



# Duraklamış Veya Durmuş Fermentasyonu Glikoz İzomeraz Kullanarak Önlemek İçin Glikoz İzomeraz Aktivitesinin Farklı Şarap Ortamlarında İncelenmesi

Nahide Seray Kahraman\*, Haluk Hamamcı\*

\*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Ankara, Türkiye, 06800

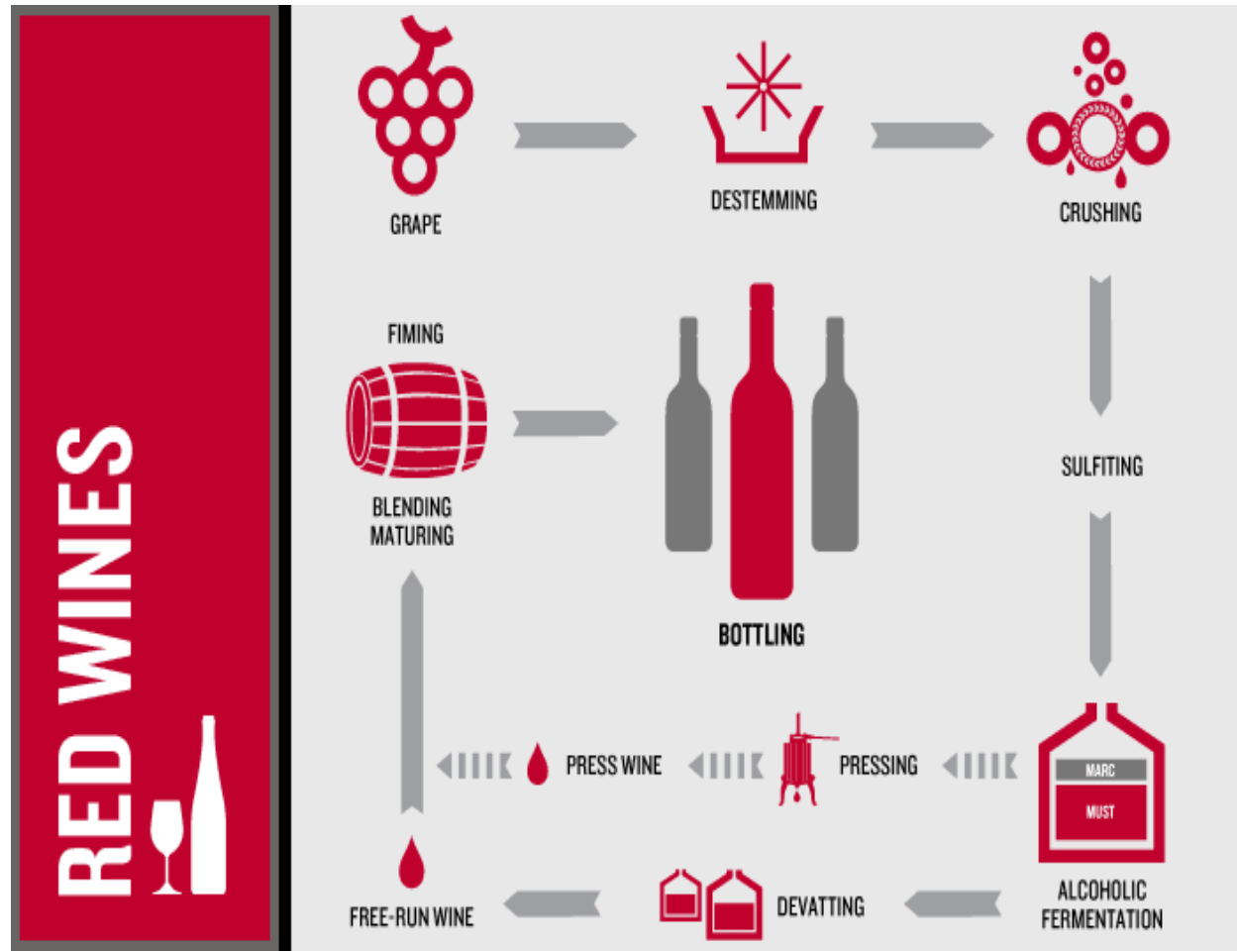


## Özet

Bu çalışmanın amacı, mayada şeker alım eksikliği sonucu görülebilen duraklamış ya da durmuş fermentasyonun glikoz izomeraz kullanılarak önlenmesi için farklı koşullarda hazırlanmış olan şarap veya sentetik şarap ortamlarında glikoz izomeraz aktivitesine bakılmasıdır. Şarap ortamında şeker kalmış olmasına rağmen alkol oluşumundan dolayı fermentasyonun yavaşlamasına ya da durmasına duraklamış ya da durmuş fermentasyon denir. Kalan şeker istenmeyen tatlılığa sebep olduğu ve mikrobiyel bozulma riskini arttırdığı için şarap endüstrisi tarafından istenmeyen bir durumdur. Bu durumu önlemek için, früktozu glikoza çeviren glikoz izomerazın kullanımı bir çözüm olarak değerlendirilmiştir. Bu sebeple, enzimin aktivitesi sentetik ve orijinal şarap ortamlarında test edilmiştir. 13% h/h etanol, 1% h/h gliserol içeren sentetik ortamda pH değeri 3.3 iken 60°C ve 30°C sıcaklıklarda yaklaşık olarak 48 saatte 1% k/h früktozdan 0.5% k/h glikoz oluşumu gözlenmiştir. Ancak, 0.3% k/h tartarik asit içeren sentetik ortamda pH 3.55 iken glikoz oluşumu gözlenmezken pH 6.33 iken glikoz oluşumu gözlenmiştir. Orijinal şarap ortamında, 20%, 10% ve 5% h/h seyreltilmiş ve pH değeri 6 ve