

ÇEŞİTLİ DURULTMA YARDIMCI MADDELERİNİN KIRMIZI ŞARAP ANTOSİYANİNLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Sevgin Dıblan, Mehmet Özkan*

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / *Received*: 10.08.2012

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 02.11.2012

Kabul tarihi / *Accepted*: 05.11.2012

Özet

Durultma işleminin iki önemli parametresi; durultma yardımcı maddesi türü ve dozudur. Kırmızı şarapların durultulmasında yaygın olarak tercih edilen durultma yardımcı maddeleri; bentonit, jelatin, kazein, albumin ve PVPP (**P**oli**V**inil**P**oli**P**irolidon)'dir. Bu durultma yardımcı maddeleri, farklı şarap bileşenlerine etki etmektedir. Örneğin, jelatin, şaraptan, özellikle yüksek molekül ağırlıklı polifenoller, yani tanenleri, uzaklaştırmak için kullanılmaktadır. Jelatin-tanen kompleksi oluşumundan sonra, bu kompleks, antosiyaninler ile etkileşime girip onların uzaklaşmasına neden olabilmektedir. Diğer protein kaynaklı durultma yardımcı maddeleri, yani albumin ve kazeinin de, antosiyaninlere aynı şekilde olumsuz etki ettiği düşünülmektedir. PVPP ise, düşük molekül ağırlığındaki polifenoller ile kompleks oluşturmaktadır. Oluşan PVPP-polifenol kompleksi çökelirken, bir kısım antosiyanini de beraberinde sürüklemektedir. Proteinleri şaraptan uzaklaştırmak için kullanılan bentonit (negatif yüklü), antosiyaninlerle (pozitif yüklü) elektrostatik olarak bağ oluşturabilmekte ve bu interaksiyon sonucunda antosiyaninler ortamdan uzaklaşırlar. Durultma yardımcı maddesinin hem çeşidi hem de dozu kırmızı şarapların antosiyanin miktarındaki azalmaya doğrudan etki etmektedir.

Anahtar kelimeler: Durultma, antosiyaninler, jelatin, kazein, albumin, bentonit, PVPP

EFFECTS OF VARIOUS CLARIFICATION AGENTS ON THE ANTHOCYANINS OF RED WINES

Abstract

The most significant parameters in red wine clarification are the type and dosage of the clarification agents used. The most commonly used clarification agents in red wines are bentonite, gelatin, casein, albumin and PVPP (**P**oly**V**inyl**P**oly**P**yrrolidone). These fining agents have different effects on wine constituents. For instance, gelatin is used to remove especially high molecular weight polyphenols, called as tannins, from wines. After the formation of gelatin-tannin complex, this complex may interact with anthocyanins, causing their removal. Other proteous fining agents, such as albumin and casein, may also adversely affect the anthocyanins through the similar interaction. On the other hand, PVPP interacts with low molecular weight polyphenols. During their sedimentation, PVPP-polyphenol complexes also sweep some anthocyanins from red wines. Bentonite (negatively charged), which is used to remove proteins from red wines, may bind anthocyanins (positively charged) through electrostatical interaction and this interaction causes the removal of some anthocyanins. Both the type and dosage of clarification agents may directly affect the removal of anthocyanins from red wines.

Keywords: Clarification, anthocyanins, gelatin, casein, albumin, bentonite, PVPP

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ Mehmet.Ozkan@ankara.edu.tr, ☎ (+90) 312 596 1146, 📠 (+90) 312 596 8711

GİRİŞ

Şarap, bileşiminde şeker bulunan üzüm suyunun (şirasının), kısmen veya tamamen fermantasyona uğratılması sonucu oluşan alkollü bir içki türüdür. Şarap üretiminde amaç, duyuşsal özellikler ve bileşim yönünden yüksek kalite özelliklerine sahip ürün elde etmektir. Ancak, tüm gıda üretim proseslerinde olduğu gibi, şarap üretim prosesinde de kaliteyi olumlu veya olumsuz yönde etkileyen, maserasyon gibi, işlemler bulunmaktadır (1). Bu konuda etkisi olan şarap üretim proses basamaklarından birisi de durultmadır.

Durultmanın amacı, üründe bulunan ve bulanıklığa neden olan protein ve polifenol gibi bileşenleri, uygun durultma yardımcı maddeleri (bentonit, jelatin, kazein, albumin vb.) kullanarak uzaklaştırmak ve böylece istenen berraklıkta ürün elde etmektir (2-4). Berraklaştırma amacıyla kullanılan durultma yardımcı maddelerinin etki mekanizmaları farklılık göstermektedir. Örneğin; bentonit şaraptaki proteinleri uzaklaştırabilirken (5-7), jelatin yüksek molekül ağırlıklı polifenollere etki etmektedir (8). Bu şekilde farklı amaçlarla kullanılan durultma yardımcı maddeleri ile şarabın renk, burukluk gibi organoleptik özelliklerinden sorumlu polifenollerin etkileşimi sonucu bu özelliklerde istenmeyen değişimler meydana gelebilmektedir. Şarapta bulunan polifenol gruplarından birisi de antosiyaninlerdir. Antosiyaninler kırmızı meyvelerin dolayısıyla kırmızı şarapların kendine özgü kırmızı renginden sorumludur (9-12) ve içerdikleri hidroksil ve metoksil gruplarına göre antosiyaninler birbirlerinden farklılaşmaktadır. Şarapta bulunan hakim antosiyanin türü ise, "oenin" olarak da isimlendirilen malvidin - 3-glikozittir (13). Bu pigment, durultmada, kullanılan durultma yardımcı maddelerinin çeşit ve konsantrasyonundan etkilenmektedir (14).

