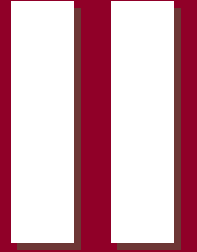


PEKMEZ VE PEKMEZE BENZER GIDALARDA TAKLİT, TAĞŞIŞ VE COĞRAFİ KÖKEN TAYİNİ ARAŞTIRMASI



İstanbul Sanayi Odası - Yıldız Teknik Üniversitesi
Doktora / Yüksek Lisans Tezlerine Sanayi Desteği Projesi



"4. Grup Öğütülmüş Tahıl ve Unlu Mamüller Sanayii
Meslek Komitesi" adına desteklenmiştir



İSTANBUL
SANAYİ ODASI

PEKMEZ VE PEKMEZE BENZER GIDALARDA TAKLİT, TAĞŞIŞ VE COĞRAFİ KÖKEN TAYİNİ ARAŞTIRMASI



İstanbul Sanayi Odası - Yıldız Teknik Üniversitesi
Doktora / Yüksek Lisans Tezlerine Sanayi Desteği Projesi

Kısaltılmış Doktora Tezi

Danışman

Prof. Dr. Hüseyin AFŞAR

Y.T.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Hazırlayan

Dr. Muharrem YILMAZ

Y.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı

ISBN: 978-605-137-136-8 (BASILI)
ISBN: 978-605-137-137-5 (ELEKTRONİK)
İSO Yayın No: 2012/14
Sertifika No:19176

Pemez ve Pekmeze Benzer Gıdalarda Taklit, Tağışış ve Coğrafi Köken Tayini Araştırması
Kısaltılmış Doktora Tezi,
İstanbul Sanayi Odası, İstanbul

Grafik Tasarım ve Uygulama:
Mürettebat Reklamcılık ve İletişim Hizmetleri Ltd. Şti.
Badem11, Villa16, Bahçeşehir 34538 İstanbul
Tel: (212) 608 06 08
www.murettebat.com.tr

Tüm Hakları Saklıdır. Bu yayındaki bilgiler ancak kaynak gösterilmek suretiyle kullanılabilir.

Bu alışma; İstanbul Sanayi Odası ile Yıldız Teknik Üniversitesi arasında, sanayi-üniversite işbirliğinin geliştirilmesi ve akademik çalışmaların ekonomik kalkınmaya katkısının artırılması amacıyla başlatılan "ISO-YTÜ Doktora / Yüksek Lisans Tezlerine Sanayi Desteği" projesi kapsamında yayınlanmıştır.

Üniversitede doktora ve yüksek lisans tezlerini yürüten araştırmacıların desteklendiği proje ile üniversite ve sanayinin gündemini buluşturarak, ticari ürüne dönüştürülen bilimsel araştırma ve patent sayısının artmasına, küresel rekabet gücümüzün gelişmesine katkıda bulunulması hedeflenmektedir.

Proje kapsamında, üniversitede hali hazırda yürütölen doktora/yüksek lisans tez/tezleri arasından uygun bulunanlar ile Meslek Komitelerimizin sektörel ihtiyaçları doğrultusunda belirlediği konulardaki akademik çalışmalara destek verilmektedir.

İstanbul Sanayi Odası 4. Grup Öğütölmüş Tahıl ve Unlu Mamöller Sanayii Meslek Komitesi adına desteklenen bu çalışmanın sanayinin ihtiyaçlarına yanıt verecek şekilde hayata geçirilmesine yönelik katkılarından dolayı Tez Değerlendirme Komitesi üyelerimiz olan;

Dr. Mehmet etin DURUK (İreks Gıda),
Mehmet Atila KURAMA (Ülker),
Osman MEMİŐÖĐLU (2000 Ekmek Gıda),
Faruk GÖLLÖ (Baklavacı Güllöoğlu Gıda),
Ali Engin KEÇELİ'ye (Akçaoğlu Gıda) teşekkür ediyoruz.