üzerinde olan ortamlar hariç, ortamda tartarik asit olsa da olmasa da glikoz oluşumu gözlenmemiştir. Sonuç olarak, şarabın pH değerini arttırmak ve şarabı seyreltmek uygulanabilir yöntemler olmadığı için durmuş fermentasyonu önlemek adına glikoz izomeraz kullanımı için farklı uygulamalar denenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

## Giriş

*Saccharomyces cerevisiae* cinsi mayada, glikoz ve fruktozun kullanımı ve transportu aynı genler ile sağlanırken ortamdaki etanol varlığı fruktozun kullanım hızını önemli ölçüde azaltır (Luyten et al., 2002, pp. 713-726). Bunun sonucu olarak, üzüm suyunda başlangıçta bire eşit olan glikoz fruktoz oranı fermentasyon sırasında değişir ve ortamdaki fruktoz miktarı glikoz miktarından daha fazla hale gelir ki bu da şarapta istenmeyen tatlılığa ve mikrobiyel bozulmaya sebebiyet verir. Bu duruma duran fermentasyon denir ve birkaç sebebi olduğu bilinmektedir (Berthels et al., 2004, pp. 683-689). Glikoz izomeraz (glikoz izomeraz, EC 5.3.1.5) tersinebilir bir enzimdir ve glikoz ve fruktoz arasında denge tepkimesi sağlar. Duran fermentasyonu önlemek veya devam ettirmek için fruktozca zengin olan ortama eklenerek fruktozun glikoza döndürülmesi amaçlanır. Glikoz izomerazın optimum ortam koşulları ise sıcaklık 60°C ve pH 7-8 iken sağlanır (Van Den Brink et al., 2011).



## Amaç

Bu çalışmada, farklı ortamlarda aktivitesi ölçülmüş olan glikoz izomerazın şarap ortamında kullanılarak duran fermentasyonun devamı sağlanmaya çalışılacaktır.