Bu derlemenin amacı, farklı durultma yardımcı maddelerinin şarap antosiyaninlerine olan etkilerinin araştırılmasıdır. Bu amaçla kapsamlı bir literatür araştırması yapılmış ve bulgular takip eden bölümlerde özetlenmiştir.

KIRMIZI ŞARAPLARDA BULANIKLIK ETMENİ BİLEŞENLER VE BULANIKLIK OLUŞUM MEKANİZMASI

Şaraplarda bulanıklığa neden olan 4 bileşik grubu (polifenoller, proteinler, pektik bileşikler ve metaller) bulunmakla birlikte, bu bileşiklerden bulanıklığa neden olan en önemlileri, polifenoller ve proteinlerdir (15-20). Şarapta bulunan bu iki

bileşen (polifenoller ve proteinler) birbirleriyle kompleks oluşturmakta ve ürünün puslu görünüm kazanmasına neden olmaktadır. Protein-polifenol kompleks oluşumu 3 fazda gerçekleşmektedir: 1. lag fazı, 2. gelişme fazı ve 3. terminal fazı. Başlangıçta, yani lag fazında kompleks oluşumu geri dönüşümlü olabilir. Daha sonra oksidasyon veya polimerizasyon ile "haze aktif" duruma geçen polifenoller gelişme fazında proteinler ile daha güçlü bağlar oluşturur ve polifenol-protein komplekslerinin büyümesi sonucu bulanıklık ve tortu oluşumu giderek artar (21, 22). Terminal fazda ise, artık iki bileşik grubunun da başka bileşiklerle bağlanabileceği açık ucu kalmaz ve bulanıklık artık stabildir. Bu aşamalardan sonra, oluşan kompleksler şarap ortamında çözünmez durumda oldukları için, içeceğe gelen ışığı yansıtarak, içeceğin puslu bir görünüm kazanmasına neden olurlar.

Polifenol-protein kompleks oluşumuna her proteinin veya her polifenolün katılma eğilimi farklıdır (24). İçeceklerde, bulanıklık oluşum mekanizmasına katılan proteinler "haze aktif" protein olarak adlandırılırken, benzer olarak, polifenoller "haze aktif" polifenol olarak adlandırılmaktadır (25-27). Meyve sularındaki "haze aktif" proteinlerin etki mekanizması tam olarak ortaya konulmasa da, bulanıklığa neden olan proteinlerin yapısında az veya çok miktarda prolin bulunduğu bildirilmektedir (22, 28). Bununla beraber üzüm suyunda bulunan bulanıklık etmeni proteinlerin düşük molekül ağırlıklı olduğu (16000-24000 Dalton) ve izoelektrik noktalarının (5.2-8.0) ise, yüksek olduğu belirlenmiştir (24). Şarapta bulunan bulanıklık etmeni proteinleri tayin etmek için kullanılan ve temel olarak, bir polifenol olan tannik asit eklenmesinden sonra bulanıklık değerinin ölçülmesine dayanan bir yöntemde, kırmızı şaraba 0.0, 0.5, 1.0 ve 2.0 g/L miktarlarında tannik asit eklenmiş ve bulanıklık değerinin sırasıyla 1.6, 2.2, 3.3 ve 6.0 NTU (Nephelometric Turbidity Units) değerlerine ulaştığı gözlenmiştir. Bu işlem sonucunda kırmızı şarapta "haze-aktif" protein adıyla anılan ve bulanıklığa neden olan protein varlığı gösterilmiştir.

Bunun yanı sıra, yukarıda değinildiği gibi şarapta bulunan bir diğer bulanıklık etmeni bileşen polifenollerdir. Polifenollerin aromatik halkasındaki hidroksil grup sayısı ve konumu proteinler ile interaksiyon oluşturmalarında etkilidir. Nitekim monofenollerin proteinlerle etkileşimi zordur. Bunun yanında orto-difenoller, meta- durumda olanlara göre proteinlere çok daha güçlü

bağlanmaktadır (23). Yine şarapta bulunan ve "haze-aktif" polifenol olarak adlandırılan polifenol miktarını tahmini olarak belirlemek amacıyla yapılan bir araştırmada, kırmızı şaraba 0.0, 0.2, 0.4 ve 0.6 g/L miktarlarında jelatin çözeltisi eklenmiş ve bulanıklık değerlerindeki değişim incelenmiştir. Bulanıklık değerleri sırasıyla; 0.6, 244, 287 ve 385 NTU olarak saptanmış ve sonuç olarak kırmızı şarabın bulanıklık bakımından aktif durumda olan polifenol içeriğinin yüksek olduğu ortaya konulmuştur (23).

Protein-polifenol interaksyonu başlıca dört faktörden etkilenmektedir. Bunlar; protein konsantrasyonu, polifenol konsantrasyonu, pH ve alkol içeriğidir (29). Protein konsantrasyonu sabit tutulup, polifenol konsantrasyonu artırılırsa, bulanıklık değeri (NTU) sürekli olarak artış göstermektedir. Aynı şekilde, bu işlemin tam tersi yapıldığında bulanıklık değeri yine artmaktadır. Ancak, bu artışlar belli bir değere kadar olup, daha sonra azalma eğilimi göstermektedir. Şarapta bulunan yüksek polifenol içeriği göz önüne alındığında, mekanizma şu şekilde gelişmektedir: Proteinlerin, polifenoller ile bağlanabilen grupları ortamda bulunan polifenoller ile tamamen doldurulmakta ve bu yoğun bağlanmalara karşın, halen şarap içinde çok sayıda bağlanmamış halde polifenol bulunmaktadır. Bunun sonucunda ise, daha küçük boyutlarda partiküller oluşmaktadır (23).