Başta araştırmacı olmak üzere, araştırmacıya danışmanlık yapan öğretim üyesi ve Değerlendirme Komitesi'nin katkılarıyla oluşturulan ve sanayi-üniversite işbirliğinin işlevsel ve somut bir çıktısı olan bu çalışmanın sektöre fayda sağlamasını ümit ediyoruz.

Saygılarımızla,
İstanbul Sanayi Odası

ÖNSÖZ	9
KISALTMA LİSTESİ	10
ŞEKİL LİSTESİ	11
ÇİZELGE LİSTESİ	12
ÖZET	13
ABSTRACT	15
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	17
BÖLÜM 2	
ÜZÜM ve PEKMEZ	19
2.1 Üzüm ve Şıranın Bileşimi	19
2.1.1 Üzümün Çeşitli Kısımlarının Bileşimi	19
2.1.2 Şıranın Bileşimi	19
2.1.2.1 Karbohidratlar	20
2.1.2.2 Asitler	21
2.1.2.3 Mineral Maddeler (Kül)	21
2.2 Pekmez	21
2.2.1 Pekmez Üretimi	22
2.2.2 Sıvı Pekmez Yapımı	22
2.2.2.1 Tatlı Sıvı Pekmez Yapımı	22
2.2.2.2 Ekşi Sıvı Pekmez Yapımı	23
2.2.3 Katı Pekmez Yapımı	24
BÖLÜM 3	
İZOTOPIK ANALİZ	25
3.1 Gıda Ürünleride Orjinallik (Authenticity) Tayini	25
3.2 Kararlı İzotopların Analizi	25
3.3 Hidrojen ve Oksijen: Doğal İzotopik Fraksiyonlaşma	26
3.3.1 Buharlaşmaya Etki Eden Faktörler	27
3.3.1.1 Meteorolojik Faktörler	27
3.3.1.2 Coğrafik ve Topoğrafik Faktörler	27
3.3.1.3 Suyun Kalitesi ve Bulunduğu Ortam	27
3.4 Site-specific Natural Isotope Fractionation Nuclear Magnetic Resonance (SNIF-NMR®)	28
3.5 İzotop Oranı-Kütle Spektroskopisi (IR-MS)	29
3.5.1 Karbon	29
3.5.1.1 Calvin Döngüsü Metabolizması	29
3.5.1.2 Hatch-Slack Metabolizması	30
3.5.1.3 Krassulasean asit metabolizması	30
3.5.2 IRMS'in Temel Prensipleri	30

BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMALAR	31
4.1 Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	31
4.2 Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Sistemler	31
4.3 Deneysel Çalışmada Kullanılan Diğer Yardımcı Aletler	32
4.4 Analiz Edilen Örnekler	32
4.4.1 Pekmez Numuneleri	32
4.4.2 Üzüm Numuneleri	33
4.4.3 Pekmez Numunelerine Tağşiş Adına İlave Edilebileceği Düşünülen Tatlandırıcılar	33
4.4.4 Tatlandırıcı İlavesiyle Kirletilen (Tağşiş) Yapılan Örnekler	34
4.5 Deneysel Çalışmalar	34
4.5.1 Pekmez ve Üzüm Numunelerinde Şeker (Glikoz, Fruktoz, Sakkaroz) Kompozisyonunun HPLC ile Belirlenmesi	34
4.5.2 İzotopik Fraksiyonlaşma Tespiti İçin Yapılan Analizler	35
4.5.2.1 SNIF-NMR® Analiz Yöntemi	35
Numunelerin Şeker İçeriklerinin Tespit Edilmesi	35
Numunelerdeki Çözünür Madde Miktarının (Briks) % 12'ye Ayarlanması	35
Numunelerin Fermentasyonu	35
Fermantasyon Kontrolü İçin Numunenin Şeker İçeriğinin Takibi Ve Fermentasyonun Sonlandırılması	35
Numunenin Fermantasyonu Sonunda Elde Edilen Alkolün Destilasyonu	35
Destillenen Alkolün Derişiminin Belirlenmesi	36
Elde edilen Alkolün NMR Analizi İçin Hazırlanması	36
NMR Spektrumunun Değerlendirilmesi	37
4.5.2.2 IR-MS ile Yapılan Çalışmalar	37
IR-MS ile Yapılan Ölçümlerin Değerlendirilmesi	38
4.5.2.3 Numunelerin Fermentasyonu Sonucu Elde Edilen Etanol Üzerinde Yapılan Çalışmalar	38

