titrasyon asitliği malik asit cinsinden ifade edilmiştir. Bir yüksek lisans tezinde (Çam, 2005) gilaburu suyunun toplam asitlik değeri malik asit cinsinden %1,58 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada (Akbulut, Calisir, Marakoğlu, & Coklar, 2008) Kayseri ilinin Gömeç Mahallesi’nden alınan gilaburu örneklerinin toplam asitlik değeri sitrik asit cinsinden $1,79 \pm 0,12$ olarak belirtilmiştir. Sonuçların birbirine oldukça yakın olduğu

görülmektedir. Sonuçlar arasında farkların gilaburuların farklı coğrafi alanlarda yetiştirilmesi ve iklim koşullarından doğan farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kayseri ili civarındaki 9 farklı bölgeden Ekim ve Kasım aylarında hasat edilen gilaburu sularına ait pH değerlerinin incelendiği bir yüksek lisans çalışmasında (Yapar, 2008) elde edilen sonuçlara göre, gilaburu sularının pH değerleri sırasıyla, Güneşli bölgesi 3.08 ± 0.00 ; Gesi 3.32 ± 0.00 ; Bünyan 3.40 ± 0.00 ; Yahyalı 3.27 ± 0.00 ; Sarıoğlan 3.44 ± 0.00 ; Develi 3.40 ± 0.00 ; Yeni Çubuk 3.27 ± 0.00 ; Akkaya 3.38 ± 0.00 ; Hisarcık 3.10 ± 0.00 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada 3 farklı bölgeden (Akkışla, Uluşag ve Kesdoğan) alınan gilaburu örneklerinin pH'ları sırasıyla 3.53 ± 0.04 ; 3.97 ± 0.04 ; 3.94 ± 0.04 olarak bulunmuştur (Polat, Mertoglu, & Eskimez, 2021). Bir diğer çalışmada ise taze gilaburu meyvesinin pH değeri 3.61 ± 0.005 olarak ölçülmüştür (Dal & Karacabey, 2021)

Sonuçlar birbirinden az çok farklılıklar göstermekle birlikte gilaburunun asidik karakterini ortaya koymaktadır. Değişkenliğin, yıl boyunca bölgelerin coğrafi farklılığından kaynaklanan iklimsel farklılıklardan, yetiştirilme esnasında meydana gelen farklardan, meyvenin hasat zamanından ve olgunluk düzeyinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Alkol fermentasyonunda rol oynayan mikroorganizmaların gelişiminin teşvik edilmesi için pH değerinin ayarlanması kritik öneme sahiptir ve fermentasyon öncesinde pH değerinin 3,2 ile 3,8 arasında olması tavsiye edilmektedir (Matei, 2017a). Bu sebeple daha önce de belirtildiği üzere, elde edilen şıranın pH değeri fermentasyon öncesi 3,5'e ayarlanmıştır.

Gilaburuların reolojik davranışlarının araştırıldığı bir çalışmada (Altan, Kuş, & Kaya, 2005) gilaburu suyunun suda çözünür kuru madde miktarı 8,5 °Brix olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise (Ozkan vd., 2021) gilaburu püresinin 20 °C sıcaklıkta toplam çözünür kuru madde miktarı $\%9.00 \pm 0.001$ olarak ölçülmüştür. Bu çalışmada $\%10.2$ olarak ölçülen toplam suda çözünür kuru madde miktarı literatür değerleriyle karşılaştırıldığında nispeten yüksek olmakla beraber, elde edilen farklılığın meyvenin olgunluk düzeyi ve iklimsel değişkenlerle açıklanabileceği düşünülmektedir.

Sofra şarabı üretimi için şıranın fermantasyon öncesi °Brix değerinin en az 19 olması tavsiye edilmektedir (Matei, 2017a). Gilaburu suyunun °Brix miktarının doğrudan şarap üretiminde için yeterli olmadığı ve fermantasyon öncesi çözünür kuru madde miktarının ayarlanması gerektiği anlaşılmaktadır.

Gilaburu meyvesinin kimyasal ve teknolojik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada indirgen şeker miktarı $6,34 \pm 0,36$ olarak bulunmuştur (Akbulut vd., 2008). Bir derleme makalede ise taze gilaburu meyvelerine yapılan araştırmalarda toplam indirgen şeker miktarının %4,02 ile %8,80 arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Kajszczak vd., 2020). Türk Patent ve Marka Kurumu'na göre coğrafi işarete sahip Bünyan gilaburusu %5,70 ile %5,90 arasında değişen indirgen şeker miktarına sahiptir (Anonim, 2018). Değerler gilaburu örneklerinin değişen oranlarda toplam indirgen şeker miktarına sahip olduğunu göstermektedir. İndirgen şeker miktarında meydana gelmiş olan farklılıkların coğrafi farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

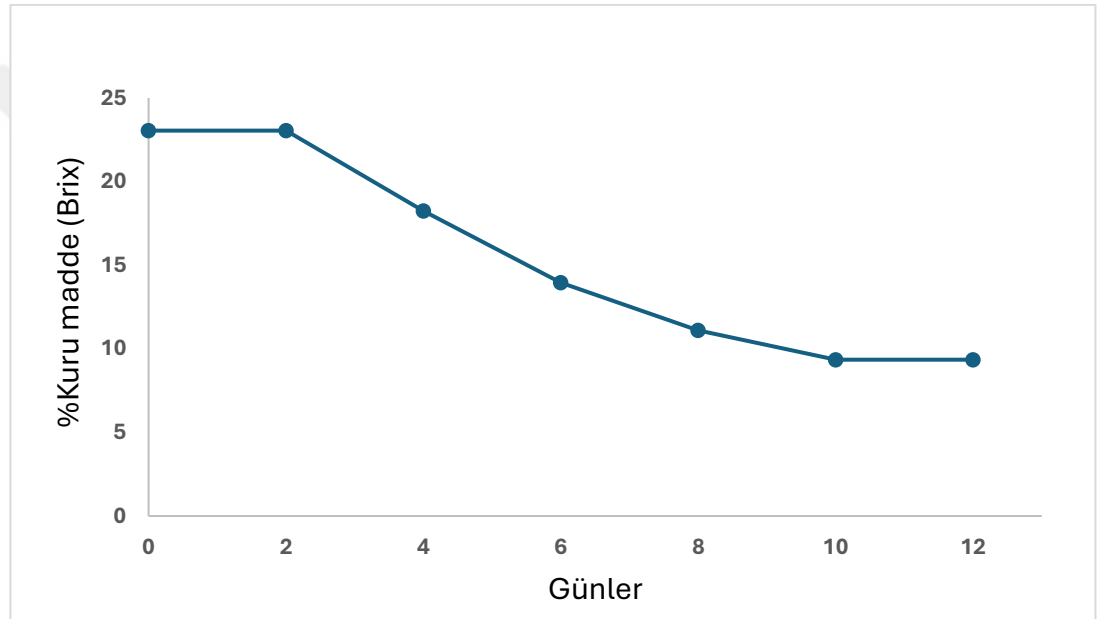
°Brix ve indirgen şeker tayinlerinden elde edilen sonuçlardan, gilaburu meyvelerinin şarap ürününü elde etmek için yeterli alkol miktarını sağlayabilecek şeker potansiyeline sahip olmadığı sonucuna ulaşılmaktadır. Bu nedenle Bölüm 2.2.2.'de açıklandığı üzere fermantasyon öncesinde şıraya sofra şekeri ilave edilerek °Brix değeri 24'e ayarlanmıştır.

3.2. Alkol fermantasyonu boyunca gözlemlenen değişimler

3.2.1. Alkol fermantasyonu boyunca °Brix değişimi

Suda çözünür kuru madde miktarı fermantasyon boyunca düzenli olarak izlenmiştir (Şekil 3.1). Alkol fermantasyonu, suda çözünür kuru madde miktarı $23,05 \pm 0,05$ °Brix olarak başlatılmıştır. Fermantasyonun ikinci gününe kadar bu değerde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. İkinci günün ardından hızlı bir şekilde düşüş göstermiş, 10. günde °Brix $9,35 \pm 0,05$ olarak ölçülmüş ve devam eden günlerde stabil kalmıştır. Şarapçılıkta °Brix, şeker miktarının bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır ve genellikle meyve şarabı fermantasyonlarında °Brix değeri 8 civarında seyrettiğinde fermantasyon tamamlanmaktadır (Joshi, Panesar, Rana, vd., 2017). Bu çalışmada, fermantasyonun 10. gününde şişelerden herhangi bir gaz çıkışı da gözlemlenmediğinden, 12. Günde fermantasyon sonlandırılmıştır.

Literatürde gilaburu meyvesinden şarap üretimi ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmadığından farklı meyvelerden üretilen şarapların alkol fermantasyonlarında meydana gelen değişimler referans alınmıştır. Farklı maya türleri kullanılarak üretilen ejder meyvesi şarabının fizikokimyasal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada (Jiang, Lu, & Liu, 2020) fermantasyon öncesi °Brix değeri şeker ilave edilerek $20,33 \pm 0,30$ olarak ayarlanmış, ilk iki gün sabit kalan °Brix değeri daha sonraları hızlı bir şekilde düşmeye başlamıştır. Fermantasyon üç farklı maya türü için 8-10 gün arasında tamamlanmış ve fermantasyon sonunda şaraplardaki °Brix değerleri 8,3 – 8,9 arasında birbirlerine oldukça yakın değerler göstermiştir.



