

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ

FERMANTASYON TEKNOLOJİSİ
UYGULAMA FÖYÜ

1. pH Ölçümü

pH, bir çözeltideki serbest hidrojen iyonları miktarını gösterir ve hidrojen iyonları derişiminin (-) logaritması olarak ifade edilmektedir.

Alet-Ekipman: pH-metre

Örnek: Şıra / şarap

Prosedür: pH, pH-metrenin cam elektrodunun doğrudan örneğe daldırılması ile ölçülmektedir.

Sonuç: pH değeri titrasyon asitliğiyle ilişkili olmakla birlikte, beyaz üzüm şırasında 3.1-3.2, kırmızı üzüm şırasında ise 3.3-3.4 uygun pH değeri olarak verilmektedir.

2. Briks Ölçümü

Briks, yüzde suda çözünür kurumadde dir.

Prensip

Refraktometre ile suda çözünür kurumadde oranı belirlenmektedir. Refraktometrenin ilkesi; optik yoğunluğu birbirinden farklı ortamlarda, ışığın bir ortamdan diğerine geçerken kırılması olayına ve Snellius-Descartes kırılma yasası'na dayanmaktadır.

Refraktometre çeşitleri (Şekil 1):

- Abbe refraktometreleri (Dijital ve manuel)
- El refraktometreleri (Dürbün ve Dijital)
- Sıcaklık ayarlamalı dijital refraktometreler



Şekil 1. Refraktometre tipleri

- Refraktometre skalası 20°C'ye göre ayarlandığı için, bu sıcaklık dışında yapılmış ölçümlerde mutlaka düzeltilme uygulanmalıdır.
- Şaraba işlenecek üzüm şırasının briks değerinin 20-25°Bx arasında olması istenir (Şekil 2).
- Üzüm şırasındaki SÇK (suda çözünür kurumadde) miktarının büyük bir kısmını şeker oluşturmakta, alkol fermentasyonunun temel maddesi de şeker olduğu için refraktometre ölçümleriyle şeker miktarı hakkında bilgi edinilmektedir.
- Hasat zamanının belirlenmesinde briks değerinin titrasyon asitliğine oranı (°Bx:TA%) da kullanılabilmektedir. Bu oran olgunluk indeksi olarak ifade edilmektedir. Şıranın olgunluk indeksi 30:1-35:1 arasında olduğunda elde edilen şarapların çok dengeli olduğu belirtilmiştir.

Briks ölçümünde sıcaklık düzeltme (Bkz. EK 1)

Örnek: Üzüm şirasının briks değeri 29°C’de 21.6 olarak okunmuştur. Düzeltelim!

$$21.6 + 0.71 = 22.3\%$$



Şekil 2. Üzüm tanesinde briks ölçümü

3. Titrasyon Asitliği

Potansiyometrik ve volumetrik yöntemlerle yapılabilmektedir. Potansiyometrik yöntemde tek fark, analizin pH-metre eşliğinde yapılması ve indikatör kullanılmamasıdır. Bu yöntemde titrasyonun bitiş noktasına, kullanılan indikatörün renk dönüm aralığına göre (izoelektrik nokta) karar verilmektedir. Asit tayini için kullanılan fenolftaleinin dönüm noktası pH 8.1-8.2 olduğundan, bu değere ulaşıldığında titrasyona son verilir.

Potansiyometrik titrasyonlar kimyasal indikatör varlığından daha doğru ve duyarlı sonuç vermektedir. Ayrıca kimyasal indikatörlerle bulanık ve renkli çözeltilerde titrasyon sonu gözlenemediği halde potansiyometrik titrasyonlarda böyle bir sorun yoktur.

Tablo 1. Bazı organik asitler ve bulundukları gıdalar

Asit cinsi	Gıda
Sitrik asit	Turunçgiller, kayısı, ahududu, çilek, domates
Malik asit	Elma, armut, erik
Laktik asit	Süt ve ürünleri, sucuk, turşu, bira
Asetik asit	Sirke
Tartarik asit	Üzüm, şarap

Tablo 2. Titrasyon asitliği hesaplamasında bazı organik asitlerin moleköl ağırlığı, eşdeğer gram ve miliekivalen gramları

Asit cinsi	Molekül ağırlığı (gram)	Eşdeğer gram (ekivalen gram)	Miliekivalen gram (mEq)
Laktik asit	90	90	0.090
Tartatik asit	150	75	0.075
Malik asit	134	67	0.067
Sitrik asit	192	64	0.064
Asetik asit	60	60	0.060

Kırmızı şaraplar için şıranın asit miktarının 6.5 g/L'den ve pH değerinin ise 3.4'ten düşük olması gerektiği belirtilmiştir. Şarapların asitliklerinin 6-9 g/L arasında olması gerekmektedir. Sirkede ise titrasyon asitliği 4-5 g/100 mL arasında değişmektedir.

3.1. Potansiyometrik Yöntem

Prosedür: 10 mL şıra/şarap örneği, 90 mL distile su ile seyreltildikten sonra 0,1 N NaOH çözeltisi ile pH 8.1 değerine kadar titre edilir. Sonuç, tartarik asit cinsinden “g/L” olarak hesaplanır.

$$\text{Titrasyon Asitliği, } \frac{\text{g}}{\text{L}} = \frac{75 \times N \times S}{M}$$

N: Titrasyon için kullanılan NaOH çözeltisinin normalitesi

S: Titrasyon için harcanan 0,1N NaOH çözeltisi, mL

M: Alınan örnek miktarı, mL

3.2. Volumetrik Yöntem

Kimyasallar:

- % 1 lik fenolftalein indikatörü: 1 g fenolftalein % 95 lik etil alkol ile 100 L'ye tamamlanır.
- 0,1 N NaOH çözeltisi: 4 g NaOH damıtık su ile litreye tamamlanır.

Prosedür: 25 mL sıvı örnek erlenmayere alınır. Üzerine 2-3 damla fenolftalein damlatıldıktan sonra 0,1N NaOH ile açık pembe renge kadar titre edilir. NaOH sarfiyatı, mL olarak kaydedilir. Tartarik asit cinsinden hesaplama yapılır.