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE TARTIŞMA	39
5.1 Pekmez ve Üzüm Numunelerinde Belirlenen Şeker (Glukoz, Fruktoz, Sakkaroz) Değerleri	39
5.1.1 Pekmez Numunelerinin Sonuçları	39
5.1.2 Üzüm Numunelerinin Sonuçları	40
5.1.3 Belirlenen Şeker (Glukoz, Fruktoz, Sakkaroz) Miktarlarının Üçgen Diyagramı Yardımıyla Değerlendirilmesi	40
5.2 Pekmez ve Üzüm Numunelerinde İzotopik Fraksiyonlaşma Tespiti İçin Yapılan Analiz Sonuçları	42
5.2.1 IR-MS ile Yapılan Ölçümlerin Değerlendirilmesi ve Kontrolü	42
5.2.2 Numunelerin Fermentasyonu Sonucu Elde Edilen Etanol Üzerinde Yapılan Çalışmaların Sonuçları	42
5.2.2.1 Pekmez Numunelerinin Sonuçları	43
5.2.2.2 Pekmeze İlave Edilebilecek Tatlandırıcıların Analiz Sonuçları	43
5.2.2.3 Tatlandırıcılarla Karıştırılarak Tağşiş Edilen Pekmez Numunelerinin Analiz Sonuçları	43
5.2.2.4 Üzüm Numunelerinin Sonuçları	45
5.2.3 SNIF-NMR® ve IR-MS Analiz Sonuçlarının Birlikte Değerlendirilmesi	46

5.2.3.1 Aynı Bölgedeki Pekmez ve Üzüm Numunelerinin Karşılaştırılması	48
5.2.4 Pekmez ve Üzüm Numunelerinin Yetiştirildiği Bölgelere Göre Kıyaslanması	51
5.2.4.1 Pekmez Numunelerinin Yetiştirildiği Bölgelere Göre Kıyaslanması	53
5.2.4.2 Üzüm Numunelerinin Yetiştirildiği Bölgelere Göre Kıyaslanması	54
GENEL SONUÇLAR	55
KAYNAKLAR	57

Tez konusunun seçilmesinde, yönlendirilmesinde ve sonuçların değerlendirilmesinde büyük desteğini gördüğüm, karşılaştığım her türlü zorlukta zekası, bilgisi, tecrübesi ve hoşgörüsü ile beni yalnız bırakmayan bana hem bilimsel hem de manevi açıdan destek olan değerli hocam Prof. Dr. Hüseyin AFŞAR'a,

Tez çalışmamın ve iş hayatımın her aşamasında büyük yardımını gördüğüm anlayışı, uyumu ve fikirlerini paylaşan, çalışma performansıyla her zaman örnek olan değerli ağabeyim bilim insanı Sayın Mehmet KIRBIYIK'a,

İş hayatımda ve çalışmamda destek ve yardımlarını gördüğüm Laboratuvar Müdürümüz Sayın Yaşar ÇİFTÇİ'ye ve Gıda Birimindeki Kimyager ve Laborant çalışma arkadaşlarıma,

Yıllardır yoğunluğuma sabreden, çalışmalarımdeki en büyük destekçim olan eşim Reyhan'a ve oğlum Mert'e,

Tez çalışmamızı destekleyen İstanbul Sanayi Odası'na (ISO) en içten teşekkürlerimi sunarım.