Şekil 3.1. Fermantasyon boyunca suda çözünür kuru madde değişimi

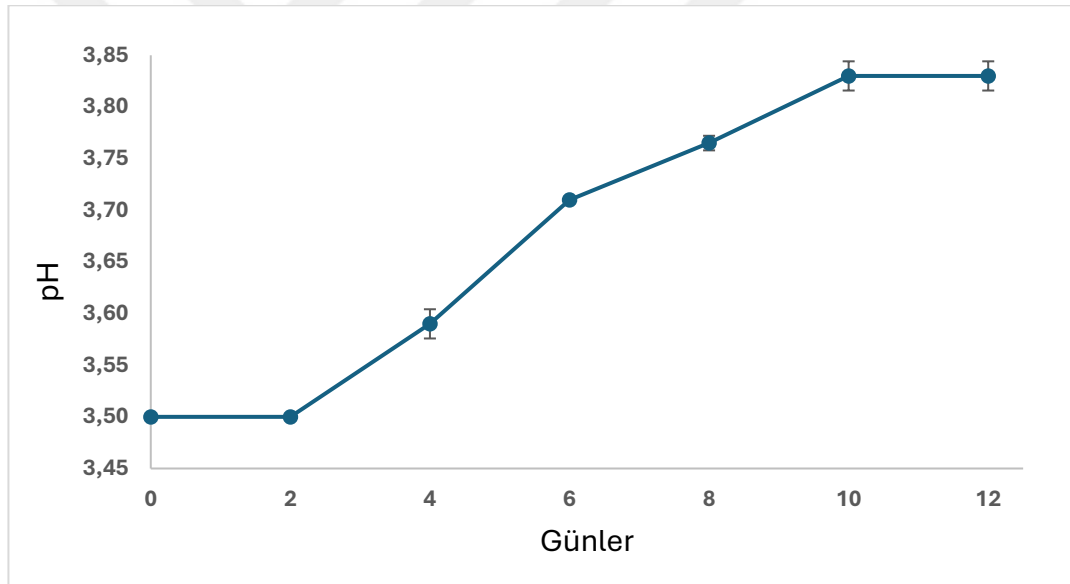
Bir diğer çalışmada (Kasemsumran vd., 2022) ise ananas suyunun suda çözünür kuru madde değeri şarap üretmek amacıyla fermantasyon öncesinde 23,7 °Brix'e ayarlanmış, fermantasyonun ilk gününde °Brix sabit kalmış, 1. günden sonra hızlı bir şekilde azalmaya başlamıştır. Fermantasyonun 7. gününden itibaren değişimin çok sınırlandığı, 10. günde ise °Brix'in 10,25'e ulaşarak sabitlendiği ve fermantasyonun tamamlandığı gözlemlenmiştir.

Fermantasyon sırasında toplam kuru madde miktarındaki değişiklik (Şekil 3.1) literatürdeki verilere paralellik arz etmektedir. Tipik olarak °Brix değerleri ilk günlerde sabit kalmakta, ardından hızlı bir düşüş yaşamaktadır. Şarapçılıkta starter kültür olarak kullanılan mayalar ortama genellikle oda sıcaklığında 24 – 48 saat aralığında uyum

sağlamaktadır (Joshi, Panesar, & Abrol, 2017). Bu süre mikroorganizmanın genetik özelliğine; pH, sıcaklık, ozmotik stres, oksijen miktarı, sülfid varlığı gibi çevresel etkenlere göre değişiklik göstermektedir (García-Ríos & Guillamón, 2019). Fermantasyonun ilk günlerindeki bu stabilitenin mikroorganizmaların ortama uyum sağlamaya çalıştığı lag fazında olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

3.2.2. Alkol fermantasyonu boyunca pH değişimi

pH'daki değişim alkol fermantasyonu boyunca gözlemlenmiştir (Şekil 3.2). Fermantasyon öncesinde pH 3,5'e ayarlanmıştır. Fermantasyonun ilk iki gününde pH'da herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Bu durum alkol fermantasyonu için mayanın lag fazında olması ile açıklanabilir. Devam eden günlerde pH artışa geçmiş ve fermantasyonun 10. gününde 3,83 seviyesine ulaşarak bu değerde sabit kalmıştır.



Şekil 3.2. Fermantasyon boyunca pH değişimi

Literatürde gilaburu meyvesinden şarap üretimi ile ilgili bir çalışma mevcut olmadığından kıyaslama için farklı şarap fermantasyon koşulları dikkate alınmıştır.

Endüstriyel ölçekte doğal şarap üretimindeki mikrobiyolojik ve kimyasal karakteristiklerin araştırıldığı bir çalışmada (Sannino vd., 2013) kendiliğinden gerçekleşen fermantasyonla beyaz şarap üretimi gerçekleştirilmiş, bu kapsamda parçalanmış ve preslenen üzümde 2 gün süren maserasyonun ardından 5 gün fermantasyona bırakılmış ve fermantasyon boyunca şarabın gün bazında pH değişimi araştırılmıştır. Maserasyon sonu ve fermantasyon başında 3,35 olarak ölçülen pH,

fermantasyonun ikinci gününde 3,31 olarak not edilmiştir. İkinci günden itibaren pH fermentasyon sonuna kadar artmıştır. Şarap arzu edilen etanol seviyesine (%12,66) ulaştığı ve bu değerinde sabit kaldığı anda pH 3,39 olarak belirlenmiştir.

Bir başka çalışmada (Qin vd., 2024) ise karadut sırası 20 °C sıcaklıkta 12 gün süren fermentasyona bırakılmış, fermentasyon sonunda %10 (v/v) etanol içeren yarı tatlı karadut şarabı elde edilmiştir. Fermentasyon boyunca pH düzenli olarak izlenmiş, fermentasyon öncesinde $4,76 \pm 0,01$ olarak not edilen pH sürekli bir azalış göstererek 12. günden sonra 3.91 ± 0.01 değerinde sabitlenmiştir.

Literatür verilerinden anlaşılabileceği üzere fermentasyon sırasında pH değişimi beyaz üzüm şaraplarında artma eğilimindeyken, karadut şarabında azalma eğiliminde olabilmektedir. Şıranın bileşiminde bulunan organik asitler, fenolik bileşikler ve esterlerle birlikte, alkol fermentasyonu sırasında bu maddelerin yıkım derecesi ve açığa çıkan etanol ve karbondioksit gibi metabolitlerin etkileşimi sonucunda şarap pH'sının yükseldiği düşünülmektedir.

3.3. Gilaburu şarabı eldesi sonrası gerçekleştirilen analizler ve YHB ile raf ömrü çalışmaları

3.3.1. Gilaburu şarabının hacmen alkol miktarı

Gilaburu şarabının alkol hacmi dijital ebülyometre cihazı yardımıyla $12,40 \pm 0,19$ olarak ölçülmüştür. Türk Gıda Kodeksi Şarap Tebliği'ne (Tebliğ No.: 2008/67) (Anonim, 2008) göre şarapların hacmen gerçek alkol miktarının en az %9, toplam alkol miktarı ise en fazla %15 olması gerekmektedir. Elde ettiğimiz ürünün alkol hacmi bakımından Türk Gıda Kodeksi Şarap Tebliği'ne uygun olduğu görülmektedir.

3.3.2. YHB'nin şarabın mikrobiyal yüküne etkisi

Şarapta bozulmaya neden olabilecek baskın floranın maya ve küfler olduğu varsayılarak ılımlı bir basınçlama işlemi ile mikrobiyal inaktivasyon sağlanmaya çalışılmıştır. Bu amaçla başlangıç toplam aerobik bakteri sayısı $3,2 \times 10^7$ kob/mL ve toplam maya-küf sayısı $2,1 \times 10^7$ kob/mL olan örnekler YHB işlemine tabi tutulmuştur. Farklı basınçlarda uygulanan YHB işlemi sonucunda toplam aerobik canlı ve toplam maya-küf sayısında meydana gelen azalmalar logaritmik bazda Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Artan basınçla birlikte mikrobiyal inaktivasyon da artmış ve 250 MPa basınç uygulaması sonucunda toplam aerobik canlı ve maya-küf gelişmesi gözlemlenememiştir (min 7 log kob/mL azalma).

Çizelge 3.2. Çeşitli YHB’lerde mikroorganizma yükündeki değişim

Basınçlar (MPa / 3 dakika)	Mikroorganizma Yüğü (log kob/mL)	
	Toplam canlı aerobik bakteri	Toplam maya – küf
0	7,46 ± 0,20	7,33 ± 0,07
100	6,11 ± 0,05	5,93 ± 0,05
150	5,93 ± 0,06	5,68 ± 0,06
200	2,73 ± 0,09	2,67 ± 0,12
250	0	0

Toplam aerobik bakteri sayısı ve toplam maya – küf sayısı benzerlik göstermektedir. Laboratuvarımızda saf maya kültürleri ile yaptığımız çalışmalarda, mayalar Plate Count Agar üzerinde Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar üzerindeki benzer bir gelişme göstermiş ve sayımlarda önemli bir farklılık saptanmamıştır. Bu gözlemden hareketle, şarapta mayaların baskın hale geldiği, alkolün de etkisiyle diğer mikroorganizmaların gelişiminin büyük ölçüde inhibe olduğu ve bu nedenle TAC sonuçlarının da maya sayısını yansıttığı düşünülebilir. Ayrıca, 250 MPa gibi düşük sayılabilecek bir basınçta tam bir mikrobiyal inaktivasyonun sağlanmış olması mayaların bakterilere kıyasla yüksek hidrostatik basınca daha duyarlı oldukları (Daryaei vd., 2016) gerçeği ile açıklanabilir. Ayrıca, gilaburu şarabında bulunan alkol, organik asit ve fenolik maddelerle birlikte, düşük pH’nın da sinerjistik bir etki ile düşük basınçta yüksek mikrobiyal inaktivasyona neden olduğu düşünülmektedir.