Hesaplama:

$$\% \text{ asit} = (a \times N \times \text{meq} \times F \times 100) / b$$

a= NaOH çözeltisi sarfiyatı, mL

N= NaOH çözeltisi normalitesi

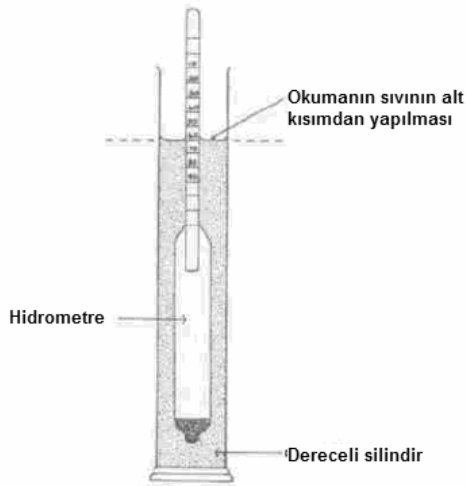
meq= asidin meq ağırlığı

F= NaOH çözeltisi faktörü

b= örnek miktarı, mL

4. Yoğunluk Tayini

4.1. Hidrometre



Şekil 3. Hidrometre ile şıradaki yoğunluk ölçümü

Şıranın şeker miktarını ölçmede çeşitli hidrometrelerden (aerometre) yararlanılmaktadır (öksele metre, bomemetre, dansimetre). Skalada okunan değerler şıradaki şeker miktarı ve elde edilecek şaraptaki potansiyel alkol miktarı hakkında fikir vermektedir.

Prosedür: Uygun bir ölçü silindirine (dar çaplı ve uzun) şıra doldurulur, hidrometre yavaşça daldırılır ve hafifçe döndürülüp kendi haline bırakılır. Dengeye gelen hidrometrenin ölçü silindirine temas etmemesi gerekmektedir. Hava kabarcığı veya partiküller giderilmelidir. Skala göz hizasına alınarak değer okunur. Aletin ayarlı olduğu sıcaklık derecesinde ölçüm yapılması en doğru yöntemdir. Bu mümkün değilse sıcaklık düzeltilmesi yapılmalıdır.

Tablo 3. Yoğunluk, briks, bome ve potansiyel alkol eşdeğerleri (20°C) (Güven, 2008)

Yoğunluk (20 °C)	Briks Der.	Bome Der.	Pot.Alk. (%-v/v)	Yoğunluk (20 °C)	Briks Der.	Bome Der.	Pot.Alk. (%-v/v)
1,0400	10,0	5,6	5,1	1,0811	20,0	11,1	10,8
1,0450	11,2	6,2	5,8	1,0846	20,4	11,3	11,3
1,0500	12,4	6,9	6,5	1,0900	21,6	12,0	12,0
1,0551	13,6	7,6	7,2	1,0945	22,8	12,7	12,7
1,0602	14,8	8,2	7,8	1,1009	24,0	13,3	13,4
1,0653	16,0	8,9	8,6	1,1046	24,8	13,8	14,1
1,0706	17,2	9,6	9,2	1,1101	26,0	14,4	14,9
1,0758	18,4	10,2	9,9				

4.2. Piknometre

Prosedür: Piknometre ile ölçümde 50 mL hacmindeki, hassas tartımla (virgülden sonra dört basamak) darası alınmış piknometre destile su ile doldurularak 20°C'deki su banyosunda ½ saatte çizgisine getirilir. Tartılarak su kıymeti belirlendikten sonra boşaltılır. İşlem, şarap örneği ile tekrarlanır. Şarap ağırlığının, su ağırlığına bölünmesiyle bulunan değer şarabın 20/20°C'deki yoğunluğunu (özgül ağırlığını) vermektedir (Güven, 2008).

5. Alkol Tayini

5.1. Damıtma Yöntemi ile Alkol Tayini

Prensip: Belli ölçüde alınan bira veya şarabın damıtılarak, elde edilen damıtık alkollü suyun yine alınan örnek hacmine saf su ile tamamlandıktan sonra alkolimetre ile alkol miktarının ölçülmesi esasına dayanır.

Prosedür: 100 mL örnek alınarak damıtma balonuna (500'mL'lik) bir miktar d.su ile yıkanarak konur ve damıtma balonuna birkaç kaynama taşı atılarak hafif ateşte damıtılır. Eğer örnek bira ise CO₂ çalkalanarak veya filtre edilerek giderilir. Damıtık toplama kabı olarak 100 mL lik ölçü balonu kullanılır. Örnek miktarının %75-85'i distilatta toplanana kadar devam edilir. Sonra ölçü balonu su ile çizgisine tamamlanır ve karıştırılır. Elde edilen alkollü sıvı bir mezüre dökülerek alkolimetre ile alkol miktarı bulunur.

5.2. Ebülyometre ile Alkol Tayini

Prensip: Şaraplarda alkol miktarının belirlenmesinde pratik ve hızlı sonuç veren ebülyometrelerden yararlanılmaktadır. Analizin prensibi, alkolün ve suyun kaynama noktaları arasındaki farka dayanmaktadır. Atmosfer basıncı altında suyun kaynama noktası 100°C, alkolün ise 78°C'dir. Alkol miktarı ne kadar fazla ise örneğin kaynama noktası da o kadar 78°C'ye yaklaşacaktır.

Prosedür: Örnek haznesi 15 mL su ile doldurulur ve termometre takılır. İspirto lambası yakılır ve kazanın altına sürülür. Haznedeki su kaynayınca termometrede cıva seviyesi sabitlenir ve bu sıcaklık derecesi kaydedilir (suyun kaynama noktası). Ebülyometre skalasında suyun kaynama noktası sıfıra getirilir. Ardından örnek haznesindeki su boşaltılır ve analiz edilecek şarap örneği ile bir kaç defa haznenin yıkanması sağlanır. 50 mL şarap örneği hazneye dökülür. Aynı şekilde kaynama noktası belirlenir. Örneğin kaynama derecesine karşılık gelen alkol miktarı % hacim olarak okunur.

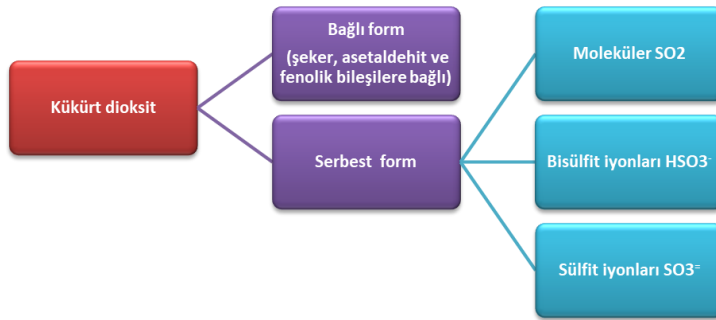
5.3. Piknometre ile alkol tayini

Prensip: Damıtılmış alkollü suyun piknometre ile yoğunluğu bulunduktan sonra özel çizelgeler yardımıyla, yoğunluğa karşılık olan alkol miktarının belirlenmesine dayanır.

