

## KARALAHNA ŞARAPLARININ FENOLİK BİLEŞENLERİ ÜZERİNE FERMANTASYON TEKNİĞİ VE ŞİŞEDE DEPOLAMANIN ETKİSİ

Burcu ŞİŞLİ<sup>1</sup>, Nesrin Merve ÇELEBİ UZKUÇ<sup>1</sup>,  
Aslı BAYHAN<sup>2</sup>, Ayşegül KIRCA TOKLUCU<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale, Türkiye  
<sup>2</sup>Vinero Bağcılık, Kumköy, Eceabat, Çanakkale, Türkiye

Geliş / Received: 05.10.2022; Kabul / Accepted: 30.12.2022; Online baskı / Published online: 19.01.2023

Şişli, B., Çelebi-Uzkuç, N.M., Bayhan, A., Kırca-Toklucu, A. (2023). Karalahna şaraplarının fenolik bileşenleri üzerine fermantasyon tekniği ve şisede depolamanın etkisi. *GIDA* (2023) 48 (1) 130-143 doi: 10.15237/gida.GD22095

Şişli, B., Çelebi-Uzkuç, N.M., Bayhan, A., Kırca-Toklucu, A. (2023). Effect of fermentation technique and bottle storage on the phenolic components of Karalahna wines. *GIDA* (2023) 48 (1) 130-143 doi: 10.15237/gida.GD22095

### ÖZ

Bu çalışmada, ticari maya ve spontan fermantasyon teknikleri ve 6 ay şisede depolamanın Karalahna şaraplarının fenolik madde profilleri ve renk özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Ticari maya fermantasyonu ile elde edilen şarapların toplam monomerik antosiyanin miktarının, spontan fermantasyonla üretilen şaraplara göre istatistiksel açıdan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Malvidin-3-glikozit konsantrasyonunun, alkol fermantasyonu sonunda ticari maya ile üretilen örneklerde yaklaşık %35 daha fazla olduğu belirlenmiştir. Şarapların fenolik bileşik kompozisyonu da uygulanan fermantasyon tekniğine bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Genel olarak, ticari maya ile üretilen şaraplarda fenolik bileşiklerin konsantrasyonlarının spontan fermantasyonla üretilen şaraplara kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Depolama süreci sonunda monomerik antosiyaninlerin her iki fermantasyon tekniğinde de yaklaşık %70 düzeyinde azaldığı belirlenirken, şarapların toplam fenolik madde miktarlarında istatistiksel açıdan bir fark görülmemiştir.

**Anahtar kelimeler:** Karalahna, kırmızı şarap, antosiyanin, fenolik, renk

## EFFECT OF FERMENTATION TECHNIQUE AND BOTTLE STORAGE ON THE PHENOLIC COMPONENTS OF KARALAHNA WINES

### ABSTRACT

In this study, the effects of commercial yeast and spontaneous fermentation techniques and 6 months of storage in bottles on the phenolic profile and color properties of Karalahna wines were investigated. It was determined that the total monomeric anthocyanin content of wines produced by commercial yeast fermentation was statistically higher than the wines produced by spontaneous fermentation. The concentration of malvidin-3-glycoside was found to be approximately 35% higher in samples produced with commercial yeast at the end of alcoholic fermentation. The phenolic composition of wines also changed depending on the fermentation technique. In general,

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: aysegulkirca@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 0018-20061

☎: (+90) 286 218 0541

Burcu Şişli; ORCID no: 0000-0003-4888-2383

Nesrin Merve Çelebi Uzkuç; ORCID no: 0000-0001-8822-7864

Aslı Bayhan; ORCID no: 0000-0002-7867-1950

Ayşegül Kırca Toklucu; ORCID no: 0000-0001-9293-9063

concentrations of phenolic compounds were found to be higher in wines produced with commercial yeast compared to spontaneously fermented wines. At the end of the storage, it was determined that monomeric anthocyanins were reduced by approximately 70% in both fermentation techniques, while there was no statistical difference in the total phenolic content of the wines.

**Keywords:** Karalahna, red wine, anthocyanin, phenolic, color

### GİRİŞ

Fenolik bileşikler, kırmızı şaraplarda renk, burukluk ve acılıktan sorumlu olup, kaliteyi etkileyen en önemli unsurlardan biridir (Ribéreau-Gayon vd., 2006). Kardiyovasküler hastalıklara ve kansere karşı etkileri sebebiyle fenoliklerce zengin şaraplara olan ilgi daha fazladır (Dell'Agli vd., 2004). Kırmızı şarapta renk, fenolik bileşikler olan antosiyaninler ve türevlerinden ileri gelmekte olup, en önemli kalite karakteristiklerinden biridir (Busse-Valverde vd., 2013). Antosiyaninler üzüm kabuklarından, kırmızı şarap üretimi sırasında maserasyon ve mayşe fermantasyonu işlemi ile şaraba geçmektedir. Üzümlerin antosiyanin kompozisyonu çeşide, bağcılık uygulamalarına, iklim gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Caridi vd., 2017). Kırmızı şaraplardaki temel antosiyaninler; malvidin-3-glukozit, siyanidin-3-glukozit, peonidin-3-glukozit, petunidin-3-glukozit ve delfinidin-3-glukozittir. Bunlar arasında malvidin-3-glukozit hâkim antosiyanin olup, konsantrasyonu toplam antosiyaninlerin %90'ına kadar ulaşabilmektedir (Ribéreau-Gayon vd., 2006). Genç şaraplarda kırmızı renk monomerik antosiyaninlerden ileri gelirken, olgunlaşma ile beraber daha stabil polimerik bileşikler oluşmaktadır. Monomerik antosiyaninler stabil olmayıp, oksidasyona karşı oldukça hassastır. Şarap üretimi sırasında ve olgunlaşma süreciyle birlikte, monomerik antosiyaninler kopigmentasyon, flavan-3-oller (kateşin, epikateşin) ve proantosiyanidinlerin polimerizasyonu ve yeni pigmentlerin oluşumu gibi çeşitli reaksiyonlara dahil olurlar. Böylece, genç şaraptaki kırmızı-mor renk tonları, olgun şarapların kırmızı-turuncu rengine evrilmektedir (Caridi vd., 2017).

Şarabın fenolik profili, üzümün çeşidine ve bağcılık uygulamalarına göre değişebilmekle beraber, üretim teknikleri ve kullanılan maya seçimi gibi işlemler ile iyileştirilebilmektedir (Lesko vd., 2014; Ribéreau-Gayon vd., 2006). Mayaların yapısında bulunan mannoproteinler,

şarap fenolikleri ile birleşerek renk stabilitesini artırabilmekte ve tanenlerin burukluk hissini azaltabilmektedir (Escot vd., 2001). Bu mekanizma, özellikle antosiyaninler ve maya hücre duvarları arasında fiziksel etkileşimle ve adsorpsiyon yoluyla gerçekleşebilmektedir (Caridi vd., 2017).

Şarap üretimi, teknolojik özellikleri belli olan seçilmiş saf maya suşları kullanılarak yapılabildiği gibi, endojen mikroflora ile spontan olarak da gerçekleştirilebilmektedir. Spontan fermantasyon, yerel florada bulunan *Saccharomyces* ve *Saccharomyces* dışındaki mayaların farklı suşları tarafından gerçekleştirilen karmaşık mikrobiyal bir süreçtir. Fermantasyonda faaliyet gösteren maya tür ve suşları elde edilen şarabın karakteristik aroma profili üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Blazquez Rojas vd., 2012; Carrascosa vd., 2012; Gammacurta vd., 2014; Takush & Osborne, 2012; Varela vd., 2009). Antosiyaninler ve şarabın diğer fenolik bileşikleri de fermantasyonda yer alan maya tür ve suşlarına bağlı olarak değişebilmekte, mayalar daha stabil pigmentlerin oluşumunda etkili olabilmektedir (Carew vd., 2013; Blazquez Rojas vd., 2012). Maya hücre duvarlarına bağlanan antosiyaninler, fermantasyon sonunda tortu ile birlikte uzaklaşarak kaybedilmektedir. Ayrıca, farklı maya suşlarının hücre duvarı yapısına bağlı olarak, antosiyanin adsorpsiyonunda da farklılık gösterdikleri belirlenmiştir (Morata vd., 2016). Daha detaylı araştırmalar, açillenmiş antosiyaninlerin açillenmemiş antosiyaninlere göre daha güçlü bir şekilde adsorbe edildiğini göstermektedir. Öte yandan, daha yüksek metoksilasyon derecesine sahip antosiyaninlerin daha yüksek hidroksillenmiş antosiyaninlere göre daha güçlü adsorbe olduğu saptanmıştır (He vd., 2012). Metoksilasyon derecesi, antosiyanini daha apolar hale getirir ve stabilitesini artırır (Morata vd., 2019). Bu da adsorpsiyon mekanizmasının hidrofobik bir etkileşim olduğunu göstermektedir (He vd., 2012). Fermantasyon sırasında, mayaların etanol üretmesi nedeniyle üzüm şirasının

polaritesi değişmekte ve antosiyaninlerin çözünürlüğünün azalmasıyla renk kayıpları meydana gelebilmektedir. Ayrıca, antosiyaninlerin polimerizasyonu da renk maddelerinin çökmesine yol açabilmektedir (Morata vd., 2016).