Polifenol-protein interaksyonunda, etil alkol konsantrasyonunun etkisi çok sınırlıdır. Yine de, bazı araştırmalara göre etil alkol proteinlerin denatüre olmasını sağlayarak proteinlerin hidrofilik formunun hidrofobik forma dönüşmesine neden olduğu ileri sürülmekte ve böylece denatüre olan proteinler, hidrofobik yapıda bulunan tanenler ile interaksyona girmektedir (30). pH faktörü ise, bu interaksyonda daha etkin rol oynamaktadır. Örneğin, pH 3 ile 4 değerlerinin biraz üstündeki pH değerlerinde ışık kırılması daha net görülmektedir. Bu durum proteinlerin sahip oldukları izoelektrik noktalarına göre farklı yük kazanmaları ile açıklanmaktadır (23). Bilindiği gibi, proteinler izoelektrik noktaları altındaki pH derecelerinde pozitif yük taşırlar. "Haze aktif" proteinlerin izoelektrik noktası ise, pH 8 civarlarında bulunmaktadır. Bu nedenle haze aktif proteinler; şarap, bira, meyve suyu gibi pH derecesi düşük ortamlarda pozitif yük taşırlar ve bu pozitif yük oranı pH derecesi izoelektrik noktadan ne kadar düşerse o kadar artmaktadır. Bu nedenle güçlü pozitif yük taşıyan protein bileşikleri, negatif

yüklü yüksek molekül ağırlıklı polifenollerle daha kolay ve kuvvetli bir şekilde interaksyona girebilmektedir (24, 30).

DURULTMA YARDIMCI MADDELERİ VE ETKİ MEKANİZMALARI

Şarabın polifenoller yönünden zengin bir içecek olmasının yanı sıra, önemli düzeyde protein içermesi, durultma ve durultma yardımcı maddelerinin seçimi bakımından önem teşkil etmektedir. Daha önce belirtildiği gibi şarapta bulanıklık oluşturan en önemli reaksiyon protein-polifenol interaksyonudur. Bu iki bileşenin stabilitesi durultma yardımcı maddeleri sayesinde bozulabilmektedir. Böylece daha önce, filtrasyon gibi fiziksel bir işlem ile ayrılamayan küçük partiküller, durultma yardımcı maddeleri ile birleşerek daha büyük partiküllere dönüştürülmekte ve böylece içecekten uzaklaştırılabilmektedir. Bunun sonucunda ise, berrak şarap elde edilmektedir. Durultma işlemi sırasında, protein ve polifenoller uzaklaştırıldığından ve de bunlarla beraber başka bileşenlerde sürüklendiğinden dolayı ürün bileşiminde önemli değişimler meydana gelmektedir (31).

Berraklaştırma işlemi sırasında kullanılan durultma yardımcı maddelerinin her birinin etki ettiği farklı bir bileşen grubu ve etki mekanizmaları bulunmaktadır. Aşağıda, şarap endüstrisinde en çok kullanılan durultma yardımcı maddeleri ve etki mekanizmaları konusundaki bilgiler verilmiştir.

Bentonit: Bentonit, durultmada, şarapta bulunan proteinleri adsorbe etme özelliğinden dolayı kullanılmaktadır (32). Bentonitin etki mekanizması elektrostatiktir. Bir bentonit hidratı negatif yüklü durumdadır. Ortamda bulunan pozitif yüklü bileşenler ise, bu negatif yüklü yüzeye adsorbsiyon ile tutunur ve böylece filtrasyon veya başka bir yöntem ile ayrılabilir boyutta parçacıklar oluşur (32, 33). Bentonitin temel kullanım amacı, kırmızı şarapların protein stabilizasyonu olsa da, bentonit, işlem sırasında antosiyaninler gibi diğer pozitif yüklü maddeleri de uzaklaştırabilmektedir. Buna ek olarak bentonitin, şarap içinde bulunan demir ve bakır gibi metallerin uzaklaştırıldığı "bluefining" olarak adlandırılan işlemde de kullanıldığı belirtilmiştir (34). Bentonitin kırmızı şaraplarda kullanım dozu, 20-50 g/hL arasındadır (35).

Jelatin: Jelatin, polifenoller üzerindeki etkisinden dolayı tercih edilmektedir. Diğer protein bazlı durultma yardımcı maddelerinde olduğu gibi jelatin de, şarabın pH aralığında pozitif yüklüdür. Böylece, jelatin şarap içinde bulunan negatif yüklü polifenollerle (MA>500 Dalton üzerindeki

polifenoller, örneğin tanenler) reaksiyona girmektedir (36-38). Jelatinler ile polifenollerin reaksiyona girmesi sonucu, polifenol-jelatin kompleksi oluşmaktadır (39). Bu reaksiyon, polifenollerin yapısında bulunan hidroksil grupları ile proteinlerin peptit bağları arasında oluşan hidrojen bağları ile gerçekleşmektedir. Polifenol-protein kompleksi sayesinde oluşan partiküller kritik boyuta ulaştıktan sonra çökelmeye başlamaktadır (37).