6. Serbest ve Toplam SO₂ Tayini

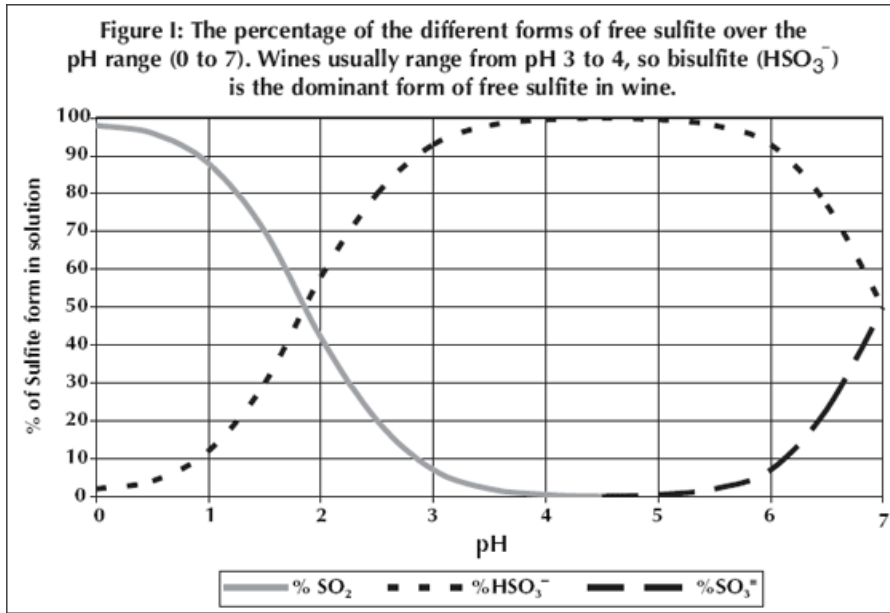
Kükürt dioksitin gıda koruyucu olarak kullanımı eski çağlardan beri bilinmektedir. Gıdalara uygun dozda bilinçli olarak kullanıldığında en iyi ve güvenli koruyuculardan biridir. Şarap üretiminde, alkol fermentasyonunun sonunda şaraplarda mayaların açığa çıkardığı bir miktar SO₂ bulunmaktadır. SO₂'nin önemli kısmı ise şarap yapımı aşamasında eklenmektedir.

Şarapta kükürt dioksit bağlı ve serbest olmak üzere iki farklı şekilde bulunmaktadır. Kükürtdioksit suda çözündüğünde kükürtlü asit oluşturur. Bu asit (H₂SO₃) moleküllü çözeltide, HSO₃⁻ ve SO₃²⁻ + H⁺ formları halinde bulunur. Şarabın oksidasyon gibi etkilere karşı korunmasını sağlayan da serbest SO₂ kısmıdır (Şekil 4).



Şekil 4. Şarapta kükürt dioksitin formları

Şarap pH aralığında serbest formun % 1-7'si çözünmüş gaz halinde bulunurken, %0,01-0,1'lik kısmını SO₃²⁻ (serbest sülfid iyonları) oluşturmaktadır. Geriye kalan büyük bölümü (%90-99 of SO₂) de HSO₃⁻ (bisülfid iyonları) formunda bulunmaktadır (Şekil 5). Şaraptaki bileşikler okside oldukça serbest (aktif) SO₂ konsantrasyonu azalmaktadır (Jackson, 2008).



Şekil 5. Serbest kükürdün üç formu ve pH'ya bağlı dağılımları

SO₂'nin koruyucu özelliği

- Antimikrobiyal etki: Düşük SO₂ seviyeleri bir çok bakteri türünü (lactobacillus, pediococcus ve oenococcus) elimine ederken, mayaların gelişimini ise bir kaç gün inhibe edebilmektedir. Yüksek seviyelerde ise tüm bakteri, maya ve küfler ortadan kalkmaktadır.
- Antioksidan etki:
 - Direkt: Çözünmüş oksijene bağlanarak sülfite oluşturur.
 - İndirekt: Asetaldehit gibi karbonil bileşikleriyle reaksiyonu sonucu enzimatik olmayan oksidasyonu inhibe eder. Böylece şarabın oksidasyonu ve renkteki esmerleşme önlenir.
 - Enzimatik oksidasyonun inhibisyonu

Potasyum metabisülfite (disülfite, pirodisülfite), sodyum disülfite (metabisülfite, pirodisülfite), sıvılaştırılmış kükürt dioksit gazı ve %5-6'lık kükürt dioksit (SO₂) çözeltisi mayşe, şıra veya şarapları kükürtlemede kullanılmaktadır (Güven, 2008).

SO₂ Tayini

Kimyasallar:

- N/64'lük İyot (I₂) çözeltisi: 1,983 g iyot ve 5 g potasyum iyodür bir miktar d.su ile bulamaç haline getirilir ve yaklaşık 100 mL d.su da çözündürülüp ölçü balonuna kayıpsız alınarak litreye tamamlanır.
- 1 N Sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi: 40 g NaOH çözündürülerek litreye tamamlanır.
- %25'lik Sülfürik asit (H₂SO₄) çözeltisi (1+6): 6 hacim saf su üzerine yavaşça ve karıştırarak 1 hacim asit eklenir.
- %1'lik Nişasta çözeltisi: 1 g nişasta yaklaşık 90 mL d.suda karıştırılıp kaynatılır. Soğuyunca 100 mL'ye tamamlanır.

Not: Kırmızı şıra ve şarap örneklerinde renk dönümünü iyi görebilmek için güçlü bir ışık kaynağı kullanılabilir.

Serbest SO₂ Tayini:

Prosedür: 250 mL'lik erlene 50 mL şarap örneği pipetin ucu tabana değecek şekilde pipetlenir. Üzerine 5 mL nişasta çözeltisi ve 5 mL asit çözeltisi eklenir. İyot çözeltisi ile mavi renk 20 saniye kalıcı olacak şekilde titre edilir.

$$\text{Serbest SO}_2 \text{ miktarı (mg/L)} = \text{Sarfiyat (mL)} \times 10$$

Toplam SO₂ Tayini:

Prosedür: 250 mL'lik erlene 25 mL 1 N NaOH çözeltisi alınır. Ardından pipetin ucu çözeltinin içinde olarak şekilde 50 mL şarap örneği eklenir. Çalkalanıp, kapağı kapatılır ve karanlıkta 15 dakika hidrolizasyon için bekletilir. Bu aşamada bağlı haldeki kükürt dioksit serbest duruma geçer. Bu süre sonunda erlen çalkalanır, 5 mL nişasta çözeltisi ve 10 mL asit çözeltisi ilave edilir. İyot çözeltisi ile mavi renk 20 saniye kalıcı olacak şekilde titre edilir.

$$\text{Toplam SO}_2 \text{ miktarı (mg/L)} = \text{Sarfiyat (mL)} \times 10$$

$$\text{Toplam SO}_2 \text{ miktarı} - \text{Serbest SO}_2 \text{ miktarı} = \text{Bağlı SO}_2 \text{ miktarı}$$

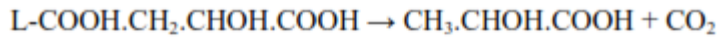
Sonuç: Tablo 4'e göre değerlendiriniz.