Şarap, üretimin son aşamasında şişelenir ve tüketileceği zamanki kalitesi de bu aşamadaki özelliklerine ve depolama koşullarına bağlıdır. Bu nedenle, depolama sırasında genel olarak fenolik bileşikler ve özeldede antosiyaninler, flavonoller, flavanoller ve fenolik asitler kırmızı şarabın renk stabilizasyonunda anahtar rol oynarlar (García-Falcón vd., 2007). Olgunlaşma sürecinde şarap uçucu ve fenolik bileşikleri; hidroliz, esterleşme, polimerizasyon vb. reaksiyonlardan dolayı yavaş yavaş değişikliklere uğrarlar (Echave vd., 2021). Şarabın bileşimi ve kalitesini belirleyen bu reaksiyonlar, şişeleme sırasındaki başlangıç bileşimi, kükürtdioksit (SO<sub>2</sub>) seviyesi, depolama koşulları, depolama sıcaklığı, yıllandırma süresi, ışığa maruz kalma ve kapatma türü gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu nedenle, şarabın bileşimi ve kalitesi için maya suşu ve şişede olgunlaştırmanın önemi göz önüne alındığında, bu iki faktörün birlikte incelenmesi gereklidir (Garde-Cerdán vd., 2022).

Karalahna Çanakkale'ye özgü kırmızı şaraplık bir üzüm çeşididir. Bölgede uzun yıllar kanyaklık üzüm olarak değerlendirilmiş ve koyu yakut rengi ile şarapların rengini güçlendirmek amacıyla kullanılmıştır (Anlı, 2006). Literatürde, Karalahna şarabının genel kalite karakteristikleri üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmakla birlikte (Doyuran ve Güven, 2006; Ataol, 2012), fermantasyon tekniği ve depolamanın antosiyanin profili üzerine etkileri hakkında bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yakın zamanda ekibimizin gerçekleştirdiği ve fermantasyon tekniğinin Karalahna şarabının uçucu bileşen kompozisyonu ve duyuşal özelliklerine etkisinin ortaya konulduğu bir çalışmamız literatürde yer almaktadır (Çelebi Uzkuç vd., 2020).

Bu çalışmanın amacı, yerli üzüm çeşidimiz Karalahna'dan spontan ve saf maya fermantasyonu yoluyla üretilen kırmızı şarapların

genel özellikleri, toplam monomerik antosiyanin ve toplam fenolik madde içerikleri ile antosiyanin ve renksiz fenolik madde profillerinin karşılaştırılması ve 6 ay şişede depolama süresince bu bileşiklerde meydana gelen değişimlerin belirlenmesidir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Bu çalışmada Bozcaada'ya özgü kırmızı bir üzüm çeşidi olan Karalahna (*Vitis vinifera* Linné subsp. *vinifera*) kullanılmıştır. Üzümler, Bozcaada'da bulunan bağlardan uygun hasat zamanında elle hasat edilerek şarap işletmesine (Vinero Şarap; Eceabat) getirilmiş ve burada kırmızı şaraba işlenmiştir. Karalahna şarasının briks değeri 25.2, pH değeri 3.15 ve titrasyon asitliği değeri 6.64 g/L olup, daha detaylı özellikleri Çelebi Uzkuç vd. (2018)'de sunulmuştur. Ticari maya fermantasyonunda *S. cerevisiae* suşu kullanılmıştır (Zymaflore FX10, Laffort, Fransa). Şarapların kükürtlenmesi amacıyla potasyum metabisülfid tuzunun (K<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>) %5'lik çözeltisi kullanılmıştır.

### Şarap Üretimi

Çanakkale Bozcaada'da bulunan "Talay Şarapçılık" bünyesine bağlı bağlardan elle hasat edilerek şarap işletmesine (Vinero Şarap; Eceabat) getirilen Karalahna üzümleri, burada kırmızı şaraba işlenmiştir. Üretimde spontan fermantasyon ve saf maya fermantasyonu olmak üzere iki yöntem kullanılmıştır. Her bir yöntem için üretim 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Üzümler önce saplarından ayrılarak mayşeye işlenmiştir. Ardından mayşe 25 L'lik cam damacanalara doldurulup kükürtleme yapılmış (15 mg/L) ve 7-8°C'de 4 gün süreyle soğuk maserasyona bırakılmıştır. Spontan fermantasyon yöntemi ile üretilen şaraplarda, soğuk maserasyonun sonunda sıcaklık yükseltilerek fermantasyonun başlaması sağlanmıştır. Saf maya fermantasyonunda ise mayşeye 20 g/hL düzeyinde ticari maya (Zymaflore FX10 Laffort) inokulasyonu yapılmıştır. Sonraki aşamalar her iki yöntemde de aynı şekilde devam etmiştir. Mayşe fermantasyonunda oluşan karbondioksitin kabuk ve çekirdekleri kabın yüzeyine taşınmasıyla meydana getirdiği katman, günde iki kez kırılarak homojen hale getirilmiştir. Günlük olarak sıcaklık

ve yoğunluk değerleri takip edilmiştir. Yoğunluk değeri 1000 g/L ve altına düştüğünde mayşe fermantasyonuna son verilmiş ve presleme ile cibre mayşeden ayrılmıştır. Fermantasyonun tamamlanmasına ise indirgen şeker tayini sonuçlarına göre karar verilmiştir. Alkol fermantasyonu bitiminde preslenen şaraplar, malolaktik fermantasyonun gerçekleşmesi için 5 litrelik hava kilitli damacanalara aktararak 18-20°C sıcaklıkta bekletilmiştir. Malolaktik fermantasyonun takibi kâğıt kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir (Boido ve ark., 1999). Şaraplar malolaktik fermantasyon aşamasından sonra serbest kükürt düzeyi 25 g/L olacak şekilde kükürtlenerek, 35 cl'lik koyu renkli şarap şişelerine doldurulup, dezenfekte edilen aglomere mantarlar ile kapatılmıştır. Şişelenen örnekler soğutmalı inkübatöre (Sanyo MIR-153, Japonya) alınarak, yaklaşık olarak 6 ay süreyle 13°C'de depolanmıştır.

Çalışmada, mayşe fermantasyonunun bitiminde alınan örnek "ham şarap"; şişede 6 ay olgunlaşma sürecinin ardından alınan örnek ise "genç şarap" olarak değerlendirilmiştir. Şarap örnekleri analize kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

### Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Şırada pH, toplam asitlik, kurumadde ve indirgen şeker analizleri yapılmıştır. Şaraplarda ise bu analizlerin yanında alkol, serbest ve toplam kükürt dioksit miktarı, toplam fenolik madde, toplam antosiyanin, renk yoğunluğu ve renk tonu değerleri ile HPLC'de fenolik madde kompozisyonu belirlenmiştir.

### Toplam Monomerik Antosiyanin (TMA) Miktarı

Şıraların TMA içeriği, Fuleki ve Francis (1968) tarafından önerilen ve Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından geliştirilen pH-diferansiyel yöntemine göre belirlenmiştir. Örneklerin TMA miktarı malvidin-3-glikozit cinsinden "mg/L" olarak hesaplanmıştır.

### Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı

Şıra örneklerinde TFM miktarı Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Yöntem, fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu

ayıracını indirgemesi ve oluşan mavi rengin spektrofotometrede ölçümü prensibine dayanmaktadır. TFM miktarını belirleyebilmek için hazırlanan kalibrasyon eğrisinden ( $R^2=0.991$ ) yararlanılmış ve sonuçlar gallik asit cinsinden "mg/L" olarak verilmiştir.

### Renk Yoğunluğu ve Renk Tonu Değerleri

Şarapların renk yoğunluğu ve renk tonu değerleri, örneklerin 420 nm, 520 nm ve 620 nm dalga boyundaki absorbans değerlerinin saf suya karşı ölçümüne dayalı olarak hesaplanmıştır (Ribéreau-Gayon vd., 2006).

$$\text{Renk yoğunluğu} = \text{OD 420} + \text{OD 520} + \text{OD 620} \quad (1)$$

$$\text{Renk tonu} = \text{OD 420} / \text{OD 520} \quad (2)$$

### Antosiyanin ve Renksiz Fenolik Madde Kompozisyonu

Şarap örneklerinin antosiyanin ve renksiz fenolik madde dağılımları Çelebi Uzkuç vd., (2022)'de açıklanan yöntemlere göre HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile belirlenmiştir. Analizde ters faz (reverse phase) C18 kolonu (250 x 4.6 mm, 5 µm; Phenomenex Inc. Los Angeles, CA, ABD) ve diyot dizilim dedektör (DAD) kullanılmıştır.

Elde edilen pikler, standart maddelerin geliş süresi ve dedektörde elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılması ile tanımlanmıştır. Bu amaçla 4 adet antosiyanin standardı (Fluka, MO, ABD) kullanılmıştır. Bunlar; malvidin-3-glikozit (Mv-3-Glu,  $R^2=0.966$ ), peonidin-3-glikozit (Peo-3-Glu,  $R^2=0.999$ ), delfinidin-3-glikozit (Dp-3-Glu,  $R^2=0.999$ ), siyanidin-3-glikozittir (Cy-3-Glu,  $R^2=0.999$ ). Ayrıca, gallik asit ( $R^2=0.997$ ), (+) kateşin ( $R^2=0.999$ ), kafeik asit ( $R^2=0.985$ ), p-kumarik asit ( $R^2=0.989$ ) ve ferulik asit ( $R^2=0.999$ ) olmak üzere beş adet fenolik maddenin (Sigma, MO, ABD) dağılımları belirlenmiştir. Her bir fenolik madde standardı için en az 5 veriye dayalı olarak hazırlanan kalibrasyon eğrileri kullanılmıştır.

### İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen sonuçların karşılaştırılmasında IBM SPSS 22 yazılımından yararlanılarak, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır.

Parametrik olmayan veriler için Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

### Şarapların Genel Özellikleri

Karalahna üzümlelerinden spontan ve ticari maya fermentasyonu ile üretilen şarapların şişeleme öncesi (ham şarap, HM) ve şişede 6 ay olgunlaştırılması sonrasında (genç şarap, GŞ) saptanan genel fizikokimyasal özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi spontan ve ticari maya fermentasyonu ile elde edilen ham

ve genç şarapların alkol içerikleri %14.1-14.9 (v/v) arasında değişiklik göstermektedir. Fermentasyon tekniği şarapların alkol içeriği üzerinde bir farklılığa neden olmazken, 6 aylık depolama şarapların alkol içeriklerinin azalmasına neden olmuştur. Diğer yandan, fermentasyon tekniği ve 6 aylık depolama, şarapların pH ve asitlik değerleri üzerinde önemli bir farklılığa yol açmamıştır. Spontan fermentasyon ile elde edilen şaraplarda kalan indirgen şeker miktarının ise, ticari maya ile üretilen şaraba kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 1. Karalahna şaraplarının genel fiziksel ve kimyasal özellikleri

Table 1. Physical and chemical properties of Karalahna wines

| Özellikler<br>Parameters  | Spontan Fermantasyon<br><i>Spontaneous fermentation</i> |                          | Ticari Maya Fermantasyonu<br><i>Commercial yeast fermentation</i> |                          |
|---|---|--------------------------|---|--------------------------|
|   | HŞ  | GŞ                       | HŞ  | GŞ                       |
| Yoğunluk (g/mL)<br><i>Density (g/mL)</i>                            | 0.999±0.001 <sup>a</sup>                                | 0.999±0.001 <sup>a</sup> | 0.998±0.001 <sup>a</sup>  | 0.999±0.001 <sup>a</sup> |
| Alkol (‰)<br><i>Alcohol (‰)</i>                                     | 14.9±0.17 <sup>a</sup>                                  | 14.3±0.1 <sup>b</sup>    | 14.9±0.2 <sup>a</sup>   | 14.1±0.1 <sup>b</sup>    |
| pH<br><i>pH</i>   | 3.13±0.01 <sup>a</sup>                                  | 3.12±0.0 <sup>a</sup>    | 3.12±0.01 <sup>a</sup>  | 3.13±0.01 <sup>a</sup>   |
| Toplam asitlik* (g/L)<br><i>Total acidity* (g/L)</i>                | 10.42±0.29 <sup>a</sup>                                 | 10.16±0.09 <sup>a</sup>  | 8.86±0.64 <sup>b</sup>  | 10.21±0.28 <sup>a</sup>  |
| Uçar asitlik** (g/L)<br><i>Volatile acidity** (g/L)</i>             | 0.60±0.01 <sup>a</sup>                                  | 0.61±0.0 <sup>a</sup>    | 0.60±0.01 <sup>a</sup>  | 0.62±0.01 <sup>a</sup>   |
| İndirgen şeker (g/L)<br><i>Reducing sugar (g/L)</i>                 | 4.74±0.06 <sup>a</sup>                                  | 4.10±0.07 <sup>b</sup>   | 3.10±0.06 <sup>c</sup>  | 2.60±0.31 <sup>d</sup>   |
| Serbest SO <sub>2</sub> (mg/L)<br><i>Free SO<sub>2</sub> (mg/L)</i> | 16.0±0.8 <sup>b</sup>                                   | 16.1±0.8 <sup>b</sup>    | 15.0±0.5 <sup>b</sup>   | 18.3±0.7 <sup>a</sup>    |
| Toplam SO <sub>2</sub> (mg/L)<br><i>Total SO<sub>2</sub> (mg/L)</i> | 38.0±1.2 <sup>a</sup>                                   | 31.2±1.8 <sup>b</sup>    | 36.0±2.2 <sup>a</sup>   | 29.8±0.5 <sup>b</sup>    |

Sonuçlar, ortalama±standart hata olarak verilmiştir. \*Tartarik asit cinsinden, \*\*Asetik asit cinsinden. HŞ: Alkol fermentasyonu bitimi ham şarap, GŞ: 6 ay şişede depolama sonunda genç şarap.

Results were given as mean±standard error. \*Expressed as tartaric acid, \*\*Expressed as acetic acid. HŞ: Wines at the end of the alcoholic fermentation, GŞ: Young wines at the end of 6 months of bottle storage.

*Saccharomyces* dışındaki mayalar ve bazı yabancı *S. cerevisiae* suşları spontan fermentasyon sırasında yüksek düzeyde uçar asit üretebilmektedirler (Zhao vd., 2021). Ancak, çalışmamızda spontan ve ticari maya fermentasyonu ile elde edilen genç Karalahna şaraplarının uçar asit değerleri arasında bir fark görülmemiş olup, saptanan değerler kabul edilebilir seviye olan 0.72 g/L asetik asit değerinin altında bulunmuştur (Ribéreau-Gayon vd., 2006). Ham ve genç şarapların serbest kükürtdioksit

içerikleri 15.0 ile 18.3 mg/L arasında, toplam kükürtdioksit içerikleri ise 29.8 ile 38.0 mg/L arasında değişiklik göstermiştir. Bilindiği gibi, şarap üretiminde hastalık ve kusurların önlenmesinde kükürtdioksitin önemli bir rolü vardır. Kırmızı şaraplarda 10-20 mg/L düzeyinde serbest SO<sub>2</sub> bulunmasının yeterli olduğu belirtilmektedir (Cabaroğlu ve Canbaş, 1993).