Kazein: Kazein şarapta bulunan tanenleri uzaklaştırabilmektedir (33). Proteinlerin fonksiyonel grupları olan ve kazeinin bileşiminde de bulunan -COOH, -NH₂ ve -OH fonksiyonel grupları ile polifenollerin yapısında bulunan hidroksil grupları arasında hidrojen bağı oluşur ve böylece polifenoller kazein ile birlikte şaraptan uzaklaştırılır (40). Bu durultma yardımcı maddesinin tipik özelliği, tanenler ile kompleks oluşturması için asidik ortama ihtiyaç duymasındır. Dolayısıyla, kazein şarap gibi asidik ortamlarda floklar oluşturabilmektedir. Kazein, kırmızı şarapların durultulması amacıyla şaraba, 10-20 g/hL dozları arasında eklenmektedir (35).

Yumurta albumini: Bu durultma yardımcı maddesi, tanen molekülerinin hidroksil gruplarıyla hidrojen bağı oluşturarak birleşmekte (41) ve böylece tanenleri şaraptan uzaklaştırmaktadır. Yumurta albuminin daha iyi etki gösterebilmesi için ortamda yüksek oranda tanen bulunması gerekmektedir. Bu nedenle, yıllandırılmış şarapların durultulmasında albumin ile çok başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir. Bunun yanında, çok fazla tanen içeren şaraplarda, tanenlerin bir bölümü uzaklaştırıldığı için, şarabın daha yumuşak bir tat kazanmasını da sağlamaktadır (35).

PVPP: Polivinilpoliprolidon olarak bilinen PVPP, yüksek molekül ağırlıklı bir durultma yardımcı maddesi olup, polivinilprolidon moleküllerinin çapraz bağlanması ile oluşmaktadır. PVPP suda çözünmeyen bir madde olmasına karşın hidrofiliktir ve bu özelliği ile başta flavonoidler olmak üzere, polifenollere hidrojen bağı ile bağlanabilmektedir (42). Bu madde daha çok küçük molekül ağırlığına sahip, acılık veren veya daha sonra esmerleşmeye neden olabilecek polifenollerin uzaklaştırmak için (kateşin, proantosiyanidin vb.) hem kırmızı hem de beyaz şaraplarda kullanılmaktadır. Bu maddenin kırmızı şarabın durultulmasında jelatin ile karşılaştırılması amacı ile yapılan bir çalışmada, reflektans renk değerlerinin azalmasında PVPP'nin daha etkin olduğu, yani PVPP'nin kırmızı şarabın rengini olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir (43).

DURULTMANIN ANTOSİYANİNLER ÜZERİNE ETKİSİ

Protein kaynaklı durultma yardımcı maddeleri ile durultma

Kırmızı renkli içeceklerde antosiyaninler iki şekilde kırmızı renklerini kaybetmektedir. Antosiyaninin pigment özelliğini kaybetmesi, ya oksidasyon ya da sıcaklık etkisiyle antosiyanidinlerine parçalanması sonucu rengini kaybetmesi ile veya şarapta yüksek miktarlarda bulunan polifenoller ve özellikle polifenollerin bir alt grubu olan tanenlerle (1-5 g/L) (44) interaksyonu ile gerçekleşmektedir (45). Antosiyanin-tanen veya tanen-antosiyanin interaksyon reaksiyonu yavaş bir şekilde gerçekleşir ve sonuçta sarı renkli bileşikler oluşur ki bunlar kırmızı şarap rengini turuncu-kırmızı arası bir renge dönüştürebilir. Ancak eğer ortamda etil alkolün oksidasyonu sonucu oluşan asetaldehit var ise, bu reaksiyon hızlanmaktadır. Asetaldehit bulunan ortamda antosiyanin-tanen etkileşimi sonucunda renk yoğunluğu ve stabilitesi ilk başlarda artsa da, flavanol polimerizasyonu ilerledikçe stabilize azalmakta, oluşan kompleksler çökelmeye başlamakta ve renk kaybı meydana gelmektedir (46). Bu bilgiler ışığında, protein kaynaklı durultma yardımcı maddeleri ile yapılan durultma işleminin; şarapta özellikle tanen gibi yüksek molekül ağırlıklı fenoliklerin uzaklaştırılması (39), antosiyaninlerin stabilizasyonu ve tortu oluşumunun engellenmesi bakımından önem taşıdığı söylenebilir.

Protein kaynaklı bir durultma yardımcı maddesi olan jelatin ile durultma sırasında az veya çok miktarda antosiyanin kaybı meydana gelmektedir. Jelatinin, antosiyaninler üzerine etkili olabilmesi için önce, jelatin-polifenol kompleksi oluşması gerekmektedir. Oluşan bu floklar çökelirken şarabın bileşimde bulunan antosiyaninler de sürüklenmektedir. Kısaca, jelatinin antosiyaninler üzerine etkisi dolaylı şekilde olmaktadır. Bal k vd. (2007), durultmanın kırmızı şarapların renk, antosiyanin konsantrasyonu ve polifenol içeriği üzerine olan etkisini incelemiştir. Yaptıkları bu çalışmada, durultma yardımcı maddesi olarak; yumurta beyazı (10 ve 20 g/100 L), kazein (50 ve 200 g/100 L), jelatin (5 ve 10 g/100 L), jelatin (5 g/100 L) + silika jel (50 mL/100 L), jelatin (10 g/100 L) + silika-jel (100 mL/100 L), bentonit (25 ve 100 g/100 L) ve son olarak PVPP (40 ve 80 g/100 L) kullanmışlardır (47). Araştırma sonucunda toplam monomerik antosiyanin miktarında en az kayıp, jelatin kullanılarak durultulmuş olan şaraplarda (%8-13) gözlemlenmiştir.