Yüksek hidrostatik basıncın kırmızı şarap üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Mok vd., 2006) kırmızı şaraba 0 – 30 dakika değişen süre ve 100 – 350 MPa değişen basınç uygulanmıştır. Toplam aerobik bakteri sayısı basınç öncesinde $4,15 \times 10^5$ kob/mL olarak belirlenmiştir. Basıncın etkileri ancak 250 MPa ve üzeri basınçlarda gözlemlenebilmiştir. Şaraba 5 dakika 250 MPa basınç uygulandıktan sonra toplam aerobik bakteri sayısı $2,41 \times 10^3$ kob/mL’ye düşmüş, süre 10 dakikaya çıkarıldığında 1,17

$\times 10^3$ kob/mL, 20 dakikaya çıkarıldığında $7,10 \times 10^2$ kob/mL, 30 dakikaya çıkarıldığında ise $2,00 \times 10^2$ kob/mL'ye düşmüştür. Basıncın ve sürenin artmasıyla mikroorganizma eliminasyonunun arttığı gözlemlenmiş, 300 MPa ve üzerindeki basınçlarda mikrobiyal eliminasyonda ciddi miktarda artış meydana gelmiştir. 300 MPa 20 dakika YHB uygulaması toplam aerobik bakteri sayısını tespit sınırlarının altına kadar düşürmüştür. Ayrıca basınç öncesi $2,87 \times 10^5$ kob/mL olan mayalar 10 dakika 300 MPa basınç uygulamasıyla 3 log kob/mL azalmış, 20 dakikada bu miktar 4 log kob/mL'ye çıkmış, 30 dakikada ise tüm mayalar elimine edilebilmiştir. Laktik asit bakterileri sayısı ise $2,86 \times 10^5$ ölçülmüş, 350 MPa 5 dakika ve 300 MPa 20 dakika basınçlama işlemi sonrası bu sayı tespit limitinin altına düşmüştür. Kırmızı şarap üzerinde yapılan bu çalışmaya kıyasla, bu tez çalışmasında daha yüksek mikrobiyal inaktivasyonun elde edilmiş olması; i) gilaburu şarabında bulunan fenolik bileşenlerin antimikrobiyal etkisi, ii) gilaburu şarabında bulunan mikroorganizmaların büyük ölçüde mayalardan oluşması ve mayaların da basınca karşı daha hassas olması, iii) basınçlama sıcaklığının oda sıcaklığı yerine 4 °C olarak seçilmiş olması ve düşük sıcaklıklarda mikroorganizmaların basınca daha hassas hale gelmesi (ter Steeg ve ark, 1999) ile açıklanabilir.

YHB'nin gilaburu şarabının mikrobiyolojik, fiziksel, fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine etkisini raf ömrü boyunca incelemek amacıyla YHB denemeleri yapılmıştır. Bu amaçla denemelerde üreme gözlemlenmeyen basınç düzeyinden (250 MPa) 25 MPa daha yüksek bir basınç (275 MPa) seçilerek tam bir mikrobiyal inaktivasyonun garantilenmesi amaçlanmıştır.

3.3.3. Depolama boyunca mikrobiyal yükteki değişim

Daha berrak bir şarap elde etmek amacıyla basınçlama ve depolama öncesinde santrifüjleme (7000xG, 10 dakika) işlemi gerçekleştirildiğinden mikroorganizma yükünde azalma meydana gelmiş ve başlangıç (0. gün) toplam canlı aerobik bakteri sayısı 2,22 log kob/mL ve toplam maya-küf sayısı 2,25 log kob/mL olarak tespit edilmiştir.

Oda sıcaklığı (25 °C) ve buzdolabı koşullarında (4 °C) depolanan örneklerden raf ömrü boyunca yapılan mikrobiyolojik sayım sonuçları Çizelge 3.3'te verilmiştir. YHB'ye tabi tutulan tüm örneklerde 40 günlük raf ömrü boyunca mikrobiyal üreme gözlemlenememiştir. Oda koşullarında depolanan örneklerde de 20. ve 40. günlerde

mikrobiyal üreme gözlemlenemezken, buzdolabı koşullarında saklanan örneklerde, 20 ve 40. günlerde yapılan sayımlardan elde edilen sonuçlar 0. günde ki sonuçlara oldukça yakın bulunmuştur. Oda koşullarında saklanan örneklerde mikrobiyal üreme gözlemlenememesi, şarabın sahip olduğu antimikrobiyal etkenlerden etil alkol ve fenolik bileşiklerin mikroorganizmalar üzerinde sahip olduğu öldürücü etkinin sıcaklıkla birlikte artması ile açıklanabilir.

Çizelge 3.3. Gilaburu şarabının depolanması boyunca mikrobiyolojik yükteki değişim

		0. gün ¹		
Toplam canlı aerobik bakteri (log kob / mL)		Kontrol	2,22 ± 0,12	
		Basınçlı	ÜY	
Toplam canlı maya - küf (log kob / mL)		Kontrol	2,25 ± 0,01	
		Basınçlı	ÜY	
			20. gün	40.gün
Toplam canlı aerobik mikroorganizma (log kob / mL)	Oda Sıcaklığı	Kontrol	ÜY	ÜY
		Basınçlı	ÜY	ÜY
	Buzdolabı	Kontrol	2,00 ± 0,31	1,89 ± 0,29
		Basınçlı	ÜY	ÜY
		Kontrol	ÜY	ÜY
		Basınçlı	ÜY	ÜY
Toplam canlı Maya - Küf (log kob / mL)	Oda Sıcaklığı	Kontrol	ÜY	ÜY
		Basınçlı	ÜY	ÜY
	Buzdolabı	Kontrol	2,17 ± 0,14	2,12 ± 0.12
		Basınçlı	ÜY	ÜY

¹Basınçlamanın yapıldığı 0. günde örnekler basınçlama anına kadar buzdolabında bekletildikten sonra basınçlanmıştır.

²**Buzdolabı:** Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolama. **Oda sıcaklığı:** Oda sıcaklığında (25°C) depolama. **Kontrol:** Basınçlama işlemi yapılmamış şarap. **Basınçlı:** 275 MPa, 4°C sıcaklıkta 3 dakika basınçlanmış şarap.

³ÜY: üreme görülmedi.

Benzer bir sonuç depolama esnasında şarapların mikrobiyolojik yükündeki değişimi inceleyen Mok vd. (2006), tarafından da gözlemlenmiştir. Söz konusu çalışmada, 15 °C sıcaklıkta 14 haftalık depolama periyoduna bırakılan şaraplardaki toplam aerobik mikroorganizma ve maya sayısı depolama boyunca sürekli olarak azalmıştır. Başlangıçta şarapta 7,5 log kob/mL canlı aerobik bakteri ve maya tespit

edilmiş, 4. Haftada mikroorganizma yükünde 2 log kob/mL düşüş meydana gelmiştir. 14. Haftanın sonunda maya sayısında yaklaşık 4 log kob/mL düşüş yaşanırken, toplam aerobik bakteri sayısında yaklaşık 5 log kob/mL düşüş yaşanmıştır.

3.3.4. Depolama boyunca fizikokimyasal özelliklerdeki değişim

Depolama boyunca şarapların fizikokimyasal özelliklerindeki değişimler araştırılmıştır. Suda çözünür kuru madde miktarı değerleri Çizelge 3.4'te verilmiştir. Buzdolabı ve oda sıcaklığında depolanan hem kontrol hem de basınçlı örneklerde depolama boyunca istatistiki olarak önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Fermantasyonun tamamlanmasıyla gilaburu şarabının şeker miktarının tespit sınırının altına düştüğü bilindiğinden, ortam, mikroorganizmaların tüketebileceği besinden yoksundur. Şarapçılıkta °Brix şeker miktarıyla ilişkilendirildiğinden mikroorganizmaların depolamada herhangi bir faaliyet gösteremediği ve böylelikle suda çözünür kuru madde miktarının değişmediği düşünülmektedir.

Çizelge 3.4. Depolama boyunca °Brix değişimi

Depolama Süresi				
(Gün)	Kontrol		Basınçlı	
0 ¹	9,20 ± 0,10 ^a		9,23 ± 0,06 ^a	
	Buzdolabı		Oda Sıcaklığı	
	Kontrol	Basınçlı	Kontrol	Basınçlı
20	9,03 ± 0,06 ^a	9,13 ± 0,06 ^a	9,00 ± 0,10 ^a	8,90 ± 0,00 ^a
40	8,87 ± 0,20 ^a	9,20 ± 0,10 ^a	9,03 ± 0,15 ^a	8,80 ± 0,10 ^a

¹Basınçlamanın yapıldığı 0. günde örnekler basınçlama anına kadar buzdolabında bekletildikten sonra basınçlanmış

²Değerler ANOVA Tamhane testine göre elde edilen verilerin ortalama ± standart sapma değerlerini göstermektedir. Farklı harflendirilmiş örnekler istatistiki anlamda farklı olarak ifade edilmiştir.

³**Buzdolabı:** Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolama. **Oda sıcaklığı:** Oda sıcaklığında (25°C) depolama. **Kontrol:** Basınçlama işlemi yapılmamış şarap. **Basınçlı:** 275 MPa, 3 dakika 4°C sıcaklıkta basınçlanmış şarap.

Depolama boyunca gün bazında şaraplardaki pH değerleri Çizelge 3.5'te, titrasyon asitliği değerleri ise Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.5. Depolama boyunca pH değişimi

Depolama				
Süresi (Gün)	Kontrol		Basıncılı	
0 ¹	3,81 ± 0,02 ^a		3,79 ± 0,01 ^a	
	Buzdolabı		Oda Sıcaklığı	
	Kontrol	Basıncılı	Kontrol	Basıncılı
20	3,80 ± 0,03 ^a	3,81 ± 0,01 ^a	3,81 ± 0,01 ^a	3,82 ± 0,01 ^a
40	3,81 ± 0,02 ^a	3,81 ± 0,02 ^a	3,79 ± 0,00 ^a	3,80 ± 0,01 ^a

¹Basınçlamanın yapıldığı 0. günde örnekler basınçlama anına kadar buzdolabında bekletildikten sonra basınçlanmıştır

²Değerler ANOVA Tukey testine göre elde edilen verilerin ortalama ± standart sapma değerlerini göstermektedir. Farklı harflendirilmiş örnekler istatistiki anlamda farklı olarak ifade edilmiştir.

³**Buzdolabı:** Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolama. **Oda sıcaklığı:** Oda sıcaklığında (25°C) depolama. **Kontrol:** Basınçlama işlemi yapılmamış şarap. **Basıncılı:** 275 MPa, 3 dakika 4°C sıcaklıkta basınçlanmış şarap.

Çizelge 3.6. Depolama boyunca titrasyon asitliği değişimi

Depolama Süresi (Gün)		Titrasyon Asitliği (%malik asit)		
		Kontrol		Basıncılı
0 ¹		1,32 ± 0,01 ^a		1,31 ± 0,01 ^a
		Buzdolabı		Oda Sıcaklığı
	Kontrol	Basıncılı	Kontrol	Basıncılı
20	1,31 ± 0,02 ^a	1,30 ± 0,03 ^a	1,26 ± 0,01 ^a	1,24 ± 0,02 ^a
40	1,32 ± 0,02 ^a	1,32 ± 0,01 ^a	1,29 ± 0,01 ^a	1,27 ± 0,01 ^a

¹Basınçlamanın yapıldığı 0. günde örnekler basınçlama anına kadar buzdolabında bekletildikten sonra basınçlanmıştır

²Değerler ANOVA Tamhane testine göre elde edilen verilerin ortalama ± standart sapma değerlerini göstermektedir. Farklı harflendirilmiş örnekler istatistiki anlamda farklı olarak ifade edilmiştir.