## Karalahna şaraplarının fenolik bileşenleri ve renk özellikleri

### Karalahna Şaraplarının Toplam Monomerik Antosiyenin ve Toplam Fenolik Madde Miktarları ile Renk Özellikleri

Spontan fermantasyon ve ticari maya fermantasyonu ile üretilen Karalahna şaraplarının

alkol fermantasyonu bitimi ve 6 ay şışede olgunlaşma süreci sonundaki toplam monomerik antosiyenin ve toplam fenolik madde içerikleri ile renk yoğunluğu ve renk tonu değerleri Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Karalahna şaraplarının spektrofotometrik özellikleri

Table 2. Spectrophotometric properties of Karalahna wines

| Özellikler<br>Parameters   | Şarap örnekleri<br>Wine samples | Spontan Fermantasyon<br>Spontaneous fermentation | Ticari Maya Fermantasyonu<br>Commercial yeast fermentation |
|--|---------------------------------|--|--|
| Toplam fenolik madde<br>Total phenolic content (mg/L)                      | HŞ                              | 2588.48±134.59 <sup>aA</sup>                     | 2852.42±81.03 <sup>aA</sup>                                |
|  | GŞ                              | 2358.48±47.57 <sup>aA</sup>                      | 3052.42±196.28 <sup>bA</sup>                               |
| Toplam monomerik antosiyenin<br>Total monomeric anthocyanin content (mg/L) | HŞ                              | 159.04±2.94 <sup>aA</sup>                        | 181.86±6.44 <sup>bA</sup>                                  |
|  | GŞ                              | 48.28±0.69 <sup>aB</sup>                         | 53.18±0.50 <sup>bB</sup>                                   |
| Renk yoğunluğu<br>Color intensity  | HŞ                              | 9.84±0.34 <sup>aA</sup>                          | 10.47±0.30 <sup>aA</sup>                                   |
|  | GŞ                              | 12.37±0.40 <sup>aB</sup>                         | 12.47±0.19 <sup>aB</sup>                                   |
| Renk tonu<br>Color hue   | HŞ                              | 0.55±0.0 <sup>aA</sup>                           | 0.65±0.04 <sup>aA</sup>                                    |
|  | GŞ                              | 0.73±0.0 <sup>aB</sup>                           | 0.70±0.0 <sup>bA</sup>                                     |

Sonuçlar, ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler o özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ( $P\leq 0.05$ ). Satırda küçük harfler, sütunda büyük harfler kullanılmıştır. HŞ: Alkol fermantasyonu bitimi ham şarap, GŞ: 6 ay şışede depolama sonunda genç şarap.

Results were given as mean±standard error. Different letters in the same row and the same column indicate that the wine samples are statistically different for that feature ( $P\leq 0.05$ ). Lowercase letters are used in the row and uppercase letters are used in the column. HŞ: Wines at the end of the alcoholic fermentation, GŞ: Young wines at the end of 6 months of bottle storage.

Karalahna üzümlerinden spontan ve saf maya fermantasyonu ile elde edilen kırmızı şarapların toplam monomerik antosiyenin miktarları sırasıyla 159.04 mg/L ve 181.86 mg/L olarak bulunmuştur. Benzer şekilde Ataol, (2012) Karalahna üzümlerinden spontan fermantasyon tekniği ile şarap üretimi gerçekleştirmiş ve fermantasyon sonunda ham şarapta toplam monomerik antosiyenin miktarını 153.9 mg/L olarak belirlemiştir. Literatürde Karalahna şarabı antosiyeninleri ile ilgili başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Diğer yandan, yerli üzüm çeşitlerimizden Boğazkere ve Öküzgözü üzümlerinden elde edilen kırmızı şarapların daha yüksek toplam monomerik antosiyenin içerdikleri (sırasıyla 212-409 mg/L ve 243-437 mg/L aralığında) belirlenmiştir (Miran, 2018). Başta üzüm çeşidi olmak üzere bağcılık uygulamaları, iklim koşulları ve şarap üretim tekniklerine bağlı

olarak kırmızı şarapta antosiyenin miktarı ve kompozisyonunun değişiklik gösterdiği bilinmektedir (He vd., 2012).

Fermantasyon tekniği karşılaştırıldığında, ticari maya fermantasyonu ile elde edilen kırmızı şarapların toplam monomerik antosiyenin miktarının, spontan fermantasyonla üretilen şaraplara göre istatistiksel açıdan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Diğer yandan, aynı proje kapsamında Cabernet sauvignon üzümlerinden benzer koşullarda kırmızı şarap üretimi de gerçekleştirilmiş ve çalışma sonucunda farklı olarak spontan teknikle üretilen Cabernet sauvignon şaraplarının ticari maya ile üretilen şaraplardan daha yüksek TMA içeriğine sahip olduğu saptanmıştır (Çelebi Uzkuç vd., 2022). Bu durum spontan fermantasyonda faaliyet gösteren maya suşların farklılığından kaynaklanabilmektedir. Nitekim önceki

çalışmamızda, Karalahna ve Cabernet sauvignon üzümünün spontan fermantasyonunun ilerleyen aşamalarında maya türlerinin dağılımlarının farklılık gösterdiği saptanmıştır (Çelebi Uzkuç vd., 2020). Şarap üretiminde rol oynayan maya tür ve suşları şarabın renk özelliklerini, fenolik profilini ve antioksidan gücünü değiştirebilmekte ve olgunlaşma sürecinde belirleyici rol alabilmektedir (Caridi vd., 2004, 2021; Ilieva vd., 2017). Örneğin, Martín-Gómez vd. (2021), spontan fermantasyon ile elde edilen kırmızı şarapların toplam fenolik bileşik içeriği ve antioksidan aktivite yönünden daha yüksek değerlere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bununla birlikte, araştırmacılar saf maya fermantasyonu ile üretilen kırmızı şarapların renk yoğunluğu ve antosiyanin konsantrasyonlarının spontan fermantasyona göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Altı ay şişede olgunlaşma süreci sonunda monomerik antosiyaninlerin her iki fermantasyon tekniği ile üretilen şaraplarda yaklaşık %70 düzeyinde azaldığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde Cabernet sauvignon şaraplarının 6 ay depolanması sonunda toplam monomerik antosiyaninlerdeki kaybın spontan fermantasyonda %52, ticari maya fermantasyonunda ise %60 olduğu belirlenmiştir (Çelebi Uzkuç vd., 2022). Marquez vd. (2014), Merlot, Syrah ve Tempranillo şaraplarının şişede depolama sürecinde antosiyanin kompozisyonunu araştırdıkları bir çalışmada, 6 ay sonunda monomerik antosiyaninlerde %80 ila %90 arasında azalma olduğunu saptamışlardır. García-Falcón vd. (2007) ise Mencía ve Brancellao kırmızı şaraplarında bir yıl şişede depolama aşamasında antosiyanin kaybını sırasıyla %72 ve %85 olarak tespit etmişlerdir. Depolama sırasında antosiyanin içeriğindeki azalmalar, monomerik bileşiklerin kademeli olarak daha kararlı oligomerlere veya polimerlere dönüşmesinden kaynaklanmaktadır (Monagas vd., 2006). Ticari maya fermantasyonu ile elde edilen ham şarapların toplam fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden 2852.4 mg/L, spontan fermantasyon ile elde edilen ham şarapların ise 2588.5 mg/L olarak belirlenmiştir. Diğer yandan Aksoy (2010), Karalahna şaraplarında toplam fenol konsantrasyonunu daha yüksek olarak (4285 mg/L) tespit etmiştir. Şarapların altı aylık

olgunlaşma sonucunda toplam fenolik madde miktarında aynı fermantasyon tekniği için istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilmemiştir. Ancak, ticari maya fermantasyon ile üretilen 6 aylık genç şaraplarda fenolik madde miktarı ham şaraba göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Caridi vd. (2004) iki farklı *S. cerevisiae* suşunun şarabın toplam fenol içeriğinde istatistiksel açıdan önemli ölçüde farklılık yarattığını tespit etmişlerdir. Kullandıkları suşlara göre şarapların toplam polifenol miktarları arasında %23 fark bulunduğu belirtilmiştir. Diğer yandan, başka bir çalışmada 4 farklı *S. cerevisiae* suşunun toplam polifenol indeksleri arasında önemli bir fark saptanmamıştır (Vernhet vd., 2020).