Tablo 4. Türk Gıda Kodeksi gıda katkı maddeleri yönetmeliğine göre SO₂ sınırları

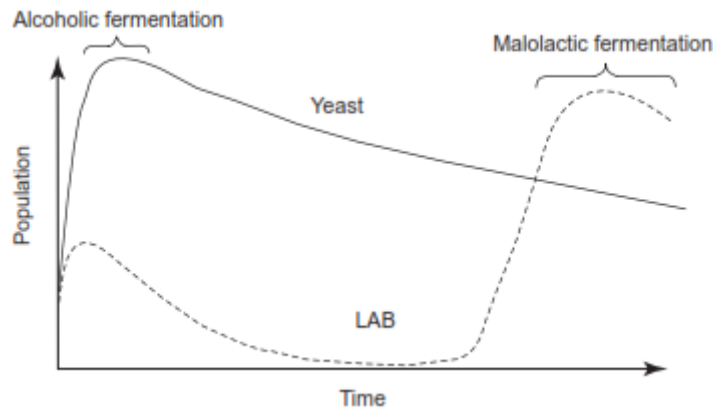
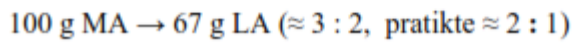
E-kodu	Adı	Maksimum miktar(mg/L veya mg/kg)	Sınırlamalar/istisnalar
E 220 – 228 (Ek satır:RG- 24/11/2014-)	Kükürt dioksit — sülfidler	200	sadece kırmızı şarap (şeker oranı 5g/L' den çok olanlar)
E 220 – 228 (Ek satır:RG- 24/11/2014-)	Kükürt dioksit — sülfidler	<u>150</u>	<u>sadece kırmızı şarap (şeker oranı 5g/L' den az olanlar)</u>
E 220 – 228 (Ek satır:RG- 24/11/2014-)	Kükürt dioksit — sülfidler	250	sadece beyaz ve roze şarap (şeker oranı 5g/L' den çok olanlar)
E 220 – 228 (Ek satır:RG- 24/11/2014-)	Kükürt dioksit — sülfidler	<u>200</u>	<u>sadece beyaz ve roze şarap (şeker oranı 5g/L' den az olanlar)</u>
E 220 – 228 (Ek satır:RG- 24/11/2014-)	Kükürt dioksit — sülfidler	235	sadece köpüklü şarap
E 220 – 228 (Ek satır:RG- 24/11/2014-)	Kükürt dioksit — sülfidler	200	sadece likör şarabı (şeker oranı 5g/L' den çok olanlar)
E 220 – 228 (Ek satır:RG- 24/11/2014-)	Kükürt dioksit — sülfidler	150	sadece likör şarabı (şeker oranı 5g/L' den az olanlar)

7. Malolaktik fermentasyonun (MLF) takibi

Malolaktik fermentasyon, şarap üretiminde alkol fermentasyonunun ardından ikincil fermentasyon olarak meydana gelmektedir (Şekil 6). Laktik asit bakterileri (LAB) tarafından malik asidin laktik aside dönüştürülmesidir. Üzümünden doğal olarak fermentasyon florasına katılan LAB tarafından gerçekleştirilebileceği gibi ticari suşların inokülasyonu ile kontrollü bir şekilde MLF tamamlanması da sağlanabilmektedir. Sonuçta, 2 değerli malik asidin 1 değerli laktik aside dönüşmesi ile toplam asit miktarında bir düşüş olmaktadır.



L-Malik Asit	Laktik Asit	Karbon dioksit
134 g	90 g	44 g
%100	%67	%33



Şekil 6. Şarap fermentasyonu boyunca maya ve laktik asit bakterilerinin miktarı

Prensip: Organik asitlerin hareketli fazdaki çözünürlüklerine ve sabit faza (kağıt) ilgilerine bağlı olarak seperasyonunun sağlanmasına dayanır. Kağıt kromatografisinde ayırım iki temel etki ile meydana gelmektedir. Bunlar kılcal etki ve çözünme özelliğidir.

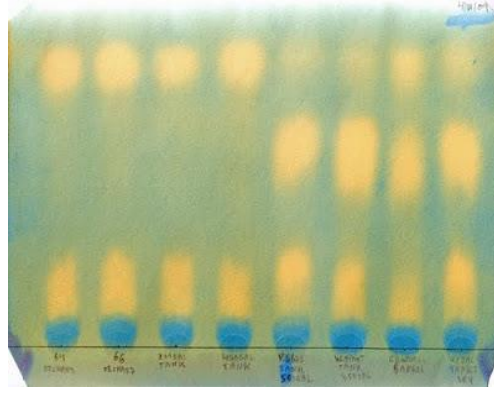
Kimyasallar:

Hareketli faz: 100 mL butanol (%0.1 bromophenol blue içeren), 25 mL asetik asit, 25 mL distile su ile hazırlanır.

Kromatografi kağıdı (20x20)

Yürütme tankı

Prosedür: Hareketli faz 1 cm yüksekliğe kadar yürütme tankına doldurulur ve tankın kapağı kapatılarak çözücünün buharıyla dengeye gelmesi sağlanır. Kromatografi kağıdının alt tarafından 3 cm üstüne kurşun kalemle bir çizgi çizilir. Sağdan-soldan ve örnekler arası 2.5 cm mesafe olacak şekilde örneklerin damlatılacağı yerler işaretlenir. Kapiler bir pipet veya kürdan yardımı ile standartlar ve şarap örnekleri damlatılır, kurutulup 3-4 kere daha tekrarlanır. Kromatografi kağıdı yürütme tankına yerleştirilir. Sekiz saat sonra tanktan çıkarılarak kurutulur ve değerlendirilir (Şekil 7).



Şekil 7. Kağıt kromatografisi örneği (yukarıdan aşağıya; laktik asit, malik asit, tartarik asit)

8. Uçar Asit Tayini

Fermentasyon sırasında meydana gelen asetaldehitin bir kısmı, bünyesine oksijen alarak asetik asite dönüşmektedir. Şaraplardaki uçucu asitlerin büyük çoğunluğunu asetik asit oluşturmaktadır. Şaraplarda fermentasyona bağlı olarak meydana gelen uçucu asitlerin miktarı 0,2-0,8 g/L arasında değişir.