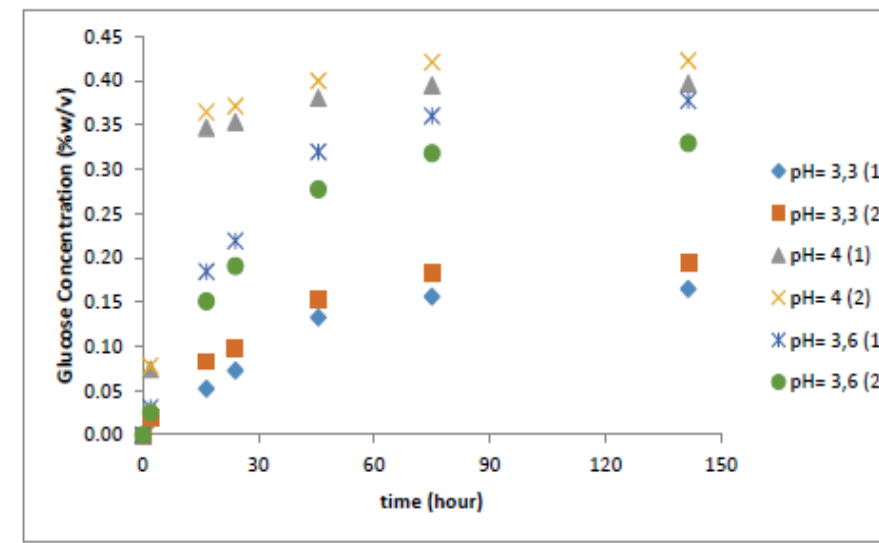
## Yöntem

### Enzimatik metot:

Glikoz izomerazın farklı ortamlarda enzim aktivitesini ölçmek ve bu enzimin şarap ortamında kullanımını test etmek için suyla hazırlanmış yapay şarap ortamı, üzüm suyu ile hazırlanmış yapay şarap ortamı ve direkt şarap ortamı olmak üzere 3 farklı ortamda deneyler yapılır. Yapay şarap ortamlarını hazırlamak için 13% etanol (hacim/hacim), 0.8% gliserol (hacim/hacim), 0.6 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O/1L eklenir ve ortam pH değeri asetik asit ile 3.6 yapılır. Aynı zamanda yapay şarap ortamı ile doğal şarap ortamını karşılaştırmak için yapay şarap ortamına kalsiyum iyonu (8 mg Ca<sup>2+</sup>/100 mL solüsyon) eklenir. Enzimin aktivitesini ölçmek için hem yapay hem şarap ortamına ilave 1% fruktoz (kütle/hacim) katılır. Hazırlanan solüsyondan 40 mL alınıp santrifüj tüplerine konulur. Enzimin optimum sıcaklığı olan 60°C ve 150 rpm olan karıştırıcılar içine hazırlanan tüpler konulur. Deney sonundaki amaç eşit miktarlarda glikoz ve fruktoz elde etmektir. 3 gün boyunca sistematik olarak HPLC ile analiz yapılır.