Renk yoğunluğu, kırmızı şarapta rengin doygunluğunun bir ifadesi olarak belirlenmekte olup, üzüm çeşidine göre bu değer 0.3-18 aralığında değişmektedir (Ribéreau-Gayon vd., 2006). Spontan fermantasyon yöntemi ile elde edilen Karalahna şaraplarının renk yoğunluğu değerleri 9.84, ticari fermantasyon yöntemi ile elde edilenlerin ise 10.47 olarak belirlenmiştir. Şarapların renk yoğunluğu değerlerinin fermantasyon tekniğinden etkilenmediği, ancak olgunlaşma sürecinde artış gösterdiği saptanmıştır. Bu durum, olgunlaşma sürecinde, antosiyaninler ile tanenlerin kondenzasyonu sonucu stabil pigmentlerin oluşumu ile açıklanabilmektedir (Carew vd., 2013). Benzer şekilde, Garde-Cerdán vd. (2022) Tempranillo üzümlerinden farklı *S. cerevisiae* suşları ile üretilen şarapların depolama süresince (6-9 ay) renk yoğunluğu değerlerinin artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Renk tonu ise, şaraplarda olgunlaşma veya oksidasyon göstergesi olarak yararlanılan bir kavramdır. Karalahna şaraplarının renk tonu değerleri incelendiğinde, fermantasyon tekniğine göre şarapların renk tonu değerlerinin değişmediği, ancak 6 aylık olgunlaşma sonunda özellikle spontan fermantasyonla elde edilen şaraplarda renk tonu değerlerinin artış gösterdiği saptanmıştır. Bu beklenen bir sonuçtur; çünkü depolama sürecinde şaraptaki antosiyaninlerin daha kompleks ve stabil pigmentler oluşturmak üzere kondenzasyona uğradığı veya oksidasyon sonucu degrade olduğu bilinmektedir (Morata vd., 2016).

**Karalahna Şaraplarının Antosiyanin Dağılımı ve Miktarı**

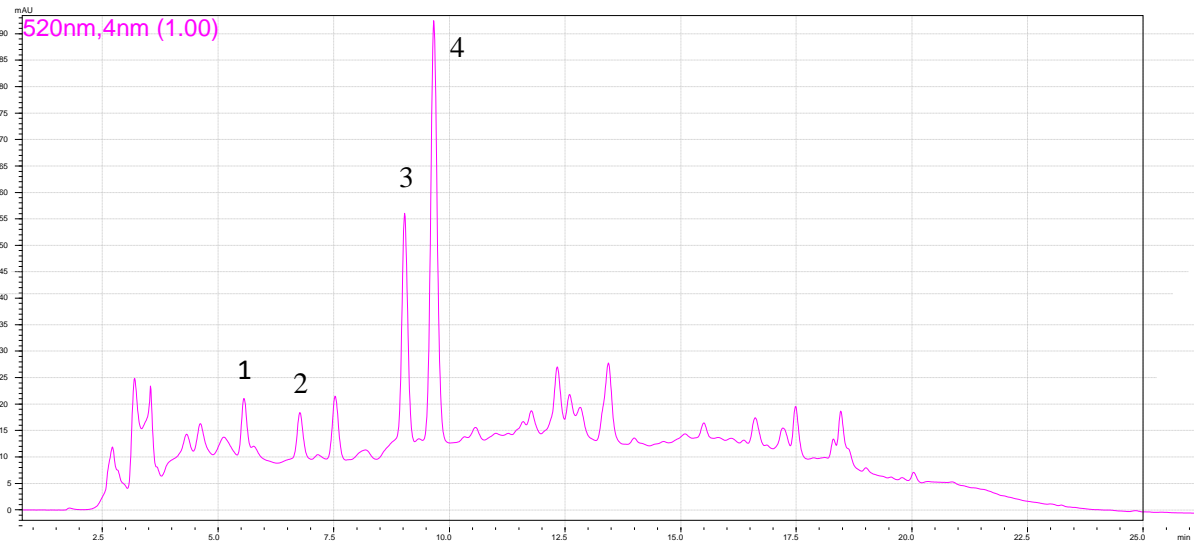
Karalahna şaraplarında malvidin-3-glikozit (mv-3-glu), peonidin-3-glikozit (pn-3-glu), delphinidin-3-glikozit (dp-3-glu) ve siyanidin-3-glikozit (cy-3-glu) olmak üzere dört adet antosiyanin belirlenmiş

olup, şarapların antosiyanin dağılımına ilişkin elde edilen sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. Ticari maya ile üretilen Karalahna şarabının antosiyanin dağılımına ait bir kromatogram (520 nm) ise Şekil 1'de görülmektedir.

Çizelge 3. Karalahna şaraplarının antosiyanin dağılımı ve konsantrasyonları (mg/L)  
Table 3. Distributions and concentrations of anthocyanins of Karalahna wines (mg/L)

| Özellik<br><i>Properties</i> | Şarap örnekleri<br><i>Wine samples</i> | Spontan Fermantasyon<br><i>Spontaneous fermentation</i> | Ticari Maya Fermantasyonu<br><i>Commercial yeast fermentation</i> |
|------------------------------|--|---|---|
| Dp-3-glu                     | HŞ                                     | 6.38±0.45 <sup>aA</sup>                                 | 9.77±0.51 <sup>bA</sup>   |
|                              | GŞ                                     | 1.14±0.03 <sup>aB</sup>                                 | 1.38±0.05 <sup>bB</sup>   |
| Cy-3-glu                     | HŞ                                     | 3.05±0.19 <sup>aA</sup>                                 | 4.81±0.26 <sup>bA</sup>   |
|                              | GŞ                                     | 0.71±0.03 <sup>aB</sup>                                 | 0.87±0.04 <sup>bB</sup>   |
| Peo-3-glu                    | HŞ                                     | 20.92±1.48 <sup>aA</sup>                                | 32.00±1.83 <sup>bA</sup>  |
|                              | GŞ                                     | 3.23±0.12 <sup>aB</sup>                                 | 4.03±0.19 <sup>bB</sup>   |
| Mv-3-glu                     | HŞ                                     | 54.97±2.96 <sup>aA</sup>                                | 74.55±2.90 <sup>bA</sup>  |
|                              | GŞ                                     | 23.09±0.19 <sup>aB</sup>                                | 24.39±0.34 <sup>aB</sup>  |

Sonuçlar, ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler o özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ( $P \leq 0.05$ ). Satırda küçük harfler, sütunda büyük harfler kullanılmıştır. HŞ: Alkol fermantasyonu bitimi ham şarap, GŞ: 6 ay şişede depolama sonunda genç şarap. Results were given as mean±standard error. Different letters in the same row and the same column indicate that the wine samples are statistically different for that feature ( $P \leq 0.05$ ). Lowercase letters are used in the row and uppercase letters are used in the column. HŞ: Wines at the end of the alcoholic fermentation, GŞ: Young wines at the end of 6 months of bottle storage.



Şekil 1. Karalahna şarabının antosiyanin dağılımı, 520 nm (GŞ-Ticari maya inoküle edilen örnek)

Figure 1. Anthocyanin distribution of Karalahna wine, 520 nm (GŞ-Commercial yeast inoculated sample)