Normal koşullarda uçucu asit miktarının beyaz şaraplarda 0,9 g/L, kırmızı şaraplarda 1,2 g/L'nin üzerinde olması, asetik asit bakterilerinin faaliyete geçtiğini, yani sirkeleşmeyi işaret etmektedir.

Başlıca uçucu asitler asetik asit, formik asit ve yüksek yağ asitleridir. Asetik asit miktarının diğerlerinden fazla olması nedeniyle uçucu asit analizlerinde sonuç asetik asit cinsinden g/Lolarak verilmektedir.

Prensip: Buharlı destilasyonla ayrılan uçucu asitlerin titrasyonla belirlenmesine dayanmaktadır. Öncelikle şaraptan karbon dioksitin uzaklaştırılması gerekmektedir.



Şekil 8. Uçar asit düzeneği

Prosedür: 50 ml test örneği vakum erlenine konur, su trompuna bağlanır, 1-2 dakika devamlı çalkalanarak vakum altında karbon dioksitten arındırılır. CO₂'ten arındırılmış 5 ml test örneği armut

şekilli cam kaba pipetlenir. Armut şekilli kap içinde d.su bulunan aletin özel erlenmeyerine yerleştirilir. Erlenmeyerdeki su düzeyinin örnek düzeyinin üstünde olmasına dikkat edilir. Suya birkaç kaynama taşı atılabilir. Sistem kurulduktan sonra erlenmeyerin altındaki bek yakılır, bek alevi güçlü bir şekilde buhar üretimine uygun olacak şekilde ayarlanır. 100 ml'lik erlenmeyerde 60 ml destilat toplanınca işleme son verilir (Şekil 8). Erlenmeyerdeki destilat küçük kabarcıklar oluşuncaya kadar ısıtılır. Soğuduktan sonra fenolftaleine karşı 0,1 N NaOH ile titre edilir. Sonuç, g/L olarak, bir desimalle verilir.

Hesaplama: Uçar asit (g/L) = S x F x 1.2 (asetik asit cinsinden)

9. Şeker Tayini (Luff-Schoorl Yöntemi)

Kimyasal ve Çözeltiler

1) Alkali bakır tuzu çözeltisi: 25 g bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 50 g sitrik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 388 g sodyum karbonat ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) veya 143,6 g susuz Na_2CO_3 d.su ile çözündürülerek L'ye tamamlanır.

Öncelikle bakır sülfat 100 ml d.suda, sitrik asit 300 ml d.suda, sodyum karbonat 300-400 ml s ıcak d.suda eritilir. Litrelik ölçü balonunda sitrik asit ve sodyum karbonat yavaşça karıştırıldıktan sonra bakır sülfat eklenir ve çizgisine d.su ile tamamlanır.

2) %30'luk Potasyum iyodür (KI) çözeltisi: 30 g potasyum iyodür (KI) bir miktar d.suda çözündürülerek ölçü balonunda 100 ml'ye tamamlanır. Renkli cam şişede saklanmalıdır.

3) %25'lik Sülfürik asit (H_2SO_4): 25 g = 15 ml konsantre sülfürik asit (yoğunluğu: 1,84 g/ml) 75 ml d.suya yavaşça ilave edilir ve soğuyunca d.su ile 100 ml'ye tamamlanır.

4) %1'lik Nişasta çözeltisi: 1 g çözünür nişasta 90 ml d.suya ilave edilir. Kaynama noktasına kadar ısıtılır, bagetle karıştırılarak 10 dakika kaynatılır. Soğuyunca d.suyla 100 ml'ye tamamlanır.

5) 0,1 N Sodyum tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi: 25 g sodyum tiyosülfat bir miktar d.suda çözündürülerek ölçü balonunda L'ye tamamlanır.

6) %15'lik Potasyum hekzasiyanoferrat ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$) çözeltisi: 15 g potasyum hekzasiyanoferrat bir miktar d. suda çözündürülerek ölçü balonunda 100 ml'ye tamamlanır (Carrez I).

8) %30'luk Çinko sülfat ($\text{Zn SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) çözeltisi: 30 g çinko sülfat bir miktar d. suda çözündürülerek ölçü balonunda 100 ml'ye tamamlanır (Carrez II).

İşlem:

100 ml'lik ölçü balonuna 25 ml şarap (9 g/L' in üstünde şeker içermemeli), 5'er ml Carrez I ve Carrez II çözeltileri pipetlenerek d. su ile 100 ml'ye tamamlanır. 10 dakika sonra katlı filtreden süzülür. Bir erlenmeyere (300 ml) 25 ml alkali bakır tuzu çözeltisi, 15 ml d.su ve 25 ml filtrat pipetlenir ve karıştırılır. Bir miktar küçük sünger taş ı ilave edilir. Geri soğutucu altında 2 dakikada kaynayacak şekilde ısıtılır ve 10 dakika kaynatılır.

Akar su altında hemen soğutulur. Ardından 10 ml KI, 25 ml sülfürik asit ve 2 ml nişasta çözeltileri eklenir. 0,1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile boz renge kadar titre edilir. Sarfiyat, n ml olarak kaydedilir. Ayrıca kör örnek hazırlanır. Yukarıdaki işlem filtrat yerine 25 ml d. su konarak tekrarlanır. Sarfiyat, n' ml olarak kaydedilir.

Sonuç: İndirgen şeker miktarı (invert şeker cinsinden) (n'-n) olan sodyum tiyosülfat çözeltisi sarfiyatının tiyosülfat çözeltisinin faktörüyle çarpıldıktan sonra Tablo 5'e uygulanması ve seyreltme faktörü ile çarpılmasıyla bulunur. Sonuç, tek ondalıkla verilir.

Örnek:

$n' = 24,8$ ml (kör deney sarfiyatı)

$n = 8,2$ ml (test örneği sarfiyatı)

$n' - n = 16,6$ ml ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), çözelti faktörü 1 ise sarfiyat 16,6 ml olacaktır.

Çizelge 26.1'e göre 16,6 ml sarfiyatın karşılığı olan invert şeker cinsinden indirgen şeker miktarı 43 mg'dır.

Şöyle ki; 16 ml'nin karşılığı 41,3 mg + 0,6 ml'nin karşılığı $2,9 \times 0,6 = 1,7$ mg olup toplamı 43 mg invert şeker etmektedir.

Seyreltme faktörü $(0,16) \times 43 = \text{İ.şeker miktarı } 6,9$ g/L'dir.