Protein bazlı diğer bir durultma yardımcı maddesi, tanenler üzerine etkili olan yumurta albuminidir. Yumurta albumininin bu etkisi dışında, birçok araştırmada, kırmızı şaraplarda antosiyaninleri önemli düzeyde azalttığı gözlemlenmiştir. Örneğin yapılan bir çalışmada, şarabın yumurta albumini ile durultulması sonucu, antosiyanin miktarında %33 oranında azalma meydana geldiği bildirilmiştir (47). Yine, başka bir çalışmada Cabernet sauvignon üzümünden elde edilen şarabın albuminle durultulması sonucunda antosiyanin içeriğinin %10 ile %25 arasında azaldığı saptanmıştır (48). Albumin gibi, tanenler üzerine etkili bir durultma yardımcı maddesi olan kazeinin de durultma sonucunda antosiyanin miktarında azalmaya neden olduğunu gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur. Örneğin, Vinhão (Portekiz) şarapları üzerine yapılan bir çalışmada sadece kazein ile durultulan örneklerde antosiyanin miktarında %11-19 oranında azalma meydana geldiği saptanmıştır (49).

Yapılan literatür araştırmasında, albumin ve kazeinin antosiyaninler üzerine ne şekilde etki ettiği ile ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu durultma yardımcı maddelerinin antosiyaninler üzerine elektrostatik olarak etkisinin olmadığı düşünülmektedir. Çünkü antosiyaninler de, kazein ve albumin gibi pozitif yüklüdür. Bu nedenle albumin ile kazeinin antosiyaninlere etkisinin, jelatin ile durultmada olduğu gibi, dolaylı olduğu sanılmaktadır. Yani, albumin ve kazein şaraba eklendikten sonra oluşan durultma yardımcı maddesi-polifenol flokları çökelirken, beraberinde antosiyaninlerin de bir kısmını sürüklemekte ve antosiyanin miktarında kayıplar meydana gelmektedir.

Şarap ile ilgili araştırmalarda "chemical age" olarak adlandırılan, "kimyasal yaş" sıklıkla karşılaşılan bir renk kriteridir. Bu değer, şarapta bulunan polimerize olmuş polifenol miktarını temsil etmektedir ve bunun da büyük çoğunluğunu polimerizasyona uğramış antosiyaninler oluşturmaktadır. Anlaşılacağı üzere, bu renk değeri, şaraptaki antosiyaninlerin kaybını gösteren bir kalite kriteridir (50). Şarabın durultulması üzerine yapılan bir araştırmada, Muscadine kırmızı şaraplarına fermantasyon sonrası eklenen, kazein ve jelatinin; polifenoller, renk ve duyuşal özelliklerde meydana getirdiği değişimler incelenmiştir (50). Bu çalışmada, kazeinin (0.5 ve 1.0 g/L), şarapta istenmeyen bir oluşum olan, polimerizasyona uğramış antosiyaninlerde %6-10 oranında azalma sağladığı görülmüştür.

Polivinilpoliprolidon ile durultma

Gıda endüstrisinde polifenollerini uzaklaştırmak için durultmada, jelatin gibi doğal bir kaynaktan elde edilen durultma yardımcı maddelerinin yanında, sentetik olarak üretilen durultma yardımcı maddeleri de kullanılmaktadır. Sentetik bir durultma yardımcı maddesi olan PVPP gerek meyve suyu gerekse şarap endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. PVPP, polifenollerini uzaklaştırabilirdiğinden dolayı berraklaştırma amacıyla da kullanılmaktadır. PVPP'nin polifenoller üzerine etkisi hidrojen köprüsü oluşturarak onları adsorbe etme şeklinde olmakta ve bu köprü düşük molekül ağırlıklı polifenollerle (proantosiyanidinler, kateşinler vb.) daha güçlü kurulmaktadır (24). Bunun yanında PVPP'nin polifenollerin bir alt grubu olan antosiyaninleri olumsuz olarak etkilediğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Bu konuda yapılan bir araştırmada, Vinhão şaraplarında, şarap yapma tekniklerinin ve durultma yardımcı maddelerinin, antosiyanin içeriği, renk ve duyuşal kalite üzerine etkileri incelenmiştir (49). Bu araştırmada; PVPP (1 g/L), albumin (0.2 g/L), jelatin (0.2 g/L) ve kazein (0.6 g/L) olmak üzere 4 farklı durultma yardımcı maddesi kullanılmış ve antosiyanin içeriğindeki azalma en çok PVPP (%10-21) uygulamasında gözlemlenmiştir. Ayrıca, antosiyanin miktarında; albuminin %6-14, jelatinin ise, %10-15 oranlarında azalmaya neden olduğu da ortaya konulmuştur.