1: dp-3-glu, 2: cy-3-glu, 3: peo-3-glu 4: mv-3-glu



Elde edilen sonuçlara göre Karalahna şaraplarında en yüksek konsantrasyona sahip olan antosiyanin malvidin-3-glikozit olarak belirlenmiştir. Mv-3-glu'ün üzüm ve şaraplarda hakim antosiyanin bileşiği olduğu bilinmektedir (Lingua vd., 2016). Mv-3-glu miktarı spontan ham şaraplarda 54.97 mg/L, ticari ham şaraplarda ise 74.55 mg/L olarak belirlenmiş ve aralarındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Mv-3-glu miktarının saf maya fermantasyonu ile elde edilen Cabernet sauvignon şaraplarında da yakın değerlerde (72.93 mg/L) olduğu saptanmıştır (Çelebi Uzkuç vd., 2022). Diğer yandan, bahsedilen çalışmada, spontan fermantasyonla elde edilen Cabernet sauvignon kırmızı şaraplarının TMA ve mv-3-glu miktarları ticari maya fermantasyonuna göre istatistiksel açıdan daha yüksektir. Farklı üzüm çeşitlerinden ticari maya ile elde edilen kırmızı şarapların antosiyanin kompozisyonları birbirine oldukça benzer bulunurken, spontan fermantasyon ile elde edilenlerin değişkenlik gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu sonuçtan yola çıkarak, spontan fermantasyonda faaliyet gösteren maya florasının antosiyanin profili üzerinde önemli olabileceği görülmektedir. Farklı maya tür ve suşlarının hücre duvarı yapılarına bağlı olarak, antosiyanin adsorpsiyonunda da farklılık gösterdikleri bilinmektedir. Morata vd. (2016), farklı mayalarla gerçekleştirdikleri bir çalışmada mayaların antosiyaninleri adsorbe etme yeteneklerinin ortalama %9.4 ile %11.9 arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Şişede 6 aylık olgunlaşma sonunda spontan fermantasyonla elde edilen Karalahna şaraplarında mv-3-glu miktarında %57.9; ticari fermantasyonla üretilenlerde ise %67.3 oranında azalma olduğu saptanmıştır. Marquez vd. (2014), Merlot, Syrah ve Tempranillo şaraplarında mv-3-glu konsantrasyonunun şişeleme öncesi 75-80 mg/L aralığında iken; 6 ay depolama sonunda %85-92 oranında azaldığını ortaya koymuşlardır. Alkol fermantasyonunun bitiminde peo-3-glu konsantrasyonu spontan ve ticari maya fermantasyonu ile elde edilen Karalahna şaraplarında sırasıyla 20.92 mg/L ve 32.0 mg/L seviyelerinde iken, 6 ay şişede olgunlaşma sonunda peo-3-glu konsantrasyonunun %84-87 düzeyinde azaldığı belirlenmiştir. Cy-3-glu

konsantrasyonu ise spontan ve ticari maya fermantasyonu ile üretilen şaraplarda sırasıyla 3.05 ve 4.81 mg/L olarak tespit edilmiş ve depolama sonucunda %76-81 oranında kayba uğramıştır. Dp-3-glu konsantrasyonu spontan ve ticari şaraplarda 6.38 ve 9.77 mg/L iken, depolama ile %82-85 düzeyinde azalma göstermiştir. Genç kırmızı şaraplarda bulunan monomerik antosiyaninler olgunlaşma ve depolama süreçlerinde daha stabil polimerik bileşiklere dönüştüklerinden (Guadalupe ve Avestaran, 2008), kırmızı şaraplarda gerçekleşen antosiyanin kayıpları beklenen bir durumdur. Depolamaya bağlı olarak antosiyaninlerde meydana gelen azalma düzeyleri literatürdeki çalışmalarla uyumludur (García-Falcón vd., 2007; Marquez vd., 2014).

#### **Karalahna Şaraplarının Fenolik Madde Dağılımı ve Miktarı**

Spontan fermantasyon ve ticari maya fermantasyonu olmak üzere iki ayrı yöntemle üretilen Karalahna şaraplarının renksiz fenolik madde dağılımı ve miktarları Çizelge 4'te verilmiştir. Şaraplarda gallik asit, (+) kateşin, kafeik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit olmak üzere 5 adet fenolik bileşen tespit edilmiştir.

Şarapların fenolik madde dağılımı incelendiğinde, tanımlanan renksiz fenolik maddelerin büyük bölümünü gallik asit ve (+) kateşinin oluşturduğu görülmektedir. Fenolik bileşiklerin, uygulanan fermantasyon tekniğine göre (spontan-ticari) istatistiksel olarak farklılık gösterdiği saptanmıştır. Genel olarak, Çizelge 4'te verilen fenolik bileşikler için, ticari maya fermantasyonu ile üretilen şaraplarda fenolik bileşiklerin konsantrasyonlarının spontan tekniğe göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Alkol fermantasyonu bitiminde gallik asit miktarı spontan ve ticari fermantasyonla üretilen şaraplarda sırasıyla 102.98 ve 122.00 mg/L olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde, aynı fermantasyon koşullarında üretilen Cabernet sauvignon şaraplarında da gallik asit miktarları ticari maya fermantasyonu ile üretilen şaraplarda spontan fermantasyon şaraplarına kıyasla daha yüksek düzeyde bulunmuş, ancak değerler daha düşük seviyelerde (sırasıyla 40.0 mg/L ve 33.6

## Karalahna şaraplarının fenolik bileşenleri ve renk özellikleri

mg/L) kalmıştır (Çelebi Uzkuç vd., 2022). Ataol (2012) tarafından Karalahna şaraplarında gallik asit miktarı ise fermantasyon bitiminde 75 mg/L düzeyinde bulunmuştur. Çizelge 4'te görüldüğü üzere, Karalahna şaraplarında gallik asit konsantrasyonu spontan fermantasyonda %86, ticari maya fermantasyonunda ise %75 düzeyinde artış göstermiştir. Başka bir araştırmada da Karalahna şarabı üretiminde, gallik asit miktarının fermantasyon bitiminden birinci aktarmaya kadar geçen süreçte %12.3 düzeyinde artış gösterdiği belirlenmiştir (Ataol, 2012). Fenolik asitlerin

depolama veya olgunlaşma boyunca artışı, antosiyaninlerin degradasyonundan kaynaklanabilmektedir. Özellikle kumaril antosiyaninlerinin degradasyonu, kumarik asidin artışı ile ilişkilendirilmektedir (García-Falcón vd., 2007). Antosiyanin molekülündeki şekerlere; ferulik asit, p-kumarik asit, kafeik asit veya sinapik asitler ile p-hidroksibenzoik, malonik veya asetik asitlerin bağlanmasıyla açıl türevleri meydana gelmektedir. Bu açılma antosiyanin molekülünün stabilitesini artırmaktadır (Rein, 2005).

Çizelge 4. Karalahna şaraplarının fenolik bileşen dağılımları ve konsantrasyonları (mg/L)  
Table 4. Distributions and concentrations of phenolics of Karalahna wines (mg/L)

| Özellik<br><i>Properties</i>             | Şarap örnekleri<br><i>Wine samples</i> | Spontan Fermantasyon<br><i>Spontaneous fermentation</i> | Ticari Maya<br>Fermantasyonu<br><i>Commercial yeast<br/>fermentation</i> |
|--|--|---|--|
| Gallik asit<br><i>Galic acid</i>         | HŞ                                     | 102.98±7.29 <sup>aA</sup>                               | 122.00±6.21 <sup>aA</sup>  |
|  | GŞ                                     | 191.88±4.26 <sup>aB</sup>                               | 213.61±5.13 <sup>bB</sup>  |
| (+) Kateşin<br><i>(+) Catechin</i>       | HŞ                                     | 200.89±14.03 <sup>aA</sup>                              | 242.73±13.23 <sup>bA</sup>   |
|  | GŞ                                     | 156.04±3.40 <sup>aB</sup>                               | 179.73±3.19 <sup>bB</sup>  |
| Kafeik asit<br><i>Caffeic acid</i>       | HŞ                                     | 12.28±0.25 <sup>aA</sup>                                | 13.06±0.30 <sup>aA</sup>   |
|  | GŞ                                     | 15.50±0.15 <sup>aB</sup>                                | 16.18±0.38 <sup>aB</sup>   |
| p-Kumarik asit<br><i>p-Coumaric acid</i> | HŞ                                     | 8.10±0.06 <sup>aA</sup>                                 | 8.76±0.11 <sup>bA</sup>  |
|  | GŞ                                     | 10.05±0.12 <sup>aB</sup>                                | 11.01±0.18 <sup>bB</sup>   |
| Ferulik asit<br><i>Ferulic acid</i>      | HŞ                                     | 12.81±0.23 <sup>aA</sup>                                | 14.04±0.33 <sup>bA</sup>   |
|  | GŞ                                     | 14.96±0.11 <sup>aB</sup>                                | 15.48±0.17 <sup>bB</sup>   |

Sonuçlar, ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Aynı satır ve sütundaki farklı harfler o özellik için şarap örneklerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ( $P \leq 0.05$ ). Satırda küçük harfler, sütunda büyük harfler kullanılmıştır. HŞ: Alkol fermantasyonu bitimi ham şarap, GŞ: 6 ay şişede depolama sonunda genç şarap. Results were given as mean±standard error. Different letters in the same row and the same column indicate that the wine samples are statistically different for that feature ( $P \leq 0.05$ ). Lowercase letters are used in the row and uppercase letters are used in the column. HŞ: Wines at the end of the alcoholic fermentation, GŞ: Young wines at the end of 6 months of bottle storage.