Tablo 5. 0,1 N Sodyum Tiyosülfat Sarfiyatına (ml) Eşdeğer İnvirt Şeker Cinsinden İndirgen Şeker Miktarları

n/10 Tiyosülfat Sar. (ml)	İ. Şeker Mik. (mg)	Kesir için Faktör	n/10 Tiyosülfat Sar. (ml)	İ. Şeker Mik. (mg)	Kesir için Faktör
1	24	2,4	13	33,0	2,7
2	4,8	2,4	14	35,7	2,8
3	7,2	2,5	15	38,5	2,8
4	9,7	2,5	16	41,3	2,9
5	12,2	2,5	17	44,2	2,9
6	14,7	2,5	18	47,1	2,9
7	17,2	2,6	19	50,0	3,0
8	19,8	2,6	20	53,0	3,0
9	22,4	2,6	21	56,0	3,1
10	25,0	2,6	22	59,1	3,1
11	27,6	2,7	23	62,2	
12	30,3	2,7			

Not: Kör değer çözelti değiştirilince ve zaman aral 10 uzadıka tekrarlanır.

%25'lik Sülfürik asit ilavesi sırasında karbon dioksit bağı olarak köpürme meydana geleceğinden dikkatli olunmalıdır.

Sakroz miktarı belirleneceği zaman HCl ile inversiyon yapılması gerekmektedir. Bunun için berraklaştırma sonrası elde edilen filtrattan 25 ml 100 ml'lik ölçü balonuna pipetlenir. Damutık su ile 75 ml'ye seyreltilir. Su banyosunda en çok 5 dakikada 67-70 °C'ye ısıtılır. Bu sıcaklıkta 5 ml HCl ilave edilir. Ölçü balonunun içine termometre konur ve sık sık çalkalanarak 5 dakika 67-70 °C'de tutulur. İnversiyondan sonra derhal 20 °C'ye soğutulur. Ardından %30'luk KOH veya NaOH ile fenol ftaleyn varlığında nötralize edilir. Rengi gidermek üzere asetik asit kullanılabilir. Balon çizgisine d. su ile tamamlanır. Bundan 25 ml alınarak yukarıda anlatıldığı şekilde invert şeker tayini yapılır. Böylece belirlenen toplam invert şeker miktarından inversiyon öncesi bulunan invert şeker miktarı çıkarıldıktan sonra bulunan değer (g/L) 0,95 faktörüyle çarpılarak sakaroz miktarı (g/L) hesaplanmış olur.

Şeker içeriği	İsmlendirme
En fazla 4 g/L	Sek
En fazla 9 g/L (Tartarik asit cinsinden toplam asit miktarı kalan şeker miktarından en fazla 2 g az olmak koşuluyla)	
< 12 g/L veya ≥ 4 g/L	Dömi-sek
< 45 g/L veya ≥ 12 g/L	Yarı Tatlı
En az 45 g/L	Tatlı

Tablo 6. Şarapların şeker içeriklerine göre ismlendirilmesi

10. Renk Yoğunluğu ve Renk Tonu Tayinleri (Spektrofotometrik)

Renk yoğunluğu değeri (RY): Rengin yoğunluğunu gösteren bir terim olup; 420, 520 ve 620 nm dalgaboylarındaki absorbansların toplamı olarak ifade edilmektedir.

$$RY = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Renk tonu değeri (RT): 420 nm'deki absorbans değerinin 520 nm'deki absorbansa oranı olarak ifade edilmektedir. Şaraplarda olgunlaşmayla birlikte turuncu renge doğru dönüşümün bir göstergesidir.

$$RT = A_{420} / A_{520}$$

11. Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini

Prensip: Monomerik antosiyaninlerin pH 1'de renkli oksonium formunun, pH 4.5'da ise renksiz hemiketal formunun hakim olması prensibine dayanmaktadır. Bu prensibe göre ortam pH 1 ve pH 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerleri arasındaki fark, antosiyanin konsantrasyonu ile doğrudan orantılıdır.

Kimyasallar:

- pH 1.0 Tampon çözeltisi: 0,025 M Potasyum klorür

Bir behere 1,86 g KCl tartılır ve üzerine 980 mL su eklenip karıştırıldıktan sonra, yoğun HCl ile pH değeri 1.0'e ayarlanır. Sonra 1 litrelik balona aktarılır ve hacmine tamamlanır.

- pH 4.5 Tampon çözeltisi: 0,4 M Sodyum asetat

Bir behere 54,43 g sodyum asetat ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) tartılır ve üzerine yaklaşık 960 mL su eklenip karıştırılır. pH değeri yoğun HCl ile 4.5'e ayarlanır. 1 Litrelik balona aktarılıp hacim çizgisine kadar tamamlanır.

Prosedür:

1. Öncelikle örneğe uygun seyreltme oranı belirlenir. Örnek, uygun absorbans aralığında (0.4-0.6) ölçüm sağlayacak şekilde pH 1 tampon çözeltisi ile seyreltilmelidir. Belirlenen seyreltme faktörü kaydedilir.
2. Örnekten biri pH 1 diğeri pH 4.5 tampon çözeltileri ile olmak üzere belirlenen seyreltme faktörüne uygun iki seyreltme yapılır. Seyreltme işlemi yapıldıktan sonra 30-45 dakika sonra absorbans ölçümleri (λ_{max}) suya karşı yapılır.

Hesaplama

Sonuç, örnekteki hakim antosiyanin cinsinden hesaplanır. Kırmızı şaraplarda baskın olan antosiyanin malvidin-3-glukozittir.

$$A = (A_{\lambda_{\text{max}}} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda_{\text{max}}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

$$\lambda_{\text{max}} = 520 \text{ nm}$$

$$\text{Monomerik antosiyanin miktarı, } \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{A \times MW \times Sf \times 1000}{\epsilon \times l}$$

A: Absorbans farkı

MW: Malvidin-3-glikozit molekül ağırlığı

Sf: Seyreltme faktörü

ϵ : Molar absorptivite

l: Spektrofotometre küveti katman kalınlığı. l: 1 cm

* Molar absorptivite (absorpsiyon katsayısı); antosiyanin %1'lik çözeltisinin 1 cm ışık yolu kalınlığında $\lambda_{\max}$ 'da gösterdiği absorpsiyondur.

12. Toplam Fenolik Madde Tayini (Folin-Ciocalteu Metodu)

Prensip: Fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgemesi ve oluşan mavi rengin spektrofotometrede ölçümü prensibine dayanmaktadır.