Bentonit ile durultma

Bulanıklık oluşum reaksiyonun reaktanlarından biri olan proteinin, şaraptan uzaklaştırılması için durultulmada yaygın olarak kullanılan bentonit, şarap üretimi sırasında sıcaklık veya üzüme uygulanan mekanik işlemler sırasında, antosiyaninler ile tanenlerin etkileşimi sonucu oluşan kolloidal renk maddeleri üzerine de etkilidir. Oluşan bu maddeler şarapların depolanması (yıllandırılması) sürecinde tortu oluşumuna neden olabilmektedirler. Daha az stabil olan bu kahverengi kolloidal renk unsurları pozitif, bentonit ise negatif yüklü durumdadır. Pozitif yüklü stabilitesi düşük komplekslerin bulunduğu ortama negatif yüklü bentonit ilavesiyle bu maddeler uzaklaştırılabilmekte ve şarabın yıllandırılma stabilitesi artırılabilir. Ancak bu etkileşim sonucunda önemli miktarda renk kaybı da gerçekleşebilmektedir. Bu durum, şarap antosiyaninlerinin de pozitif yüklü olmalarından kaynaklanmaktadır (35).

Bal k (2003) kırmızı ve rosé şarapların antosiyanin

konsantrasyonu ve renk yoğunluğu üzerine bentonit ile durultmanın etkisini incelemiştir. Araştırmada, şarap örneklerine Nacalit ve Sabenil olarak bilinen iki farklı ticari bentonit; 0,5, 1,0 ve 1,5 g/L dozlarında uygulanmıştır. Bu uygulamada önemli düzeyde antosiyanin kaybı saptanmıştır. Örneğin, şaraba 1,5 g/L dozunda bentonit uygulandığında, %18,9-30 oranında antosiyanin kaybı gerçekleşmiştir (51).

Diğer durultma faktörlerinin antosiyaninler üzerine etkisi

Durultma sonucu polifenoller ve antosiyanin kaybı yalnız durultma yardımcı maddesi türü ile ilgili olmayıp, aynı zamanda bu bileşikler durultma yardımcı maddesi dozundan da etkilenmektedir. Örneğin, Nacalit ve Sabenil olarak adlandırılan iki farklı ticari bentonit ile yapılan 4 farklı kırmızı ve rosé şarapların durultmasında; 0,5, 1,0 ve 1,5 g/L dozlarında bentonit kullanılmıştır. Araştırma sonucunda antosiyanin kaybı artan bentonit dozu ile birlikte artmıştır. Nitekim her iki çeşit bentonitin 0,5 g/L miktarında kırmızı şaraplarda bulunan antosiyaninlerin azalması %0-18 oranında iken, 1,5 g/L miktarında %6-30 oranında olduğu gözlemlenmiştir. Ancak görüldüğü gibi aynı dozlarda bile kayba uğrayan antosiyanin miktarları arasında büyük farklılık bulunmaktadır. Kayba uğrayan antosiyanin miktarları arasında görülen bu büyük farklılık, şarap çeşitlerindeki antosiyanin miktar ve kompozisyon farklılığından kaynaklanmaktadır. Örneğin yine bu araştırmada kırmızı şaraplar arasında en yüksek antosiyanin miktarına sahip örnekte antosiyanin kaybı %6-9 arasında bulunurken, en düşük antosiyanin miktarına sahip örnekte %26-30 arasında olduğu belirtilmektedir (51).

SONUÇLAR

Bu literatür araştırmasında, durultmanın şarap antosiyaninleri üzerine etkisinin; başta durultma yardımcı maddesi çeşidi olmak üzere, durultma yardımcı maddesi dozu, şarabın elde edildiği üzümün antosiyanin kompozisyonu ve üretim yöntemi gibi farklı parametrelere bağlı olduğu görülmüştür. Durultma yardımcı maddelerinin hepsi az veya çok antosiyaninleri azaltma eğilimi göstermektedir. Bu durultma yardımcı maddelerinden biri olan jelatinin antosiyaninler üzerine olan etkisi dolaylıdır. Jelatin, polifenoller ile interaksiyona girip flok oluşturduktan sonra çökelirken antosiyaninlerin bir kısmını da

beraberinde sürüklemektedir. Antosiyaninler üzerine etki mekanizmaları tam bilinmemesine rağmen yumurta albumininin ve kazeinin bu pigmenti olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir. Literatürde net bir bilgi olmamasına rağmen, bu iki protein bazlı durultma yardımcı maddeleri de antosiyaninleri, daha önce de bahsedilen jelatin gibi etki ettiği sanılmaktadır. Pigment adsorbe etme özelliğinden dolayı antosiyaninler üzerine olumsuz etkili bir diğer durultma yardımcı maddesi de, PVPP'dir. PVPP'nin polifenoller ve özellikle de flavonoid yapıdaki polifenoller üzerine etkisi hidrojen köprüsü oluşturarak adsorbe etme üzerine olmakta ve bu köprü düşük molekül ağırlıklı polifenollerle (proantosiyanidinler, kateşinler vb.) daha güçlü kurulmaktadır. Bu köprü ile, antosiyaninler de uzaklaşabilmektedir. Bu durultma yardımcı maddeleri dışında, toprak kökenli bir durultma yardımcı maddesi olan bentonitin başlıca işlevi şarapta bulunan ve bulanıklığa neden olan proteinleri uzaklaştırmak olsa da, antosiyaninleri de olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir. Bu durum, bentonitin negatif yüklü olmasından, buna karşın antosiyaninlerin ise, pozitif yüklü olmasından kaynaklanmaktadır. Durultma sonunda meydana gelen antosiyanin miktarındaki azalma oranı, sadece kullanılan durultma yardımcı maddesinden değil, aynı zamanda uygulanan durultma yardımcı maddesinin dozundan da etkilenmektedir. Genel olarak, durultma yardımcı maddesi dozu arttıkça, antosiyanin kaybı da artmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Kelebek H, Canbas A, Serkan S. 2009. Effects of different maceration times and pectolytic enzyme addition on the anthocyanin composition of Vitis Vinifera cv. Kalecik Karası wines. *J Food Process Pres*, 33, 296-311.
2. Rungsardthong V, Wongvuttanakul N, Kongpien N, Chotiwaranon P. 2006. Application of fungal chitosan for clarification of apple juice. *Process Biochem*, 41, 589-593.
3. de Carvalho LMJ, de Castro IM, da Silva CAB. 2008. A study of retention of sugars in the process of clarification of pineapple juice (Ananas comosus, L. Merrill) by micro- and ultra- filtration. *J Food Eng*, 87, 447-454.
4. Veleirinho B, Lopes-da-Silva JA. 2009. Application of electrospun poly (ethylene terephthalate) nanofiber mat to apple juice clarification. *Process Biochem*, 44, 353-356.