(+) Kateşin konsantrasyonunun da ticari maya fermantasyonu ile üretilen Karalahna şaraplarında istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Alkol fermantasyonu sonunda ticari Karalahna şarabının (+) kateşin miktarının, spontan fermantasyonla elde edilene göre %20 daha fazla olduğu saptanmıştır. Diğer yandan, gallik asitten farklı olarak (+) kateşin konsantrasyonunun 6 ay depolama sonunda kayba uğradığı saptanmıştır. Kayıp düzeyleri

spontan fermantasyonla üretilen şaraplarda %22, ticari maya fermantasyonuyla üretilenlerde ise %26 olarak belirlenmiştir. Fermantasyon tekniği, kafeik asit konsantrasyonu açısından istatistiksel bir farka sebep olmamıştır. Ancak, spontan ve ticari maya fermantasyonu ile üretilen kırmızı şaraplarda 6 ay depolama sonunda kafeik asit miktarı sırasıyla %26 ve %24 düzeyinde artış göstermiştir. Benzer şekilde, García-Falcón vd. (2007) tarafından, ticari saf *S. cerevisiae* suşu ile

üretilen Mencía şaraplarının malolaktik fermantasyondan itibaren bir yıl olgunlaşma sonunda trans-kafeik asit konsantrasyonunda kademeli bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Karalahna şaraplarının p-kumarik asit konsantrasyonları ise 8.10-11.01 mg/L aralığında değişmekte olup, ticari maya fermantasyonu ile elde edilen örneklerde istatistiksel olarak daha yüksek değerler bulunmuştur. Bununla beraber, genç şarapların p-kumarik asit konsantrasyonlarının ham şaraplara göre daha yüksek olduğu ve 6 aylık depolama sonunda spontan ve ticari maya fermantasyonuyla üretilen şarapların kafeik asit konsantrasyonlarında sırasıyla %24 ve %26 oranında artış meydana geldiği saptanmıştır. Porgalı ve Büyüktüncel (2012) farklı üzüm çeşitlerinden üretilen yerli kırmızı şaraplarda p-kumarik asit miktarının 1.22 ile 8.24 mg/L arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Şarap örneklerinin ferulik asit miktarı ise 12.81-15.48 mg/L arasında değişmektedir. Ticari maya fermantasyonu ile üretilen şaraplarda ferulik asit miktarı, spontan fermantasyona göre daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. Diğer yandan, Ataol (2012) Karalahna kırmızı şaraplarında ferulik asit miktarının daha yüksek konsantrasyonda (44 mg/L) olduğunu belirlemiştir. Bu farklılık, üzümün yetiştiği bölge, bağcılık uygulamaları ve şarap üretim tekniklerinden kaynaklanabilmektedir. Depolama ile birlikte şarapların ferulik asit konsantrasyonlarının da artış gösterdiği saptanmıştır. Altı aylık depolama sonunda spontan ve ticari maya fermantasyonuyla üretilen şarapların ferulik asit içeriklerinde sırasıyla %17 ve %10 düzeylerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Görüldüğü gibi Karalahna şaraplarının 6 ay süreyle şişede depolanması sonunda şarapların kateşin içeriğinde azalma meydana gelirken; gallik asit, kafeik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit miktarlarında farklı düzeylerde artış meydana gelmiştir. Şarapların fenolik asit içeriklerinde meydana gelen bu artışın, maruz kalınan sıcaklık-süre ve SO<sub>2</sub> içeriği gibi faktörlerin etkisiyle gerçekleşen antosiyanin degradasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim literatürde de, antosiyaninlerin degradasyon ürünleri olarak gallik

asit, proto-kateşik asit, vanillik asit, sirinjik asit ve p-kumarik asit gibi fenolik asitlerin belirlendiği çalışmalar bulunmaktadır (Fleschhut ve ark., 2006; Kay ve ark., 2009).

Sonuç olarak; Karalahna üzümlerinden kırmızı şarap üretiminde fermantasyon tekniği ve depolama süreci şarapların antosiyanin ve fenolik kompozisyonu üzerinde etkili bulunmuştur. Ticari *S. cerevisiae* suşunun inokülasyonu ile üretilen şaraplarda toplam ve bireysel fenolik bileşiklerin miktarının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Altı aylık depolama sürecinde ise olgunlaşma ile birlikte şarapların toplam monomerik ve bireysel antosiyaninlerinin önemli düzeyde azaldığı, buna karşılık (+) kateşin dışındaki bireysel fenoliklerin farklı düzeylerde artış gösterdiği belirlenmiştir.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar makalenin herhangi bir kurum, kuruluş, kişi ile mali çıkar çatışması ve yazarlar arasında çıkar çatışması olmadığını bildirmektedir.

#### YAZARLARIN KATKISI

Burcu Şişli, Nesrin Merve Çelebi Uzkuç, Aslı Bayhan ve Ayşegül Kırca Toklucu araştırma faaliyetlerinin planlanma aşaması, uygulanması ve yürütülmesi ile sonuç verilerinin değerlendirilerek makalenin yazımında görev almışlardır.

#### TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenen proje (114 O 431) sonuçlarının bir bölümünden oluşmaktadır. Çalışmamızın gerçekleşmesinde tesis imkânı sağlayan Vinero Bağcılık (Eceabat, Çanakkale) ile Karalahna üzümünü temin ettiğimiz Talay Şarapçılık (Bozcaada, Çanakkale)'a destekleri için teşekkür ederiz. HPLC analizlerinin gerçekleştirilmesinde, destekleri için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Çevre Sorunları Araştırma ve Uygulama Merkezi (ÇEVSAM)'ne teşekkür ederiz.

#### KAYNAKLAR

Aksoy, M. (2010). Bazı Kırmızı Şarapların Fenolik Madde Profilleri Üzerine Araştırmalar. Çanakkale

Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Türkiye, 77 s.

Anlı R. E. (2006). *Bağlar Güzeli Üzüm ve Üzüm Kültürü*. Yapı Kredi Kültür Sanat Yayıncılık Ticaret ve Sanayi A.Ş., İstanbul. 155-187.

Ataol, G. (2012). Bozcaada'da Üretilen Kırmızı Şaraplarda Üretim Aşamalarının Antioksidan Yapıları Üzerine Etkisi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 64 s.

Blazquez Rojas, I., Smith, P. A., Bartowsky, E. J. (2012). Influence of choice of yeasts on volatile fermentation-derived compounds, colour and phenolics composition in Cabernet Sauvignon wine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(12), 3311–3321. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1142-y>

Boido, E., Dellacassa, E., Carrau, F., Moyna, P. (1999). An Improved Means of Monitoring Malolactic Fermentation in Wines by TLC-Densitometry. *Journal of Planar Chromatography*, 12, 269-271.

Busse-Valverde, N., Bautista-Ortín, A. B., Gómez-Plaza, E., Fernández-Fernández, J. I., Gil-Muñoz, R. (2013). Influence of skin maceration time on the proanthocyanidin content of red wines. *European Food Research and Technology*, 236, 473–481. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1842-4>

Cabaroğlu, T., Canbaş, A. (1993). Şarapçılıkta kükürt dioksit kullanımı ve önemi. *Gıda*, 18(1), 61-66.

Carew, A. L., Smith, P., Close, D. C., Curtin, C., Damberg, R. G. (2013). Yeast effects on Pinot noir wine phenolics, color, and tannin composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(41), 9892–9898. <https://doi.org/10.1021/jf4018806>

Caridi, A., Cufari, A., Lovino, R., Palumbo, R., Tedesco, I. (2004). Influence of Yeast on Polyphenol Composition of Wine. *Food Technology and Biotechnology*, 42(1), 37–40.