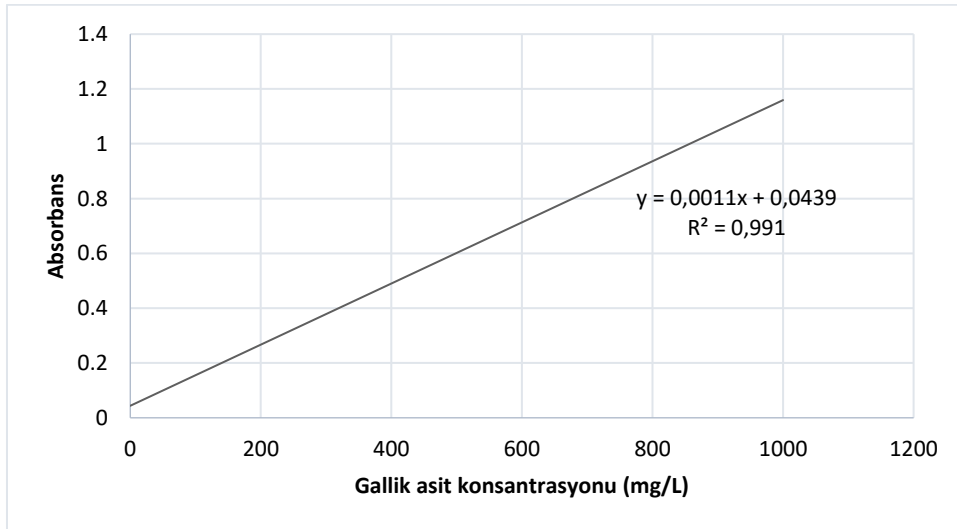
Prensip: Analizden önce örnek, ideal absorbans aralığında (0.4-0.6) çalışabilmek amacıyla uygun oranda seyreltilmelidir (kırmızı şarapta 5 kat). Seyreltme aşamasından sonra deney tüplerinde 100 μ L seyreltilmiş örneğin üzerine 900 μ L distile su eklenir, ardından 5 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu reaktifi ve 4 mL sodyum karbonat çözeltisi (75 g/L) eklenip karıştırılır ve 2 saat süreyle karanlıkta inkübasyona bırakılır. İnkübasyon süresi sonunda spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülür. Örnekteki toplam fenolik miktarı Şekil 9'da verilen gallik asit kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak gallik asit cinsinden "mg/L" olarak elde edilebilmektedir.

Örnek: 5 kat seyreltme yapılmış kırmızı şarap örneğinde toplam fenol analizinde elde edilen absorbans değeri 0.435 olarak ölçülmüştür.

Hesaplama:

$$y = 0.0011x + 0.0439$$

Toplam fenolik madde miktarı : $((0.435-0.0439)/0.0011) \times 5 = 1777.7$ mg/L gallik asit



Şekil 9. Gallik asit standart eğrisi

13. Birada Yapay Köpürtücü Tayini

Prensip: Yöntem amonyak ve sülfürik asit ilavesiyle örnekte renkli halka oluşması ilkesine dayanır. Saponin varlığı istenmez.

Kimyasallar:

- Derişik Amonyak
- Derişik Sülfürik asit
- Kloroform
- Genel Laboratuvar araç-gereçler

Yöntem I

- Bir tüpe 10 mL analizi yapılacak deney numunesinden alınır.
- Üzerine 2-3 mL NH₃ eklenir.
- Musluk altında soğutularak yavaş yavaş 2-3 mL sülfürik asit ilave edilir.
- Tüpün dibinde yeşilden maviye dönüşen renkli bir halka oluşması numunede saponin varlığını gösterir.
- Saponin olmadığı durumda ise tüpte oluşan halkanın rengi kahverengidir.

Yöntem II

- Bir tüpe 10 mL analizi yapılacak deney numunesinden alınır.
- Üzerine 2-3 mL kloroform eklenir.
- Musluk altında soğutularak yavaş yavaş 2-3 mL sülfürik asit eklenir.
- Tüpün dibinde sarı renkli bir halka oluşması numunede saponin varlığını gösterir.

14. Birada Bulanıklık Tayini (Türbidimetre)

Türbidimetre, bira, meyve suyu, içme suları gibi berraklığın önemli bir kriter olduğu ürünlerde bulanıklığın ölçümünde kullanılmaktadır. Bulanıklık, üründe bulunan askıdaki katılar ve kolloidal maddeler tarafından meydana gelmektedir. Bira, şarap gibi fermente ürünlerde mayalar, bakteriler, proteinler ve fenolik bileşikler bulanıklık unsurlarını oluşturmaktadır.

Prensip: Türbidimetrede temel prensip, numuneye gelen ışığın bulanıklık unsurları tarafından absorbe edilmesine ve dağılmasına dayanır. Birimi NTU'dur (Nephelometric Turbidity Units).

15. Birada Renk Tayini

Biralarda uluslararası çapta kabul edilmiş farklı renk kriterleri vardır. Genel olarak absorbans ölçümüne dayalı renk analizleri birada 430 nm'de gerçekleştirilmektedir. Aşağıda Avrupa'da ve Amerika'da kabul gören iki renk kriteri verilmiştir (EBC: European Brewery Convention, ASBC: American Society of Brewing Chemists).

$$EBC = A_{430} \times 25$$

$$ASBC = A_{430} \times 10 \times 1.27$$

16. Sirkede Asetil Metil Karbinol (Asetoin) Testi

Prensip: Doğal yolla fermente edilerek üretilen sirkelerde bulunan asetoin bileşiğinin Fehling çözeltisi ile reaksiyona girerek, Cu_2O çökeltisi oluşturmalarının kontrol edilmesi esasına dayanır.

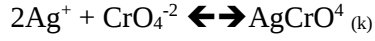
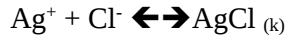
Kimyasallar:

- Fehling I Çözeltisi : $69,28 \pm 0,05$ g bakır (II) sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 1000 mL lik bir ölçülü balonda 400 mL kadar su ile çözülür. İşaret çizgisine kadar su ile tamamlanır ve iyice karıştırılır.
Fehling II Çözeltisi: $346,0 \pm 0,1$ g sodyum potasyum tartarat tetrahidrat ($\text{Ca}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{NaK} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 1000 mL lik bir ölçülü balonda 600 mL kadar su ile çözülür. İşaret çizgisine kadar su ile tamamlanır. Çözelti 4 gün dinlendirildikten sonra orta gözenekli bir süzgeç kağıdından süzülür ve renkli bir şişede muhafaza edilir.
Sodyum Hidroksit Çözeltisi : % 40 (m/v) lik

Prosedür: 100 mL sirke NaOH ile nötrleştirildikten sonra damıtılır. 25 mL damıtma ürünü alınarak kapaklı bir cam silindire konur. Üzerine eşit oranda karıştırılmış Fehling I ve Fehling II çözeltisinden 25 mL eklenir. Bir süre beklenir (En çok 24 saat). Kırmızı bir tortu (Cu_2O) oluşursa, sirkenin doğal olduğu, yani fermentasyon ile oluştuğu anlaşılır. İspirto sirkesi veya yapay sirkede bu kırmızı tortu oluşmaz.