³**Buzdolabı:** Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolama. **Oda sıcaklığı:** Oda sıcaklığında (25°C) depolama. **Kontrol:** Basınçlama işlemi yapılmamış şarap. **Basıncılı:** 275 MPa, 3 dakika 4°C sıcaklıkta basınçlanmış şarap.

Tüm örneklerin hem pH hem de titrasyon asitliği bazında istatistiki olarak birbirleriyle benzer oldukları tespit edilmiştir. Şaraptaki alkoller aldehitlere, aldehitler de

asitlere oksitlenerek toplam asitliği arttırmaktadır. Bu sebeple oksidasyona maruz kalan şaraplarda titrasyon asitliği artmaktadır. Gilaburu şarabının 40 günlük depolanması esnasında asitliği etkileyecek herhangi bir reaksiyonun meydana gelmediği anlaşılmaktadır.

Tian vd. (2016), pirinç şarabına YHB uygulamış ve pH değişimini 18 aylık depolama periyodu boyunca takip etmiştir. Depolamanın ilk 9 ayında pH’da anlamlı bir değişim meydana gelmemiştir. Ayrıca uygulanan basınç şartlarında (200 ve 550 MPa, 30 dakika, 25 °C sıcaklık) basınçlı ve kontrol örnekte yine anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Titrasyon asitliği miktarında ise depolama boyunca tüm örneklerde artış gözlemlenmiştir. Ancak bu artış, basınçlı örneklerde ve kontrol örnekte istatistiki olarak benzer seyretmiştir. Depolamanın başında ise basınçlı örneklerde kontrol örneğe kıyasla anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Bu sebeple basıncın işlem esnasında titrasyon asitliğini arttırdığı, ancak depolamada herhangi anlamlı bir değişim gözlemlenmediği anlaşılmaktadır.

Çalışmalar arasındaki farklılığın hammadde, depolama süresi ve basınç koşullarının farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Depolama süresinin uzatılması durumunda asitlik miktarının artabileceği, pH’nın düşebileceği ihtimalinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

3.3.5. Depolama boyunca rengin değişimi

Depolama boyunca şaraplardaki renk değişimi L^* , a^* , b^* cinsinden takip edilmiştir ve sonuçlar arasındaki farklılık araştırılmıştır. Kontrol ve YHB’li örnekler arasındaki farkı tespit etmek amacıyla elde edilen ΔE değerleri Çizelge 3.7’de verilmiştir. Sonuçlara ilişkin sayısal değerler Çizelge 3.8’de verilmiş, ayrıca zamana göre meydana gelen değişim Şekil 3.3’te gösterilmiştir.

Kontrol ve YHB’li örnek arasındaki farkın depolamanın 40. Gününde buzdolabında saklanan örneklerde en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç diğer parametrelerle de desteklenmektedir. Depolama boyunca en yüksek L^* değeri depolamanın başladığı 0. Günde elde edilmiştir. 0. Günde kontrol ve basınçlanmış örneklerin L^* değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık ($p<0,05$) bulunmamıştır. L^* değerleri genel olarak depolama boyunca azalmıştır. En düşük L^*

değeri 40. Gün oda sıcaklığında depolanmış basınçlı ve kontrol örneklerde tespit edilmiştir. 40. Günde de kontrol ve basınçlı örneklerde arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Oda sıcaklığında depolanan örneklerin L* değeri, buzdolabında depolanan örneklerle kıyasla daha fazla bir düşüş sergilemiştir.

Çizelge 3.7. Depolama boyunca ΔE değerleri

Günler	ΔE Değerleri	
0	0,34	
	Buzdolabı	Oda Sıcaklığı
20	0,58	0,34
40	3,56	0,06

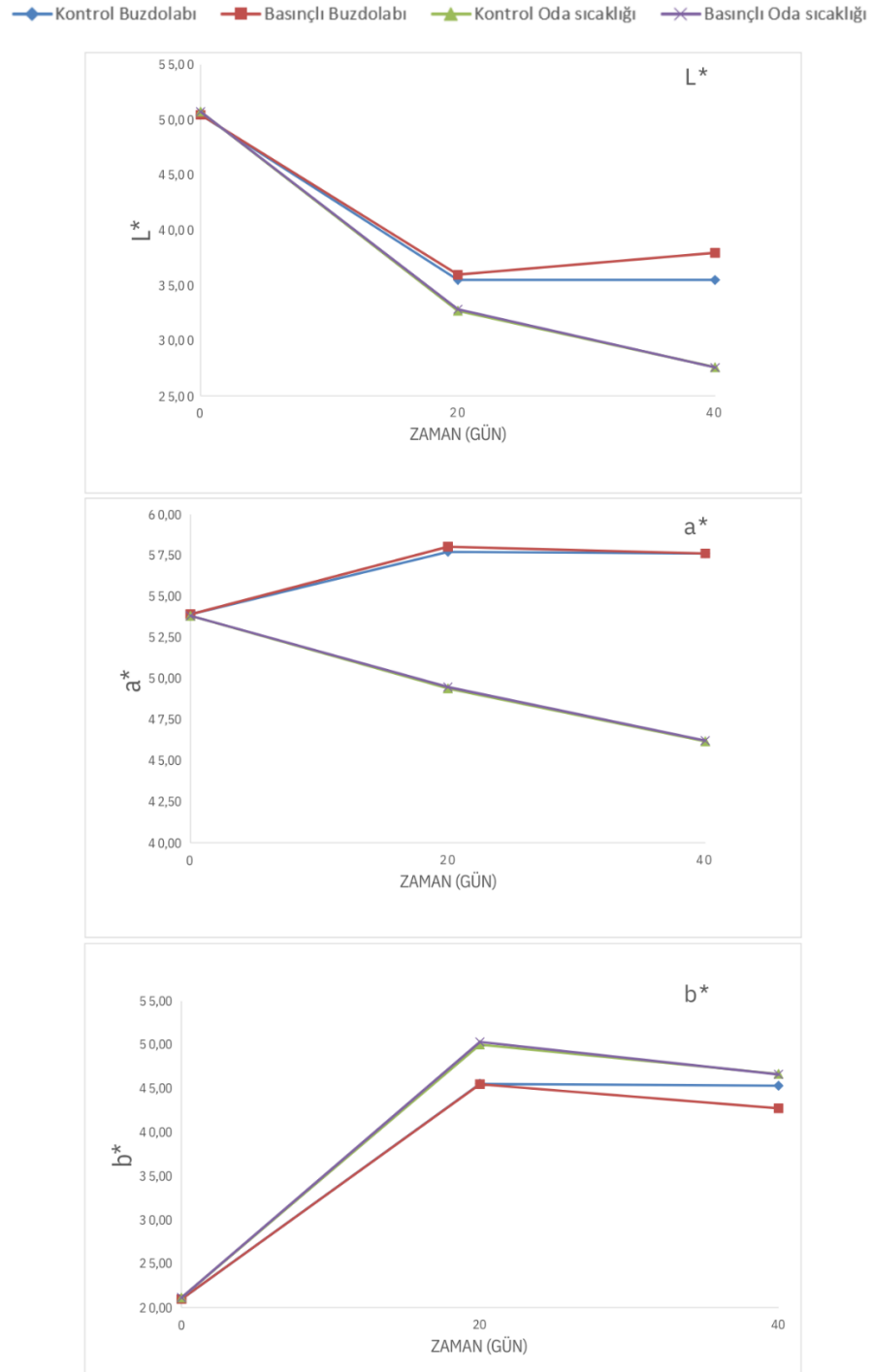
¹**Buzdolabı:** Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolama. **Oda sıcaklığı:** Oda sıcaklığında (25°C) depolama.

a* değerleri kıyaslandığında oda sıcaklığında depolanmış örneklerde depolama süresi boyunca genel olarak bir düşüş meydana gelirken, buzdolabında depolanmış örneklerde artış meydana gelmiştir. Şaraplardaki kırmızılığın oda sıcaklığında depolanırken azaldığı, buzdolabında depolanırken ise geliştiği anlaşılmaktadır.

b* değerleri depolama boyunca tüm örneklerde artmıştır. Örneklerin sarılık değeri depolamayla beraber artmış, tüm örnekler canlı kırmızıdan kahverengiye dönmeye başlamış, ancak bu dönüşüm oda sıcaklığında depolanan ürünlerde çok daha hızlı olmuştur. Kontrol ve basınç örnekler arasındaki farkın en çok olduğu koşul 40. Gün buzdolabı sıcaklığı olarak belirlenmiştir.

Şaraplar insan gözüyle değerlendirildiğinde depolamanın başlangıcında canlı kırmızı renkteyken, depolamanın 20. Gününde kahverengiye dönmüş ve 40. Günde bu kahverengilik daha belirgin bir hale gelmiştir. Bu durumun ve elde edilen verilerin literatürde, şaraplarda kahverengileşme (Browning) adı verilen enzimatik veya çoğunlukla fenollerin, bakır veya demir iyonlarının katalizörlüğü eşliğinde enzimatik olmayan kimyasal oksidasyon yoluyla esmerleşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Üretimin doğal akışı gereği şarabın oksijenle teması, gilaburu meyvelerinin diğer meyvelere kıyasla yüksek miktarda fenolik madde içermesi oksidasyonu önlemeyi zorlaştırmaktadır (Li, Guo, & Wang, 2008). Ayrıca kimyasal

reaksiyonların hızının sıcaklık arttıkça artmasının, özellikle oda sıcaklığında depolanan ürünlerde süreci hızlandırdığı düşünülmektedir.