5. Muhlack R, Nordestgaard S, Waters EJ, O'Neill BK, Lim A, Colby CB. 2006. In-line dosing for bentonite fining of wine or juice: Contact time, clarification, product recovery and sensory effects. *Aust J Grape Wine R*, 12, 221-234.
6. Nordestgaard S, Chuan YP, O'Neill B, Waters E, Deans L, Policki P, Colby C. 2007. In-line Dosing of White Wine for Bentonite Fining with Centrifugal Clarification. *Am J Enol Viticult*, 52, 283-285.
7. Oliva J, Payá P, Cámara MA, Barba A. 2007. Removal of famoxadone, fluquinconazole and trifloxystrobin residues in red wines: Effects of clarification and filtration processes. *J Environ Sci Heal B*, 42, 775-781.
8. Rusanova TY, Beloglazova NV, Goryacheva IY, Lobeau M, Van Peteghem C, De Saeger S. 2009. Non-instrumental immunochemical tests for rapid ochratoxin A detection in red wine. *Anal Chim Acta*, 653, 97-102.
9. Yamane T, Jeong ST, Goto-Yamamoto N, Koshita Y, Kobayashi S. 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *Am J Enol Viticult*, 57, 54-59.
10. Lala G, Malik M, Zhao C, He J, Kwon Y, Giusti MM, Magnuson BA. 2006. Anthocyanin-rich extracts inhibit multiple biomarkers of colon cancer in rats. *Nutri Cancer*, 54, 84-93.
11. Takos AM, Jaffé FW, Jacob SR, Bogs J, Robinson SP, Walker AR. 2006. Light-induced expression of a MYB gene regulates anthocyanin biosynthesis in red apples. *Plan Physiol*, 142, 1216-1232.
12. Des Marais DL, Rausher MD. 2008. Escape from adaptive conflict after duplication in an anthocyanin pathway gene. *Nature*, 454, 762-766.
13. Gómez-Miguez M, González-Miret ML, Heredia FJ. 2007. Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. *J Food Eng*, 79, 271-278.
14. Castillo-Sánchez JX, García-Falcón MS, Garrido J, Martínez-Carballo E, Martins-Dias LR, Mejuto XC. 2008. Phenolic compounds and colour stability of Vinhão wines: Influence of wine-making protocol and fining agents. *Food Chem*, 106, 18-26.
15. Pocock KF, Waters EJ. 2006. Protein haze in bottled white wines: How well do stability tests and bentonite fining trials predict haze formation during storage and transport. *Aust J Grape Wine R*, 12, 212-220.
16. Poncet-LeGrand C, Doco T, Williams P, Vernhet A. 2007. Inhibition of grape seed tannin aggregation by wine mannoproteins: Effect of polysaccharide molecular weight. *Am J Enol Viticult*, 58, 87-91.
17. Gonzalez-Ramos D, Cebollero E, Gonzalez R. 2008. A recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain overproducing mannoproteins stabilizes wine against protein haze. *Appl Environ Microbiol*, 74, 5533-5540.
18. Esteruelas M, Poinssaut P, Sieczkowski N, Manteau S, Fort MF, Canals JM, Zamora F. 2009. Characterization of natural haze protein in sauvignon white wine. *Food Chem*, 113, 28-35.
19. Batista L, Monteiro S, Loureiro VB, Teixeira AR, Ferreira RB. 2009. The complexity of protein haze formation in wines. *Food Chem*, 112, 169-177.
20. Wu D, Bird MR. 2010. The interaction of protein and polyphenol species in ready to drink black tea liquor production. *J Food Process Eng*, 33, 481-505.
21. Lee WC, Yusof S, Hamid NSA, Baharin BS. 2007. Effects of fining treatment and storage temperature on the quality of clarified banana juice. *Food Sci Technol*, 40, 1755-1764.
22. Siebert KJ, Troukhanova NV, Lynn PY. 1996. Nature of polyphenol- protein interaction. *J Agric Food Chem*, 44, 80-85.
23. Siebert, KJ. 2006. Haze formation in beverages. *Food Sci Technol*, 39, 987-994.
24. Cemeroglu B, Karedeniz F. 2009. Meyve suyu üretim teknolojisi. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt I, Cemeroglu B. (ed.), s. 391-692, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
25. Betinez EI, Lozano JE. 2007. Effect of gelatin on apple juice turbidity. *Latin Am Appl Res*, 37, 261-266.
26. Iimure T, Nankaku N, Watanabe-Sugimoto M, Hirota N, Tiansu Z, Kihara M, Hayashi K, Ito K, Sato K. 2009. Identification of novel haze-active beer proteins by proteome analysis. *J Cereal Sci*, 49, 141-147.
27. Rao L, Hayat K, Lv Y, Karangwa E, Xia S, Jia C, Zhong F, Zhang X. 2011. Effect of ultrafiltration and fining adsorbents on the clarification of green tea. *J Food Eng*, 102, 321-326.
28. de Bruijn J, Valdebenito A, Loyola C, Serra I, Salazar F, López F. 2009. Continuous stabilization of chardonnay with ion-exchange resin: influence on protein and phenolic profiles of wine. *Chil J Agr Res*, 69, 54-59.