Caridi, A., De Bruno, A., De Salvo, E., Piscopo, A., Poiana, M., Sidari, R. (2017). Selected yeasts to enhance phenolic content and quality in red wine from low pigmented grapes. *European Food Research and Technology*, 243(3), 367–378. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2750-9>

Caridi, A., Romeo, R., Bruno, A. De, Masaneo, C., Poiana, M. (2021). Long - term effects of different starter yeasts on colour and natural antioxidant power of red wines. *European Food Research and Technology*, 247, 2391–2398. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03800-3>

Carrascosa, A. V., Bartolome, B., Robredo, S., Leon, A., Cebollero, E., Juega, M., Nunez, Y. P., Martinez, M. C., Martinez-Rodriguez, A. J. (2012). Influence of locally-selected yeast on the chemical and sensorial properties of Albariño white wines. *LWT - Food Science and Technology*, 46(1), 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.09.011>

Çelebi Uzkuç, N.M., Şişli, B., Karagül Yüceer, Y., Bayhan, A., Kırca Toklucu, A. (2018) Effect of Cold Maceration on Anthocyanin and Volatile Compounds of Karalahna and Cabernet Sauvignon Grape Musts. *Gıda*, 43:663–676. <https://doi.org/10.15237/gida.gd18038>

Çelebi Uzkuç, N. M., Şişli, B., Ay, M., Togay, S. Ö., Karagül Yüceer, Y., Bayhan, A., Kırca Toklucu, A. (2020). Effects of spontaneous fermentation on Karalahna and Cabernet Sauvignon young red wines: volatile compounds, sensory profiles and identification of autochthonous yeasts. *European Food Research and Technology*, 246(1), 81–92. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03395-w>

Çelebi Uzkuç, N. M., Bayhan, A., Kırca, A. (2022). Phenolics and color components of young Cabernet Sauvignon wines : effect of spontaneous fermentation and bottle storage. *European Food Research and Technology*, 248, 393–401. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03884-x>

Dell'Agli, M., Buscialà, A., Bosisio, E. (2004). Vascular effects of wine polyphenols. *Cardiovascular Research*, 63(4), 593–602. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2004.03.019>

Doyuran, S. D., Güven, S. (2006). Karasakız ve Karalahna üzüm çeşitlerinden elde edilen kırmızı

- şarapların kalite özellikleri üzerine araştırmalar. *Akademik Gıda*, 4(4), 32–34.
- Marquez, A., Serratos, M. P., Merida, J. (2014). Influence of bottle storage time on colour, phenolic composition and sensory properties of sweet red wines. *Food Chemistry*, 146, 507–514. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.103>
- Echave, J., Barral, M., Fraga-Corral, M., Prieto, M.A., Simal-Gandara. (2021). Bottle aging and storage of wines: A review. *Molecules*, 26, 713.
- Escot, S., Feuillat, M., Dulau, L., Charpentier, C. (2001). Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(3), 153–159. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2001.tb00204.x>
- Fleschhut, J., Kratzer, F., Rechkemmer, G., Kulling, S.E. (2006). Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. *European Journal of Nutrition*, 45, 7–18.
- Fuleki, T., Francis, F. J. (1968). Quantative methods for analysis. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index in cranberries. *Journal of Food Science*, 33, 78–83.
- Gammacurta, M., Marchand, S., Albertin, W., Moine, V., De Revel, G. (2014). Impact of yeast strain on ester levels and fruity aroma persistence during aging of bordeaux red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 5378–5389. <https://doi.org/10.1021/jf500707e>
- García-Falcón, M. S., Pérez-Lamela, C., Martínez-Carballo, E., Simal-Gándara, J. (2007). Determination of phenolic compounds in wines: Influence of bottle storage of young red wines on their evolution. *Food Chemistry*, 105(1), 248–259. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.006>
- Garde-Cerdán, Urturi, I.S., Murillo-Peña, R., Iribarren, M., Román, S.M.S, Rubio-Bretón, P., Pérez-Álvarez, E. (2022). Bottle aging affected aromatic and phenolic wine composition more than yeast starter strains. *Applied Sciences*, 12, 4478.
- Giusti, M. M., Wrolstad, R. E. (2001). Unit F1.2. Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-visible Spectroscopy. In R. Wrolstad & S. Schwartz (Eds.), *In Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, pp. 1-13.
- Guadalupe, Z., Ayestarán, B. (2008). Changes in the color components and phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. Cv. “Tempranillo” during vinification and aging. *European Food Research and Technology*, 228(1), 29–38. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0902-2>
- He, F., Liang, N. N., Mu, L., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J., Duan, C. Q. (2012). Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules*, 17(2), 1571–1601. <https://doi.org/10.3390/molecules17021571>
- Holt, H., Cozzolino, D., McCarthy, J., Abrahamse, C., Holt, S., Solomon, M., Smith, P., Chambers, P. J., Curtin, C. (2013). Influence of yeast strain on Shiraz wine quality indicators. *International Journal of Food Microbiology*, 165, 302–311. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.006>
- Ilieva, F., Kostadinović Veličkovska, S., Dimovska, V., Mirhosseini, H., Spasov, H. (2017). Selection of 80 newly isolated autochthonous yeast strains from the Tikveš region of Macedonia and their impact on the quality of red wines produced from Vranec and Cabernet Sauvignon grape varieties. *Food Chemistry*, 216, 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.049>
- Kay, C.D., Kroon, P.A., Cassidy, A. (2009) The bioactivity of dietary anthocyanins is likely to be mediated by their degradation products. *Molecular Nutrition and Food Research*, 531, 92–101.
- Lesko, A., Nyitrai-Sardy, D., Kallay, M., Balga, I. (2014). The effect of yeast on the anthocyanin characteristics of fermented model solutions. *Acta Alimentaria*, 43(2): 232–238. <https://doi.org/DOI.10.1556/AAlim.43.2014.2.6>
- Lingua, M. S., Fabiani, M. P., Wunderlin, D. A., Baroni, M. V. (2016). From grape to wine: Changes in phenolic composition and its

- influence on antioxidant activity. *Food Chemistry*, 208: 228–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.009>
- Marquez, A., Serratos, M. P., Merida, J. (2014). Influence of bottle storage time on colour, phenolic composition and sensory properties of sweet red wines. *Food Chemistry*, 146, 507–514. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.103>
- Miran, Ş.S. (2018). Kırmızı Şarap Üretiminde Bölge (Terroir) Farklılığının Fenolik Bileşim Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 52 s.
- Monagas, M., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B. (2006). Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chemistry*, 95(3), 405–412. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.004>
- Morata, A., Escott, C., Loira, I., Del Fresno, J. M., Gonzalez, C., Suarez-Lepe Jose Antonio. (2019). Influence of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts in the formation of pyranoanthocyanins and polymeric pigments during red wine making. *Molecules*, 24(4490): 1–18.
- Morata, A., Loira, I., Heras, J. M., Callejo, M. J., Tesfaye, W., González, C., Suárez-Lepe, J. A. (2016). Yeast influence on the formation of stable pigments in red winemaking. *Food Chemistry*, 197: 686–691. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.026>
- Porgali, E., Büyüktuncel, E. (2012). Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of native red wines by high performance liquid chromatography and spectrophotometric methods. *Food Research International*, 45(1): 145-154.
- Rein, M. J. (2005). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Academic Dissertation, University of Helsinki Department of Applied Chemistry and Microbiology Food Chemistry Division, 88 pp.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments Volume 2* (Second Edi). John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, İngiltere, 441 p.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144–153.
- Takush, D. G., Osborne, J. P. (2012). Impact of yeast on the aroma and flavour of Oregon Pinot Noir wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(2): 131–137. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2012.00181.x>
- Varela, C., Siebert, T., Cozzolino, D., Rose, L., McLean, H., Henschke, P. A. (2009). Discovering a chemical basis for differentiating wines made by fermentation with “wild” indigenous and inoculated yeasts: Role of yeast volatile compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15(3): 238–248. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2009.00054.x>
- Vernhet, A., Carrillo, S., Rattier, A., Verbaere, A., Cheynier, V., Nguela, J. M. (2020). Fate of anthocyanins and proanthocyanidins during the alcoholic fermentation of thermovinified red musts by different *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(11), 3615–3625. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00413>
- Zhao, Y., Sun, Q., Zhu, S., Du, F., Mao, R., Liu, L., Tian, B., Zhu, Y. (2021). Biodiversity of non-*Saccharomyces* yeasts associated with spontaneous fermentation of Cabernet Sauvignon wines from Shangri-La wine region, China. *Scientific Reports*, 11(1): 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83216-x>