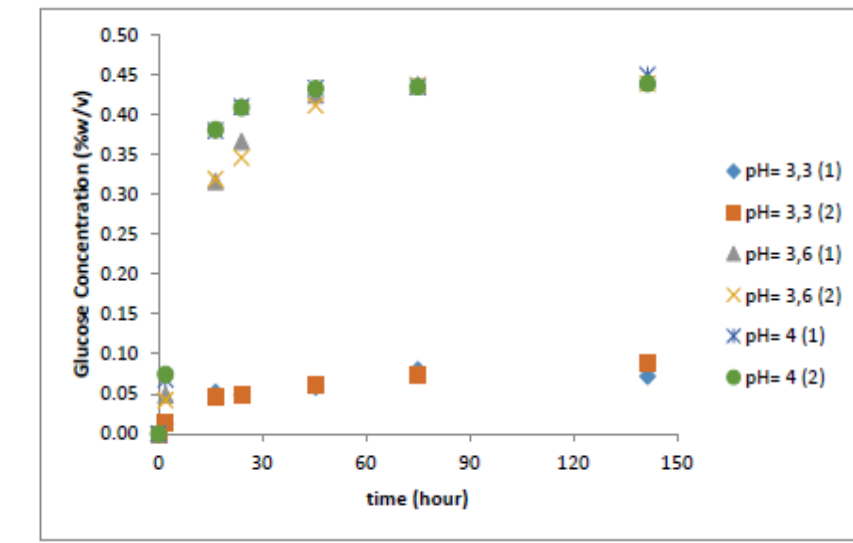
## Sonuçlar

### A. pH etkisi (etanolsüz sentetik şarap)



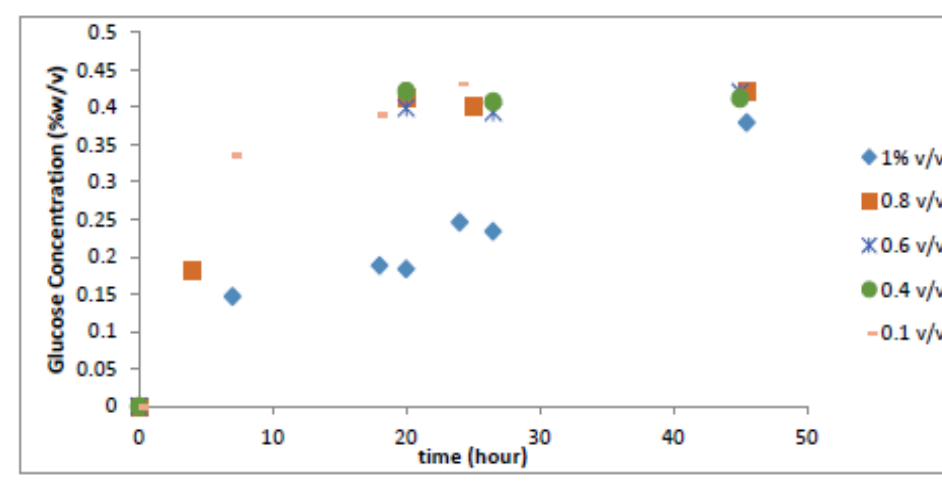
Şekil 1. Farklı pH değerlerinde glikoz değişimi (etanolsüz ortam)

### B. pH etkisi (etanollü sentetik şarap)



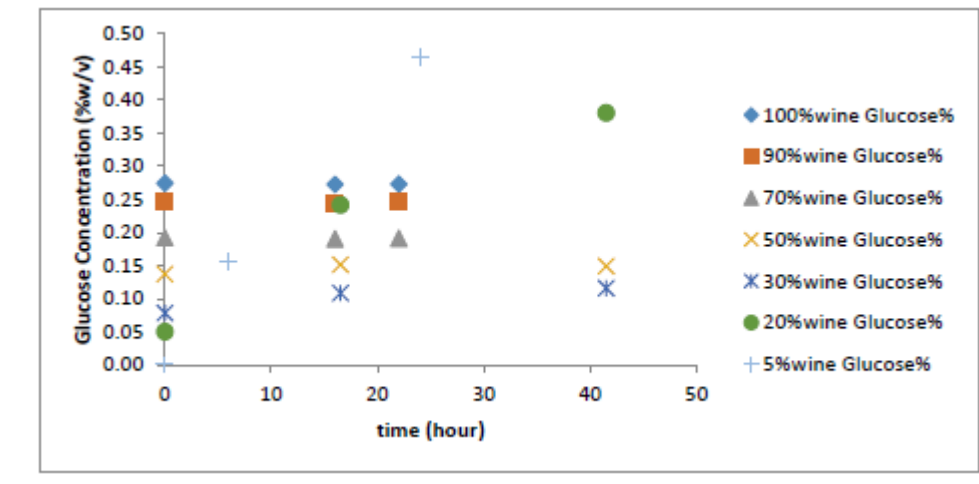
Şekil 2. Farklı pH değerlerinde glikoz değişimi (etanollü ortam)

### C. Gliserol etkisi (etanollü sentetik şarap)



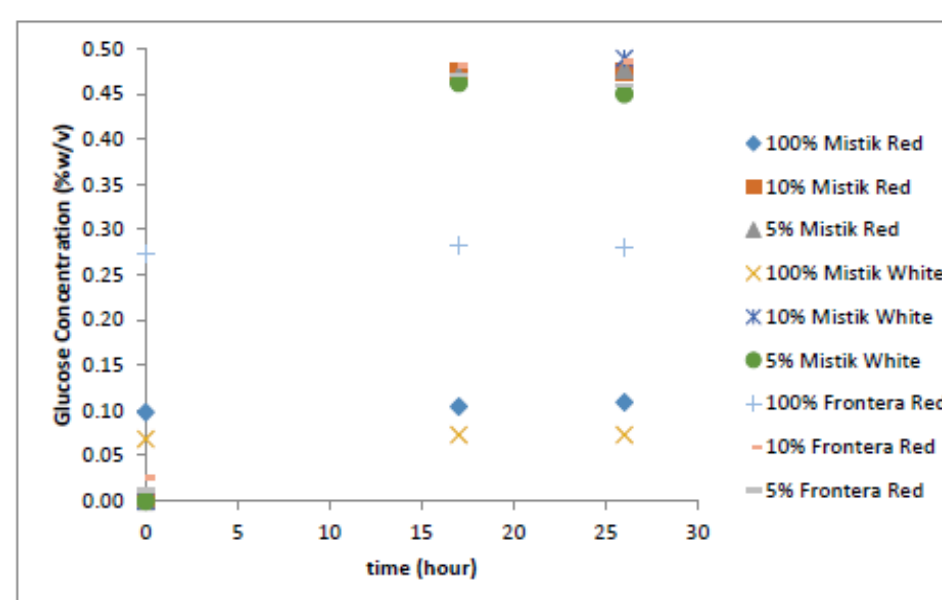
Şekil 3. Farklı gliserol konsantrasyonlarında glikoz değişimi (etanollü ortam)