Şekil 3.3. Depolama boyunca L^* , a^* , b^* renk değerlerinde meydana gelen değişimler

Kükürt dioksit antioksidan özelliği sebebiyle oksidasyonu engelleyerek kahverengileşmeyi önlemek amacıyla şaraplarda kullanılan en yaygın koruyucudur (Lisanti, Blaiotta, Nioi, & Moio, 2019). Gilaburunun bünyesinde bulunan antioksidan bileşenlerin, şarapların oksidasyonunu önleyebilecek yeterlilikte olmadığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 3.8. Depolama boyunca L*, a*, b* değerlerine ilişkin sayısal değerler

Depolama Süresi (Gün)	Renk Değerleri	Kontrol		Basıncılı	
0 ¹	L*	50,45 ± 0,02		50,74 ± 0,52	
	a*	53,91 ± 0,05		53,83 ± 0,41	
	b*	20,96 ± 0,03		21,13 ± 0,97	
		Buzdolabı		Oda Sıcaklığı	
		Kontrol	Basıncılı	Kontrol	Basıncılı
20	L*	35,49 ± 0,02	35,97 ± 0,01	32,69 ± 0,01	32,83 ± 0,00
40	L*	35,74 ± 0,05	37,94 ± 0,04	27,58 ± 0,01	27,55 ± 0,01
20	a*	57,72 ± 0,05	58,04 ± 0,04	49,39 ± 0,01	49,49 ± 0,01
40	a*	57,62 ± 0,06	57,62 ± 0,01	46,18 ± 0,00	46,22 ± 0,00
20	b*	45,55 ± 0,03	45,49 ± 0,07	50,02 ± 0,01	50,32 ± 0,05
40	b*	45,33 ± 0,03	42,74 ± 0,01	46,67 ± 0,01	46,63 ± 0,02

¹Basınçlamanın yapıldığı 0. günde örnekler basınçlama anına kadar buzdolabında bekletildikten sonra basınçlanmıştır.

²Değerler ANOVA Tamhane testine göre yorumlanmıştır.

³**Buzdolabı:** Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolama. **Oda sıcaklığı:** Oda sıcaklığında (25°C) depolama. **Kontrol:** Basınçlama işlemi yapılmamış şarap. **Basınçlı:** 275 MPa, 3 dakika 4°C sıcaklıkta basınçlanmış şarap.

Santos vd. (2013b) kükürt dioksitsiz beyaz şarap üretimi için kullanılan yüksek hidrostatik basıncın şarabın fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu kapsamda 12 ay boyunca dört farklı beyaz şarabın (İşlem görmemiş kontrol örneği, 40 ppm SO₂ eklenmiş örnek, 20°C sıcaklıkta 5 dakika 425 ve 500 MPa YHB uygulanmış örnekler) L*, a*, b* cinsinden renk değerleri incelenmiştir. 12 aylık depolama boyunca tüm örneklerin L* değerlerinde düşüş meydana gelirken a* ve b* değerlerinde artış meydana gelmiştir. Ayrıca, kontrol ve kükürt dioksit ilave edilmiş basınçlanmamış şaraplarda bu değişimlerin basınçlanmış şaraplara kıyasla daha az meydana geldiği gözlemlenmiştir. L* değeri tüm örneklerde depolamanın 3. Ayına kadar benzer kalmış ancak 6. Aydan itibaren basınçlı örneklerde çok daha düşük ölçülmüştür. Basınçlanmış örneklerin insan gözüyle değerlendirildiğinde basınçlanmamış örneklere kıyasla daha kahverengimsi olduğu belirtilmiştir.

Santos vd. (2013a), başka bir çalışmada ise aynı parametreleri kırmızı şaraplardaki değişimi belirlemek için kullanmışlardır (İşlem görmemiş kontrol örneği, 40 ppm SO₂ eklenmiş örnek, 20°C sıcaklıkta 5 dakika 425 ve 500 MPa YHB uygulanmış örnekler). 12 ay boyunca depolanan kırmızı şarapların L*, a* ve b* değerleri tüm örnekler için artış göstermiştir. Çalışma boyunca insan gözüyle yapılan takipler sonucunda depolamayla beraber şarapların renginin gittikçe turuncuya döndüğü gözlemlenmiştir. Bu durum L* ve b* değerlerinde meydana gelen artışla ilişkilendirilmektedir. Basınçlı ve basınçsız örnek arasındaki istatistiki olarak önemli farklılık, b* değeri için depolamanın 9. Ayında meydana gelirken, L* ve a* değerleri için bu farklılık ancak depolamanın 12. Ayında meydana gelmiştir.

Depolama boyunca renkte meydana gelen değişimlerin şarapların çeşidine göre farklılaştığı görülmektedir. Bu tez çalışması kapsamında uygulanan YHB için optimum koşullar, mikroorganizma eliminasyonunun sağlandığı ilk an olarak belirlenmiştir. Gilaburu şaraplarına uygulanan YHB koşulları (275 MPa, 3 dakika, 4°C sıcaklıkta YHB uygulaması) yukarıda belirtilen çalışmalardaki koşullardan (425 ve 500 MPa, 5 dakika,

20°C sıcaklıkta YHB uygulaması) oldukça farklıdır. Ayrıca bu tez çalışmasında depolamanın 40 günde sonlandırıldığı düşünüldüğünde, istatistiki olarak aralarında önemli fark bulunmayan bazı parametrelerin, daha uzun depolama süresinde istatistiki olarak anlamlı farklılığa ulaşabileceği ihtimalinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

3.3.6. Depolama boyunca toplam fenolik madde miktarındaki değişim

Depolama boyunca gün bazında şaraplardaki toplam fenolik bileşen miktarındaki değişim Çizelge 3.9’da verilmiştir.

Çizelge 3.9. Depolama boyunca toplam fenolik madde miktarı değişimi.

Depolama Süresi (Gün)	Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/L)			
	Kontrol		Basınçlı	
0 ¹	3476,13 ± 0,91 ^a		3902,26 ± 1,37 ^b	
	Buzdolabı		Oda Sıcaklığı	
	Kontrol	Basınçlı	Kontrol	Basınçlı
20	4687,50 ± 11,78 ^c	4404,17 ± 23,57 ^d	4087,50 ± 11,78 ^e	4175,00 ± 29,46 ^e
40	5135,84 ± 29,47 ^f	4990,00 ± 35,36 ^g	4290,00 ± 35,36 ^h	4869,17 ± 17,68 ⁱ

¹Basınçlamanın yapıldığı 0. günde örnekler basınçlama anına kadar buzdolabında bekletildikten sonra basınçlanmıştır

²Değerler ANOVA Tamhane testine göre elde edilen verilerin ortalama ± standart sapma değerlerini göstermektedir. Farklı harflendirilmiş örnekler istatistiki anlamda farklı olarak ifade edilmiştir.

³**Buzdolabı:** Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolama. **Oda sıcaklığı:** Oda sıcaklığında (25°C) depolama. **Kontrol:** Basınçlama işlemi yapılmamış şarap. **Basınçlı:** 275 MPa, 3 dakika 4°C sıcaklıkta basınçlanmış şarap.

Depolamayla beraber fenolik bileşen miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Depolamanın 20. Gününde oda sıcaklığında depolanan kontrol ve basınçlı örnek arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Bunun dışındaki tüm örnekler istatistiki olarak birbirinden farklıdır.

van Wyk vd. (2018), kırmızı şaraba 3 °C sıcaklıkta 5 saniye 400 MPa YHB uygulamışlardır. Kırmızı şarapların toplam fenolik madde miktarındaki değişimini 12 ay boyunca oda sıcaklığında (25°C) depolama boyunca takip etmişlerdir. Depolama boyunca YHB uygulanmış örneğin toplam fenolik madde miktarının, işlem görmemiş kontrol örneğine kıyasla daha az olduğu tespit edilmiştir. Özellikle depolamanın 6. Ayından itibaren YHB uygulanmış örneğin fenolik madde miktarı kontrol örneğe kıyasla oldukça düşük bulunmuştur. Uzun süren depolamalarda, YHB uygulanmış örneklerde stabiliteyi korumanın zorlaştığı gözlemlenmiştir.

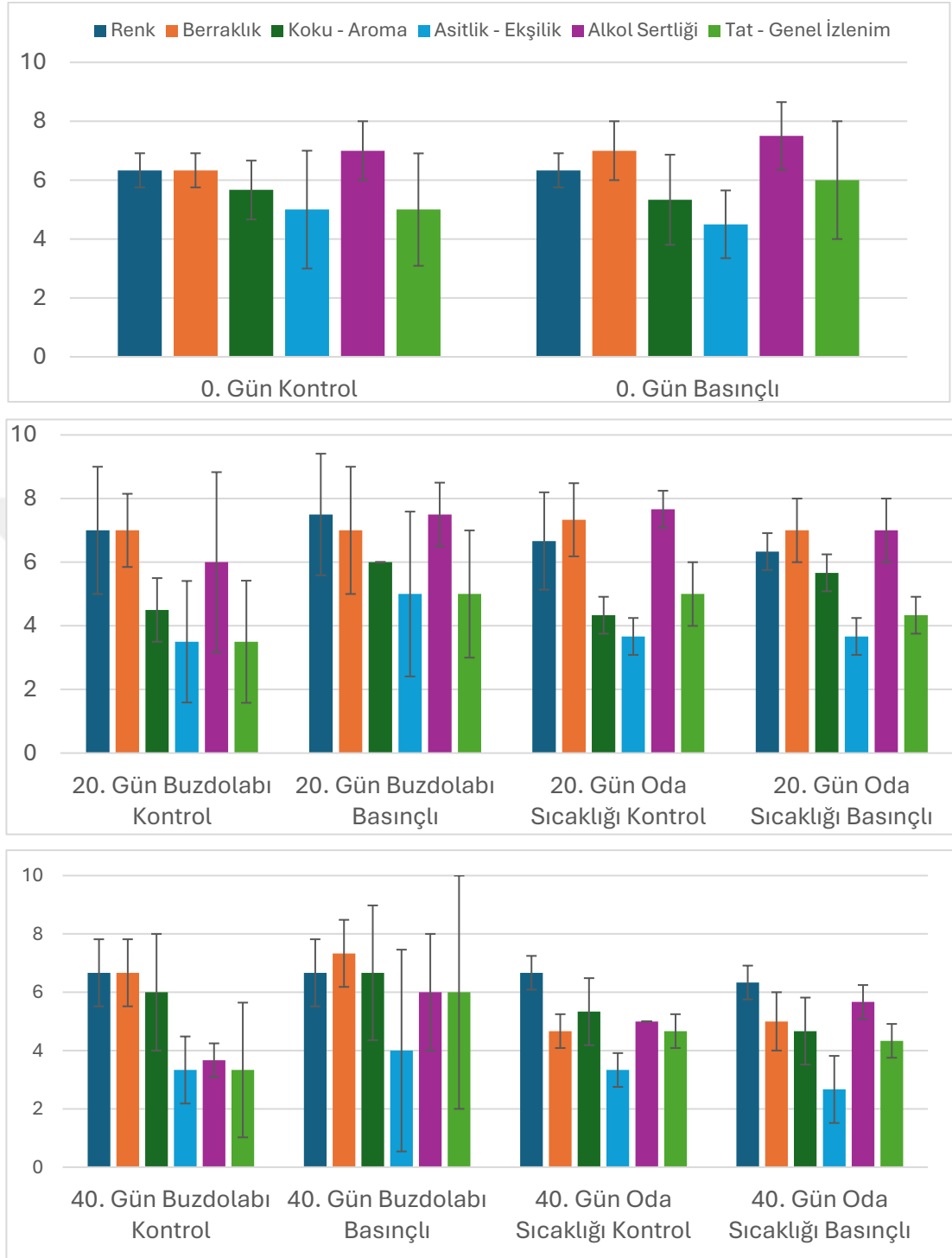
van Wyk, Hong, & Silva (2021), bir başka çalışmada ise 5 farklı sofr şarabına 3 °C sıcaklıkta 5 dakika 600 MPa YHB uygulamışlardır. 15 °C sıcaklıkta 2 ay boyunca depolamaya bırakılan örneklerde fenolik madde miktarındaki değişim izlenmiştir. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen YHB işleminin fenolik madde miktarı üzerinde anlamlı bir etki göstermediği tespit edilmiştir. Kırmızı şaraplarda YHB süresinin 15 dakikaya çıkarılmasıyla (650 MPa basınçta) toplam fenolik madde miktarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı bildirilmiştir.