17. Salamurada Tuz Tayini (Mohr Metodu)

AgNO₃ ile indikatör (CrO₄⁻²) arasında oluşan tuğla kırmızısı Ag₂CrO₄ çökeleğinin oluşumuna dayanır.



Öncelikle örneğin pH'sı 5-7 aralığında olacak şekilde ayarlanır. Bunun amacı tuz tayininde kullanılacak indikatörün etkisini görebilmektir. pH ayarlandıktan sonra 1 mL %5'lik potasyum kromat çözeltisi (K₂CrO₄) ilave edilir ve ayarlı 0.1 N AgNO₃ çözeltisi ile kiremit kırmızı rene kadar titre edilir.

Hesaplama:

M_{NaCl} : 58.5 g/mol

1L 1N AgNO₃ 58.5 g NaCl'e karşılıktır.

1L 0.1N AgNO₃ 5.85 g NaCl'e karşılıktır.

1mL 0.1N AgNO₃ 0.00585 g NaCl'e karşılıktır.

$$\text{Sonuç: } \text{g/100ml} = \frac{100 \times S \text{ (ml)} \times 0.00585 \times F}{A \text{ (ml)}}$$

S: 0.1 N AgNO₃ çözelti sarfiyatı (mL)

A: Örnek miktarı (mL)

F: 0.1 N AgNO₃ çözeltisinin faktörü

18. Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi

Aroma, fermente gıda ürünlerinde en önemli kalite karakteristiklerinden biridir. Bir bileşiğin aromaya olan katkısını, o bileşenin bulunma konsantrasyonu, algılanma eşiği ve diğer maddelerle olan etkileşimi belirlemektedir.

Fermente ürünlerde aroma, başta hammaddenin kendi yapısından ileri gelen, bunun yanında fermentasyon süresince ortama katılan primer ve sekonder metabolitler ve olgunlaşma sürecinde gerçekleşen reaksiyonlar neticesinde oluşan uçucu bileşenlerin bileşimi ile ortaya çıkmaktadır. Şarap ve bira gibi fermente ürünlerde, uçucu bileşenlerin büyük bölümünü yüksek alkoller, esterler ve organik asitler oluşturmaktadır.

Uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesinde gaz kromatografisi kullanılmaktadır.

Analiz

Cihaz: Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC-MS)

Yöntem: Katı faz mikroekstraksiyon tekniği (SPME)

Materyal: Şarap örneği

- Kolon: HP5 kolonu
- Taşıyıcı gaz: Helyum,
- Fırın programı: Başlangıç sıcaklığı 40 °C'de 2 dk, Ramp1: 2 °C/dk, 120°C de 3 dk, Ramp2: 8°C/dk, 250°C de 2 dk,

Amber renkli 40 mL'lik SPME vialindeki 5 mL şarap örneğinin üzerine 1 g NaCl ilave edilmiş ve vorteks ile karıştırıldıktan sonra 40°C'deki su banyosunda 20 dakika bekletilecektir. 20 dakikanın sonunda SPME fiberi vialin tepeboşluğuna batırılarak 40°C'de 20 dakika süre ile uçucu bileşenlerin fiber üzerinde toplanması sağlanacak ve GC-MS'e enjeksiyonu gerçekleştirilecektir.

Uçucu Bileşenlerin Tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi

Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında kütle spektrum kütüphanelerinden yararlanılacaktır.

$$Madde\ Konsantrasyonu = C_{is} \times A_x / A_{is}$$

Cis: İç standart maddenin konsantrasyonu

Ax: Aranılan maddenin pik alanı

Ais: İç standart maddenin pik alanı

Tablo 1.2. Refraktometre okumalarında sıcaklığa göre düzeltme değerleri (25)

Sıcaklık °C	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
Gözümüş kuru madde içeriği, %															
10° - 19 °C'ler arasındaki kuru madde (%) okumalarından çıkarılacak değerler															
10	0.50	0.54	0.58	0.61	0.64	0.66	0.68	0.70	0.72	0.73	0.74	0.75	0.76	0.78	0.79
11	0.46	0.49	0.53	0.55	0.58	0.60	0.62	0.64	0.65	0.66	0.67	0.68	0.69	0.70	0.71
12	0.42	0.45	0.48	0.50	0.52	0.54	0.56	0.57	0.58	0.59	0.60	0.61	0.61	0.63	0.63
13	0.37	0.40	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49	0.50	0.51	0.52	0.53	0.54	0.54	0.55	0.55
14	0.33	0.35	0.37	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.45	0.46	0.46	0.47	0.48
15	0.27	0.29	0.31	0.33	0.34	0.34	0.35	0.36	0.37	0.37	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40
16	0.22	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	0.28	0.29	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.32	0.32
17	0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24
18	0.12	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16
19	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
21° - 30 °C'ler arasındaki kuru madde (%) okumalarına eklenecek değerler															
21	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
22	0.13	0.13	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
23	0.19	0.20	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
24	0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.32
25	0.33	0.35	0.36	0.37	0.38	0.38	0.39	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
26	0.40	0.42	0.43	0.44	0.45	0.46	0.47	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
27	0.48	0.50	0.52	0.53	0.54	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56
28	0.56	0.57	0.60	0.61	0.62	0.63	0.63	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64
29	0.64	0.66	0.68	0.69	0.71	0.72	0.72	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73
30	0.72	0.74	0.77	0.78	0.79	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81

Örnek : 26°C'de okunan kuru madde : % 30.00
 Eklenecek düzeltme değeri : % 0.47
 Düzeltmiş kuru madde değeri : % 30.47

KAYNAKLAR

- Aktan N., Kalkan H., Yücel U., 1999. Turşu Teknolojisi. Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları No:23, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.
- Bamforth C., Russell I., Stewart G., 2009. Beer: A Quality Perspective, Academic Press, USA, 220.
- Cemeroğlu B.S., 2013. Gıda Analizleri. Bizim Grup Basımevi, Kızılay, Ankara, 3-7.
- Cliff M.A., King M.C., Schlosser J., 2007. Anthocyanin, Phenolic Composition, Colour Measurement and Sensory Analysis of BC Commercial Red Wines. Food Research International, 40: 92-100.
- Güven S., 2008. Şarap Üretimi ve Kalite Kontrolü. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Yayın No: 74, Çanakkale, 316 s.
- Jacobson J.L., 2006. Introduction to Wine Laboratory Practices and Procedures, Springer, NY, USA.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D., 2006b. Handbook of Enology, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments (2nd Edition, Vol. 2). John Wiley & Sons Ltd., Wiltshire, İngiltere.