29. Goldner MC, Zamora MC. 2010. Effect of polyphenol concentrations on astringency perception and its correlation with gelatin index of red wine. *J Sens Stud*, 25, 761-777.
30. Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. 2006. The concept of clarity and colloidal phenomena. In: *Handbook of Enology*, Vol. 2, p. 285-300. Aquitaine Traduction, Bordeaux, France.
31. Sanborn M, Edwards CG, Ross CF. 2010. Impact of fining on chemical and sensory properties of Washington State Chardonnay and Gewürztraminer Wines. *Am J Enol Viticult*, 61, 31-41.
32. Blade WH, Boulton R. 1988. Adsorption of protein by bentonit in a model wine solution. *Am J Enol Viticult*, 39, 193-199.
33. Morris JR, Main GL. 1995. Fining agents for wine. Proc. 14th NM Conf.
34. Schubert M, Glomb MA. 2010. Analysis and chemistry of migrants from wine fining polymers. *J Agric Food Chem*, 58, 8300-8304.
35. Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. 2006. Clarification and stabilization treatments: Fining wine. In: *Handbook of Enology*, Vol. 2, p. 301-330. Aquitaine Traduction, Bordeaux, France.
36. Maury C, Sarni-Manchado P, Lefebvre S, Cheynier V, Moutounet M. 2001. Influence of fining with different molecular weight gelatin on proanthocyanidin composition and perception of wines. *Am J Enol Viticult*, 52, 140-145.
37. Versari A, Barbanti D, Potentini G, Mannazzu I, Salvucci A, Galassi S. 1988. Pysico-chemical characteristics of some oenological gelatins and their action on selected red wine component. *J Sci Food Agr*, 78, 245-250.
38. Turfan Ö, Türkyılmaz M, Yemiş O, Özkan M. 2011. Anthocyanin and colour changes during processing of pomegranate (*Punica granatum* L., cv. Hicaznar) juice from sacs and whole fruit. *Food Chem*, 129, 1644-1651.
39. Djagny KB, Wang Z, Shiyong X. 2001. Gelatin: A valuable protein for food and pharmaceutical industries: Review. *Crit Rev Food Sci*, 41, 481-492.
40. Spagna G, Barbagallo RN, Pifferi PG. 2000. Fining treatments of white wines by means of polymeric adjuvants for their stabilization against browning. *J Agric Food Chem*, 48, 4619-4627.
41. Kalkan-Yıldırım, H. 2011. Effects of fining agents on antioxidant capacity of red wines. *J I Brewing*, 117, 55-60.
42. Doner LW, Bécard G, Irwin PL. 1993. Binding of flavonoids by polyvinylpyrrolidone. *J Agric Food Chem*, 41, 753-757.
43. Ough CS. 1960. Gelatin and polyvinylpyrrolidone compared for fining red wines. *Am J Enol Viticult*, 11, 170-173.
44. Oliveira CM, Ferreira ACS, De Freitas V, Silva AMS. 2011. Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Res Int*, 44, 1115-1126.
45. Cheynier V, Duenas-Paton M, Salas E, Maury C, Souquet J, Sarni-Machado P, Fulcrand H. 2006. Structure and properties of wine pigments and tannins. *Am J Enol Viticult*, 57, 298-305.
46. Li H, Guo A, Wang H. 2008. Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chem*, 108, 1-13.
47. Bal k J, Kyseláková M, Veverka J, Tr ska J, Vrchotová N, Totusek J, Lefnerová D. 2007. The effect of clarification on colour, concentration of anthocyanins and polyphenols in red wine. *Acta Hort*, 754, 563-568.
48. Puskas VS, Miljic UD. Effects of fining on phenolic compounds and colour of red wine obtained with addition of increased amounts of grape solid phase in pomace. (*In press*).
49. Castillo-Sánchez JJ, Mejuto JC, Garrido J, Garc a-Falcón S. 2006. Influence of wine-making protocol and fining agents on the evolution of the anthocyanin content, colour and general organoleptic quality of Vinhão wines. *Food Chem*, 97, 130-136.
50. Sims CA, Eastridge JS, Bates RP. 1995. Changes in phenols, color and sensory characteristics of muscadine wines by pre- and post- fermentation additions of PVPP, casein and gelatin. *Am J Enol Viticult*, 46, 155-158.
51. Bal k J. 2003. Effect of bentonite clarification on concentration of anthocyanins and colour intensity of red and rosè wines. *J Am Soc Hortic Sci*, 30, 135-141.