Literatürdeki veriler incelendiğinde çalışmanın farklı YHB parametreleri ve farklı depolama sürelerinde gerçekleştirildiği görülmektedir. Fenolik madde miktarı, basınçlanmış şaraplarda bazı durumlarda azalma eğilimindeyken, bazı durumlarda istatistiksel olarak aynı kalmıştır. Bu durumun YHB işleminin farklı basınç süre ve sıcaklık parametrelerinde uygulanmasından, depolama ve şarabın depolanması sırasında hammadde özellikleri sebebiyle, kimyasal reaksiyonların farklı cereyan etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

3.3.7. Depolama boyunca duyuusal kalitedeki değişim

Gilaburu şarabının farklı depolama günlerindeki duyuusal analiz değerleri Şekil 3.4'te verilmiştir.

Depolama boyunca basınçlı ve kontrol örneklerde renk, berraklık, koku – aroma, asitlik – ekşilik, alkol sertliği, tat – genel izlenim parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanamamıştır. YHB'nin ve depolamanın duyuusal kaliteye olumlu veya olumsuz herhangi bir etkisinin olmadığı, panelistlerin YHB'ye maruz bırakılmış ve bırakılmamış şarap arasındaki farkı duyuusal açıdan tespit edemediği anlaşılmıştır.



¹Değerler ANOVA Tamhane testine göre elde edilen verilerin ortalama $\pm$ standart sapma değerlerini göstermektedir. Farklı harflendirilmiş örnekler istatistiki anlamda farklı olarak ifade edilmiştir.

²**Buzdolabı:** Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolama. **Oda sıcaklığı:** Oda sıcaklığında (25°C) depolama. **Kontrol:** Basınçlama işlemi yapılmamış şarap. **Basınçlı:** 275 MPa, 3 dakika 4°C sıcaklıkta basınçlanmış şarap.

Şekil 3.4. Depolama boyunca duyu test parametrelerindeki değişim

Panelistlerin en düşük 1 ve en yüksek 9 olmak üzere yaptığı duyusal puanlama testinde genel ortalaması 5'ten düşük olanların az beğenildiğini söylemek mümkündür. Ortalama skorlara bakıldığında buzdolabı koşullarında saklanan basınçlanmış örneklerin aroma, asitlik, alkol sertliği ve genel beğeni skorlarının kontrol örneklerinden daha yüksek olduğu gözlemlenmişse de, verilerin standart sapmasının yüksek olmasından dolayı kesin bir kanıya varılamamıştır.

Santos vd. (2013a), 20°C sıcaklıkta 5 dakika boyunca 425 ve 500 MPa YHB'ye maruz bıraktıkları kırmızı şarap örneklerini, kükürt dioksit eklenmiş şarap örneğini ve işlem görmemiş kontrol örneğini 9 ay depoladıktan sonra renk, aroma, tat ve genel değerlendirme kategorilerinde duyusal teste tabii tutmuşlardır. Analiz sonuçlarına göre; kükürt dioksit eklenmiş ve 425 MPa YHB uygulanmış şarap örneklerinin aroma karakteristikleri benzerlik göstermiştir. YHB uygulanmış şarap örnekleri kontrol örneğe göre daha yüksek kahverengilik ve berraklık göstermiştir. Genel kanı bakımından ise YHB'li örnekler, kükürt dioksit eklenmiş örneklere oldukça benzer ve kontrol örneğe kıyasla çok daha iyi olarak yorumlanmıştır. Bahsedilen çalışmada YHB işleminin, birkaç aylık depolamadan sonra şarabın rengini, aromasını ve tadını olumsuz anlamda etkilediği ancak depolama dışında işlem öncesi ve sonrasında herhangi bir değişimin söz konusu olmadığı bildirilmiştir.

Elde edilen sonuçlarla literatür sonuçları arasındaki farklılığın YHB parametreleri, depolama süresi, hammaddeden gelen özellikler gibi farklılıklar neticesinde ortaya çıktığı düşünülmektedir. Çalışma kapsamında belirlenen depolama periyodunun uzatılması veya basınç parametrelerindeki değerlerin arttırılması durumunda sonuçların farklılaşabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

BÖLÜM 4

ÖNERİLER

4.1. Öneriler

Gilaburu meyvesinden şarap üretimi gerçekleştirilmiş ve YHB'nin gilaburu şarabının fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Maya ve küflerin tamamen inaktive edilmesi için ılımlı bir basınçlama işleminin (275 MPa, 3 dakika, 4 °C) yeterli olduğu anlaşılmış, ancak basınçlanmış örnekler oda sıcaklığında saklandığında şarap rengi olumsuz etkilenmiştir. Duyusal testler ile YHB'nin, gilaburu şarabının duyuşal kalitesi üzerinde etkisinin, renk hariç, önemli düzeyde olmadığı gözlemlenmiştir.

YHB kombinasyonu ile daha düşük dozda kükürt dioksit kullanımının sağlanmasıyla, kükürt dioksite alerjisi olan bazı tüketicilerin gösterdiği reaksiyonların azalacağı düşünülmektedir.

Tez çalışması laboratuvar ölçeğinde yapıldığından, endüstriyel ölçekte gilaburu şarabı üretmek istenmesi durumunda laboratuvar ölçeği kadar hassas ve hijyenik çalışılmayacağı göz önünde bulundurulduğunda, ihtiyaç duyulan basınç, süre ve sıcaklık parametrelerinin daha farklı olabileceği düşünülmektedir. Daha yüksek basınç, süre ve sıcaklık değerlerinin üründe farklı etkilere sebep olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bununla beraber daha yüksek basınçlarda enzimlerin inhibisyonu uğradığı bilinmektedir. Bu nedenle daha yüksek basınçlarda oksidasyonu katalize eden enzimlerin inhibisyonunun sağlanması ile enzimatik esmerleşme kaynaklı renk değişimleri sınırlandırılabilir. Ancak, daha yüksek basınçlar kullanıldığında, YHB'nin kimyasal oksidasyonları artırıcı etkisi de göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKÇA

- Aganovic, K., Hertel, C., Vogel, R. F., Johne, R., Schlüter, O., Schwarzenbolz, U., Jäger, H., Holzhauser, T., Bergmair, J., Roth, A., Sevenich, R., Bandick, N., Kulling, S. E., Knorr, D., Engel, K. H., & Heinz, V. (2021). Aspects of high hydrostatic pressure food processing: Perspectives on technology and food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3225-3266. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12763>
- Akbulut, M., Calisir, S., Marakoğlu, T., & Coklar, H. (2008). Chemical and technological properties of European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruits. *Asian Journal of Chemistry*, 20, 1875-1885.
- Akgün, A., Damar, İ., Yılmaz, E., & Çınar, K. (2017). Gıda Analiz Uygulamaları. İzmir: Sidaş Yayınları. ISBN: 978-605-5267-36-0.
- Altan, A., Kuş, S., & Kaya, A. (2005). Rheological behaviour and time dependent characterisation of gilaboru juice (*Viburnum opulus* L.) [Article]. *Food Science and Technology International*, 11(2), 129-137. <https://doi.org/10.1177/1082013205052763>
- Anonim, (2011b) OIV-MA-AS313-15. Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis pH (Type-I method).
- Anonim. (2008). *Türk Gıda Kodeksi Şarap Tebliği.*, <https://www.mevzuat.gov.tr/File/GeneratePdf?mevzuatNo=12833&mevzuatTur=Tebliğ&mevzuatTertip=5> Erişim Tarihi: 16.08.2023
- Anonim. (2011a)., *Integrated Taxonomic Information System - Report Viburnum Opulus L. Taxonomic Serial No.: 35270.* https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=35270#null, Erişim Tarihi: 16.08.2023
- Anonim. (2017). *Türk Patent ve Marka Kurumu Gemerek Gilaburusu Coğrafi İşaret Sicil Belgesi, Tescil Numarası 241.*, <https://ci.turkpatent.gov.tr/Files/GeographicalSigns/241.pdf>, Erişim Tarihi: 16.08.2023
- Anonim. (2018). *Türk Patent ve Marka Kurumu Bünyan Gilaburusu Coğrafi İşaret Sicil Belgesi, Tescil Numarası 389.* <https://ci.turkpatent.gov.tr/Files/GeographicalSigns/cddfef13-9755-4a45-8cdb581c7ba3b416.pdf>, Erişim Tarihi: 16.08.2023
- Anonim. (2021). *Türk Patent ve Marka Kurumu Akkışla Gilaburusu Coğrafi İşaret Sicil Belgesi, Tescil Numarası 669.* <https://ci.turkpatent.gov.tr/Files/GeographicalSigns/39c56aab-2383-46e1-aa4e-c97bed5d11f2.pdf>, Erişim Tarihi: 16.08.2023
- Balasubramaniam, V. M., Barbosa-Cánovas, G. V., & Lelieveld, H. L. M. (2015). Fundamentals and applications of high-pressure processing technology. In V. M. Balasubramaniam, G. V. Barbosa-Cánovas, & H. L. M. Lelieveld (Eds.), High pressure processing of food: Principles, technology and applications (pp. 1-24). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3321-0_1