### D. Seyreltilmiş ortam (ev yapımı şarap)



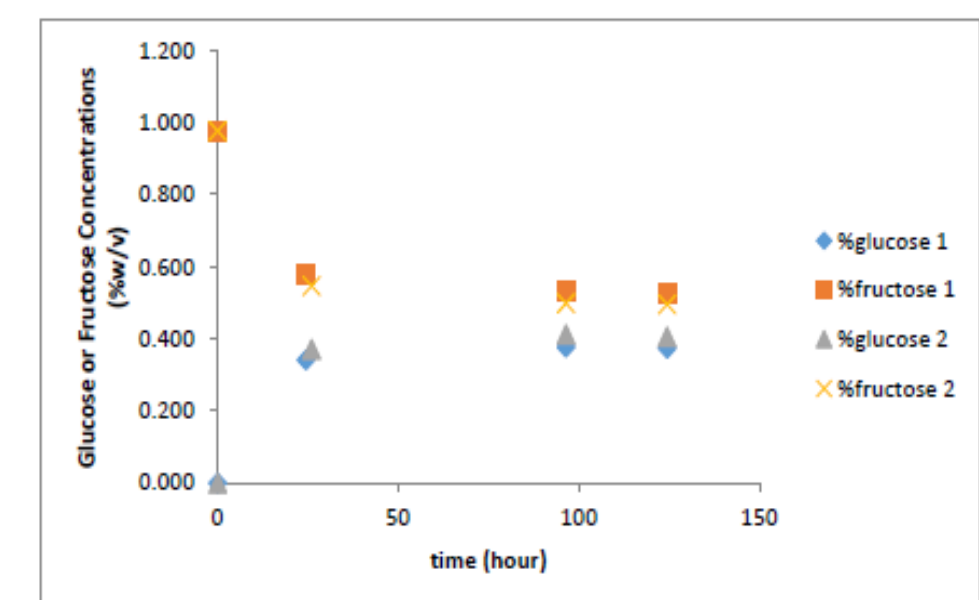
Şekil 4. Farklı şarap konsantrasyonlarında glikoz değişimi

### E. Seyreltilmiş ortam (farklı marka şaraplar)



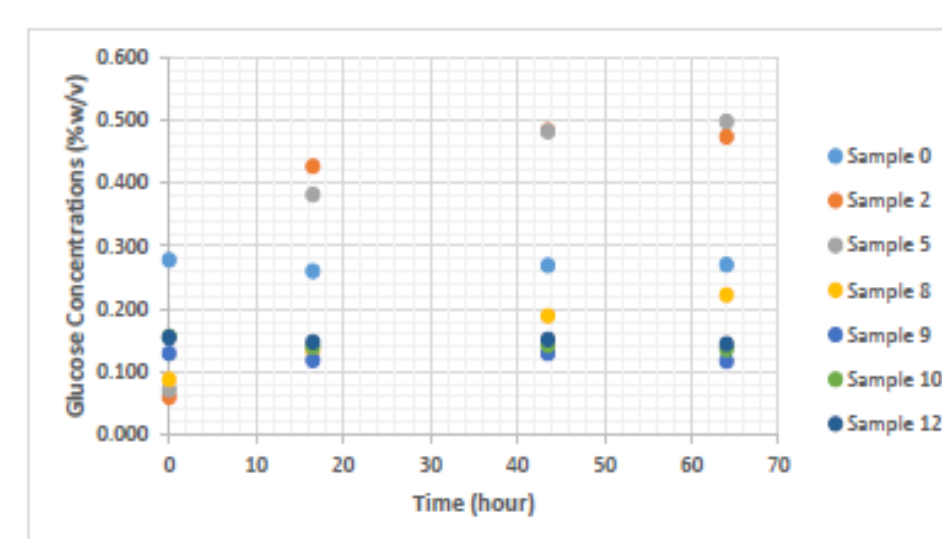
Şekil 5. Farklı şarap konsantrasyonlarında glikoz değişimi