- Bulut, S. (2014). The effects of high-pressure processing at low and subzero temperatures on inactivation of microorganisms in frozen and unfrozen beef mince inoculated with *Escherichia coli* strain ATCC 25922. *Food and Bioprocess Technology*, 1–12.
- Buzrul, S. (2012). High hydrostatic pressure treatment of beer and wine: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.10.001>
- Büyüktuncel, E., Porgalı, E., & Çolak, C. (2014). Comparison of Total Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Local Red Wines Determined by Spectrophotometric Methods. *Food and Nutrition Sciences*, 05(17), 1660-1667. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.517179>
- Christofi, S., Malliaris, D., Katsaros, G., Panagou, E., & Kallithraka, S. (2020). Limit SO₂ content of wines by applying High Hydrostatic Pressure. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 62. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102342>
- Çam, M. (2005). *Kayseri bölgesinde tüketilen gilaburu (viburnum opulus) meyve suyunun organik asit ve fenolik bileşiklerinin yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlenmesi* Ege Üniversitesi].
- Çam, M., Aslan, D., Dinç, M., & İçyer, N. C. (2012). Gilaburu Suyunun Mikroenkapsülasyonu. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7, 1-11.
- Dal, F. F., & Karacabey, E. (2021). Determination of The Physical, Physio-Chemical and Chemical Properties of Gilaburu Fruits (*Viburnum opulus*) Dried by Convectional Drying Technique#. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 9(sp), 2547-2551. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v9isp.2547-2551.4924>
- Daryaei, H., Yousef, A. E., & Balasubramaniam, V. M. (2016). Microbiological Aspects of High-Pressure Processing of Food: Inactivation of Microbial Vegetative Cells and Spores. In V. M. Balasubramaniam, G. V. Barbosa-Cánovas, & H. L. M. Lelieveld (Eds.), *High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications* (pp. 271-294). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3234-4_14
- Duarte, W. F., Dias, D. R., Oliveira, J. M., Vilanova, M., Teixeira, J. A., e Silva, J. B. A., & Schwan, R. F. (2010). Raspberry (*Rubus idaeus* L.) wine: Yeast selection, sensory evaluation and instrumental analysis of volatile and other compounds [Article]. *Food Research International*, 43(9), 2303-2314. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.08.003>
- Farkas, D. F. (2016). A Short History of Research and Development Efforts Leading to the Commercialization of High-Pressure Processing of Food. In V. M. Balasubramaniam, G. V. Barbosa-Cánovas, & H. L. M. Lelieveld (Eds.), *High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications* (pp. 19-36). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3234-4_2
- García-Ríos, E., & Guillamón, J. M. (2019). Mechanisms of Yeast Adaptation to Wine Fermentations. In I. Sá-Correia (Ed.), *Yeasts in Biotechnology and Human Health: Physiological Genomic Approaches* (pp. 37-59). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-13035-0_2
- Jadhav, H. B., Annapure, U. S., & Deshmukh, R. R. (2021). Non-thermal Technologies for Food Processing [Review]. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.657090>
- Jagtap, U. B., & Bapat, V. A. (2015). Wines from fruits other than grapes: Current status and future prospectus [Review]. *Food Bioscience*, 9, 80-96. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2014.12.002>

- Jiang, X., Lu, Y., & Liu, S. Q. (2020). Effects of Different Yeasts on Physicochemical and Oenological Properties of Red Dragon Fruit Wine Fermented with *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Lachancea thermotolerans*. *Microorganisms*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030315>
- Joshi, V. K., Panesar, P. S., & Kosseva, M. R. (2017). Introduction. In M. R. Kosseva, V. K. Joshi, & P. S. Panesar (Eds.), *Science and Technology of Fruit Wine Production* (pp. xxi-xxviii). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800850-8.02001-9>
- Joshi, V. K., Panesar, P. S., Rana, V. S., & Kaur, S. (2017). Chapter 1 - Science and Technology of Fruit Wines: An Overview. In M. R. Kosseva, V. K. Joshi, & P. S. Panesar (Eds.), *Science and Technology of Fruit Wine Production* (pp. 1-72). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800850-8.00001-6>
- Jung, S., Ghoul, M., de Lamballerie-Anton, M., (2003) Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat, *Food Science and Technology*, 36(6), 625-631 [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00082-3)
- Kajszczak, D., Zaklos-Szyda, M., & Podsedek, A. (2020). *Viburnum opulus* L.-A Review of Phytochemistry and Biological Effects. *Nutrients*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/nu12113398>
- Kasemsumran, S., Boondaeng, A., Ngowsuwan, K., Jungtheerapanich, S., Apiwatanapiwat, W., Janchai, P., Meelaksana, J., & Vaithanomsat, P. (2022). Simultaneous Monitoring of the Evolution of Chemical Parameters in the Fermentation Process of Pineapple Fruit Wine Using the Liquid Probe for Near-Infrared Coupled with Chemometrics. *Foods*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/foods11030377>
- Koca, S. (2009). *Kayseri ilinde gilaboru bitkisi (Viburnum opulus L.) üzerinde bulunan Arthropoda türlerinin belirlenmesi* (Publication Number 237491) [Yüksek Lisans, Selçuk Üniversitesi].
- Li, H., Guo, A., & Wang, H. (2008). Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry*, 108(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.065>
- Lisanti, M. T., Blaiotta, G., Nioi, C., & Moio, L. (2019). Alternative Methods to SO₂ for Microbiological Stabilization of Wine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), 455-479. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12422>
- Matei, F. (2017a). Technical Guide for Fruit Wine Production. In M. R. Kosseva, V. K. Joshi, & P. S. Panesar (Eds.), *Science and Technology of Fruit Wine Production* (pp. 663-703). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800850-8.00014-4>
- Matei, F., & Kosseva, M. R. (2017b). Chapter 2 - Microbiology of Fruit Wine Production. In M. R. Kosseva, V. K. Joshi, & P. S. Panesar (Eds.), *Science and Technology of Fruit Wine Production* (pp. 73-103). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800850-8.00002-8>
- Mok, C., Song, K.-T., Park, Y.-S., Lim, S., Ruan, R., & Chen, P. (2006). High Hydrostatic Pressure Pasteurization of Red Wine. *Journal of Food Science*, 71(8), M265-M269. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00145.x>
- Ozkan, G., Stübler, A.-S., Aganovic, K., Dräger, G., Esatbeyoglu, T., & Capanoglu, E. (2021). Retention of polyphenols and vitamin C in cranberrybush purée (*Viburnum opulus*) by means of non-thermal treatments. *Food Chemistry*, 360, 129918. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129918>

Polat, M., Mertoglu, K., & Eskimez, İ. (2021). Physico-Chemical Characteristics of Some Gilaburu (*Viburnum Opulus* L.) Genotypes. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(1), 51-55. <https://doi.org/10.31015/jaefs.2021.1.7>

Qin, Y., Xu, H., Sun, J., Cheng, X., Lei, J., Lian, W., Han, C., Huang, W., Zhang, M., & Chen, Y. (2024). Succession of microbiota and its influence on the dynamics of volatile compounds in the semi-artificial inoculation fermentation of mulberry wine. *Food Chemistry*, 421, 112223. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.112223>

Regecová, I., Semjon, B., Jevinová, P., Očenáš, P., Výrostková, J., Šuláková, L., Nosková, E., Marcinčák, S., & Bartkovský, M. (2022). Detection of microbiota during the fermentation process of wine in relation to the biogenic amine content. *Foods*, 11(19), 3061. <https://doi.org/10.3390/foods11193061>

Sagdic, O., Ozturk, I., Yapar, N., & Yetim, H. (2014). Diversity and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from gilaburu, a traditional Turkish fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit drink. *Food Res Int*, 64, 537-545. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.045>

Sannino, C., Francesca, N., Corona, O., Settanni, L., Cruciata, M., & Moschetti, G. (2013). Effect of the natural winemaking process applied at industrial level on the microbiological and chemical characteristics of wine. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 116(3), 347-356. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.03.005>

Santos, M. C., Nunes, C., Cappelle, J., Goncalves, F. J., Rodrigues, A., Saraiva, J. A., & Coimbra, M. A. (2013a). Effect of high pressure treatments on the physicochemical properties of a sulphur dioxide-free red wine. *Food Chem*, 141(3), 2558-2566. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.022>

Santos, M. C., Nunes, C., Rocha, M. A. M., Rodrigues, A., Rocha, S. M., Saraiva, J. A., & Coimbra, M. A. (2013b). Impact of high pressure treatments on the physicochemical properties of a sulphur dioxide-free white wine during bottle storage: Evidence for Maillard reaction acceleration. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20, 51-58. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.07.001>

Sevinir, N. B. (2018). *Yüksek hidrostatik basınç ile geleneksel badem ezmesinin raf ömrünün uzatılması*, (Tez No:539881) Yüksek Lisans, Trakya Üniversitesi, <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/TezGoster?key=as2oTjW5jfr9IKSvmCdJYonY3suko4b84lAMYpYTWg4sELlqiF0P8iNTnwliLmKu>

ter Steeg, P. F., Hellemons, J. C., & Kok, A. E. (1999). Synergistic actions of nisin, sublethal ultrahigh pressure, and reduced temperature on bacteria and yeast. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(9), 4148–4154.

Tian Y., Huang J., Xie T., Huang L., Zhuang W., Zheng Y., Zheng B., (2016), Oenological characteristics, amino acids and volatile profiles of Hongqu rice wines during pottery storage: Effects of high hydrostatic pressure processing. *Food Chemistr*. 203:456–64. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.02.116

Tonello, C., Largeteau, A., Demazeau, G., & Lonvaud-Funel, A. (1996). Les applications éventuelles des hautes pressions en oenologie. *Revue française d'oenologie*(161), 13-16.

Ünsal, P. (2022). *Gilaburu meyvesinden fenolik bileşiklerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunda işlem parametrelerinin optimize edilmesi ve ekstraktların enkapsülasyonu*, (Tez No: 723258) Yüksek Lisans, Süleyman Demirel Üniversitesi.

https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/TezGoster?key=CG8WvdvxxJP04Unr7Yecf9pOIwHpWDzc7XOEseqE-sM0KHPajO_95Nq4y37IMu4_

van Wyk, S., Farid, M. M., & Silva, F. V. M. (2018). SO₂, high pressure processing and pulsed electric field treatments of red wine: Effect on sensory, *Brettanomyces* inactivation and other quality parameters during one year storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 204-211. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.016>

van Wyk, S., Hong, L., & Silva, F. V. M. (2021). Non-Thermal High Pressure Processing, Pulsed Electric Fields and Ultrasound Preservation of Five Different Table Wines. *Beverages*, 7(4).

Velic, D., Velic, N., Amidzic Klaric, D., Klaric, I., Petravic Tominac, V., Kosmerl, T., & Vidrih, R. (2018). The production of fruit wines – a review. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 10(2), 279-290. <https://doi.org/10.17508/cjfst.2018.10.2.19>

Velioglu, Y. S., Ekici, L., & Poyrazoglu, E. S. (2006). Phenolic composition of European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) berries and astringency removal of its commercial juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(9), 1011-1015. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01142.x>

Wang, Y., Hu, Z., Wang, B., Liao, J., & Zhang, M. (2022). Non-thermal Microbial Inactivation of Honey Raspberry Wine Through the Application of High-Voltage Electrospray Technology. *Food and Bioprocess Technology*, 15(1), 177-189. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02755-3>

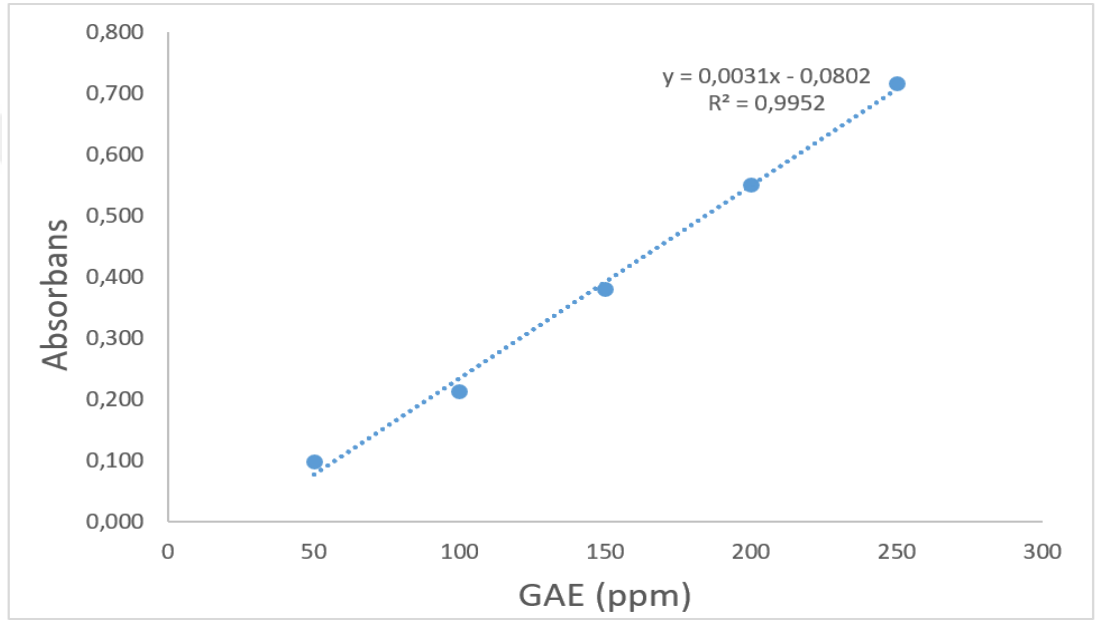
Yang, H., Cai, G., Lu, J., & Gómez Plaza, E. (2021). The production and application of enzymes related to the quality of fruit wine [Review]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(10), 1605-1615. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1763251>

Yapar, N. (2008). *Geleneksel olarak fermente edilmiş gilaburu (Viburnum opulus L.) meyvesinin suyundan izole edilen laktik asit bakterilerinin endüstriyel gilaburu suyu üretiminde kullanım olanakları* [Erciyes Üniversitesi].

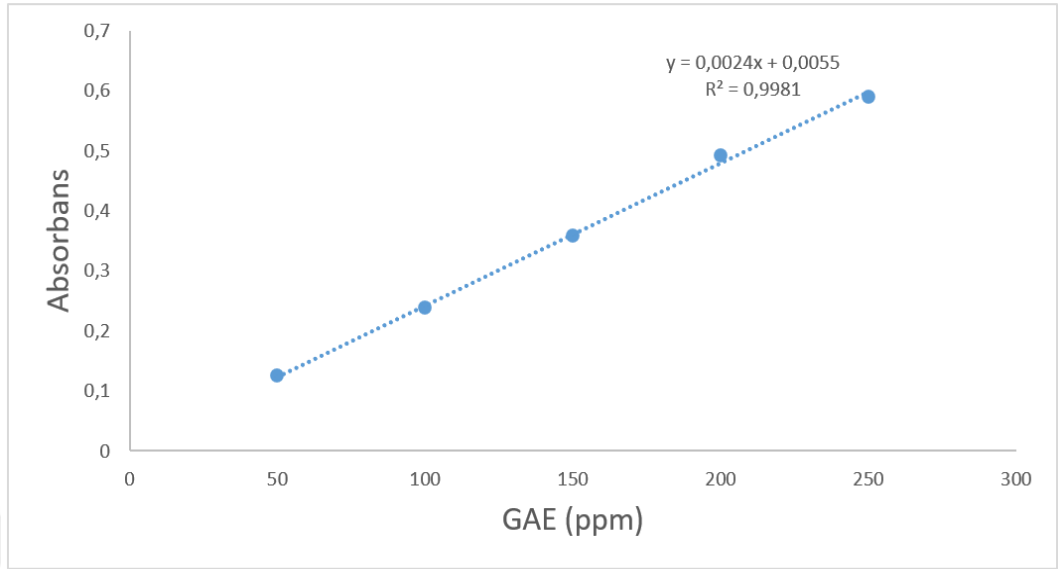
Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., Gump, B. H., & Nury, F. S. (1999). Laboratory Procedures. In B. W. Zoecklein, K. C. Fugelsang, B. H. Gump, & F. S. Nury (Eds.), *Wine Analysis and Production* (pp. 310-516). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6967-8_20

EKLER

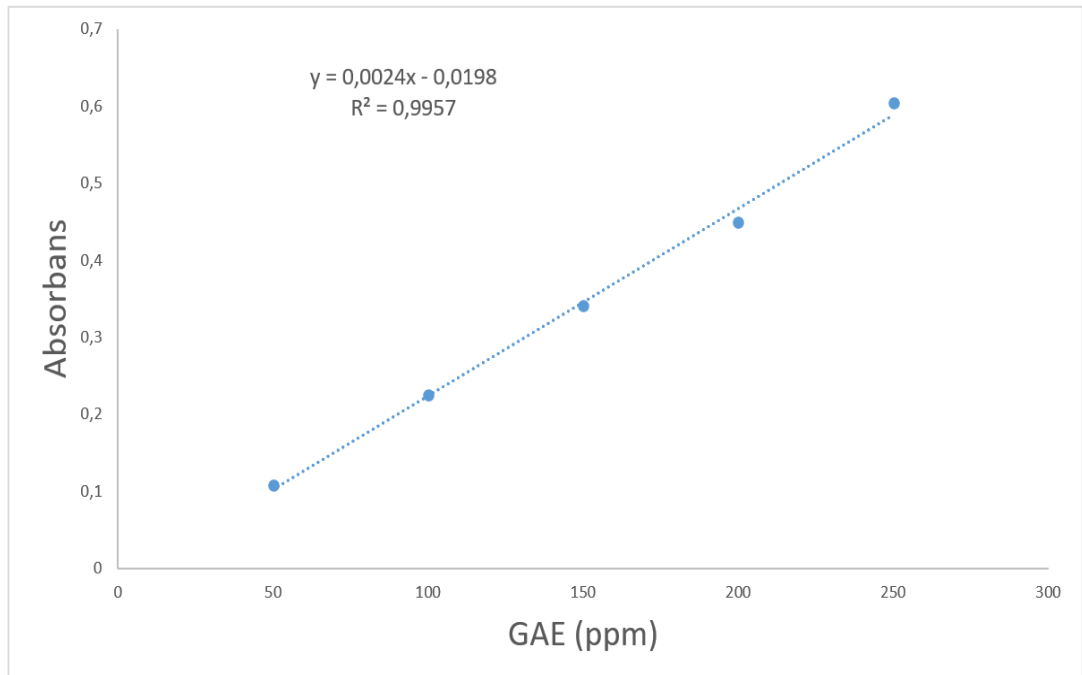
Ek 1. Toplam fenolik madde tayini 0. Gün gallik asit kalibrasyon eğrisi.



Ek 2. Toplam fenolik madde tayini 20. Gün gallik asit kalibrasyon eğrisi.



Ek 3. Toplam fenolik madde tayini 40. Gün gallik asit kalibrasyon eğrisi.



Ek 4. Gilaburu şarabı duyuşal analiz puanlama testi formu.

Gilaburu Şarabı Duyusal Analiz Puanlama Testi Formu						
Panelistin Adı – Soy Adı:				Tarih:		
				Saat:		
Taraşınıza sunulmuş örnekleri kriterlerine göre, 1 en düşük 9 en yüksek olacak şekilde puanlayınız.						
	Renk	Berraklık	Koku-Aroma	Asitlik-ekşilik	Alkol sertliği	Tat – genel izlenim
401						
176						
268						
574						
805						
719						
247						
813						
520						
964						

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hüseyin Can AYÇİÇEK

Eğitim Durumu

Lisans : Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, (2017 – 2021)

Lisans : Anadolu Üniversitesi, İşletme Fakültesi, İşletme Bölümü, (2018 - 2022)

Yüksek Lisans : Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2021 – 2024)