### F. Tartarik asit etkisi (sentetik şarap)



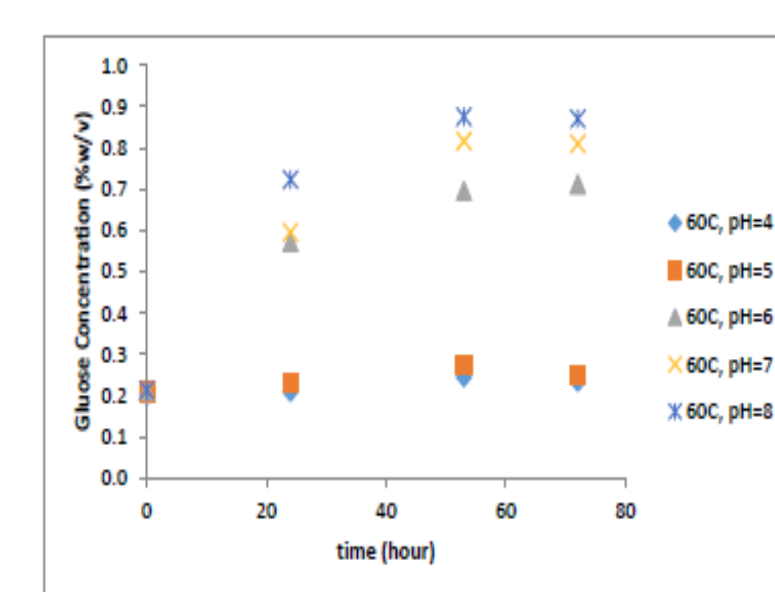
Şekil 6. Farklı tartarik asit konsantrasyonlarında glikoz değişimi

### G. Anyon değiştiriciden geçirilmiş şarap

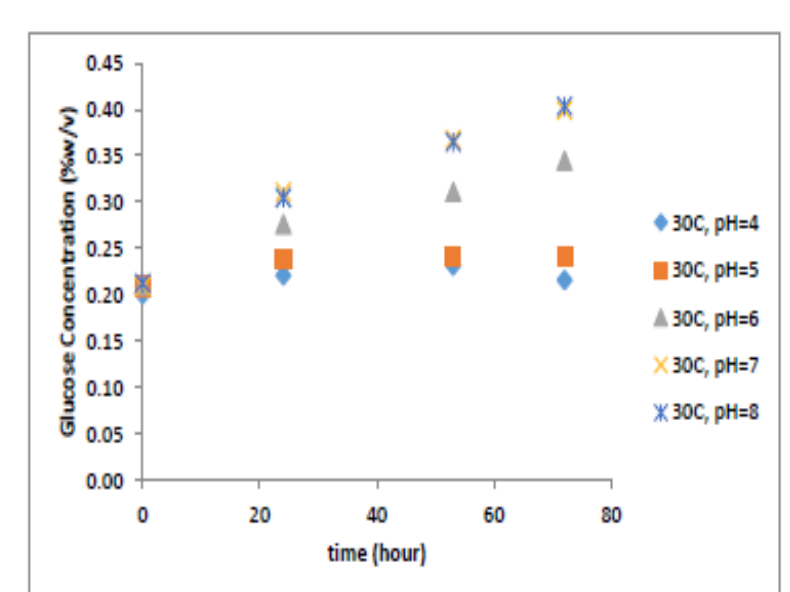


Şekil 7. Farklı tartarik asit konsantrasyonlarında glikoz değişimi

### H. pH etkisi (kırmızı şarap)



Şekil 8. Farklı pH değerlerinde 60 derecede glikoz değişimi



Şekil 9. Farklı pH değerlerinde 30 derecede glikoz değişimi

## Kaynaklar

Berthels, N., Cordero, R., Bauer, F., Thevelein, J., & Pretorius, I. (2004). Discrepancy in glucose and fructose utilisation during fermentation by wine yeast strains. *FEMS Yeast Research*, 4(7), 683-689. doi:10.1016/j.femsyr.2004.02.005

Luyten, K., Riou, C., & Blondin, B. (2002). The hexose transporters of *Saccharomyces cerevisiae* play different roles during enological fermentation. *Yeast*, 19(8), 713-726. doi:10.1002/yea.869

Van Den Brink, J., & Bjerre, K. (2011). Reduced Stuck Alcoholic Fermentations in Wine Production. *United States Patent Application Publication*. Retrieved March 2017, from <https://docs.google.com/viewer?url=patentimages.storage.googleapis.com/pdfs/US20110020491.pdf>