Nisan, 2012

Muharrem YILMAZ

KISALTMA LİSTESİ

FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FID	Alev İyonlaşma Detektörü
GC	Gaz Kromatografisi
GDAB	Güneydoğu Anadolu Bölgesi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IRMM	Institute for Reference Materials and Measurements
IRMS	İzotop Oranı-Kütle Spektroskopisi
JECFA	Birleşik Gıda Katkıları Uzman Komitesi
NIH	Ulusal Sağlık Enstitüsü
OIV	International Organisation of Vine and Wine
RSD	Bağıl Standart Sapma
SCF	Avrupa Birliği Bilimsel Gıda Komitesi
SD	Standart Sapma
SNIF-NMR®	Site-specific Natural Isotope Fractionation Nuclear Magnetic Resonance
TMU	Tetrametil Üre
V-PDB	Vienna- PeeDee Belemnite Standard
V-SMOW	Vienna Standard Mean Ocean Water

Şekil 3.1	Su döngüsü ve bu döngü esnasında döteryumun fraksiyonlaşması	27
Şekil 3.2	Simultane izotop analizi yapılan IRMS'teki iyon kaynağı, magnet ve Faraday kafesinin genel dizilimi	29
Şekil 4.1	Türkiye üzüm haritası	32
Şekil 4.4	Cadiot Destilasyon Düzeneği	36
Şekil 5.1	Standart şeker çözeltilerinin kromatogramı	39
Şekil 5.2	Üçgen diyagramında fruktoz/glukoz oranı 0,9-1,1 aralığında ve sakkaroz miktarının en fazla % 1,5 olduğu alan	41
Şekil 5.3	Pekmez analiz sonuçlarının ve sakaroz ilavesiyle kirletilen numuneden elde edilen verilerin üçgen diyagramında yerleşimi	41
Şekil 5.4	Üzüm analiz sonuçlarının üçgen diyagramında yerleşimi	41
Şekil 5.5	Doğal etanolün tipik bir ^2H -NMR spektrumu; standart numuneye ait I, II, III ve IV numaralı sinyallerin ilgili oldukları moleküller sırasıyla şöyledir: $\text{CH}_2\text{DCH}_2\text{OH}$, CH_3CHDOH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OD}$, ve Tetrametilüre (TMU).	42
Şekil 5.6	Numunelerin fermantasyonu sonucu elde edilen etanolde tespit edilen $\delta^{13}\text{C}$ değerlerinin $(\text{D}/\text{H})_I$ değerleri ile normalize edilmesi.	46
Şekil 5.7	Numunelerin fermantasyonu sonucu elde edilen etanolde tespit edilen $\delta^{13}\text{C}$ değerlerinin $(\text{D}/\text{H})_I$ değerleri ile normalize edilmesi sonucu elde edilen tağşiş üçgeni	47
Şekil 5.8	Doğası gereği düşük döteryum içeriğine sahip 1 ve 3 nolu üzüm ve 1 nolu pekmez örneklerinin REF bölgesi içerisine dahil edildiğinde elde edilen tağşiş üçgeni	48
Şekil 5.9	Aynı bölgede yetiştirilen üzüm ve pekmez numunelerinin $(\text{D}/\text{H})_I$, $(\text{D}/\text{H})_{II}$ ve $\delta^{13}\text{C}$ değerlerinin karşılaştırılması.	50

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 1.1	2004-2010 yılları arasındaki üretilen üzümün kullanım alanları ve % dağılımları	17
Çizelge 2.1	Üzüm salkımının çeşitli kısımlarının % bileşimi	19
Çizelge 2.2	Üzümün yenilebilen kısımlarının kimyasal bileşimi	20
Çizelge 3.1	Birtakım kararlı izotoplar, doğal bollukları ve referans maddeleri	26
Çizelge 4.1	Kullanılan kimyasallar, sarf maddeler ve temin edildikleri firma bilgileri	31
Çizelge 4.2	İncelenen pekmez numuneleri ve bölgeleri	33
Çizelge 4.3	İncelenen üzüm suyu, kuru üzüm numuneleri ve yetiştirildikleri bölgeler	33
Çizelge 4.4	Pekmeze ilave edilebileceği düşünülen tatlandırıcılar ve özellikleri	33
Çizelge 4.5	Şeker Kompozisyonunun Belirlenmesi Amacıyla Uygulanan Metot ve Çalışma Parametreleri	34
Çizelge 4.6	NMR tüpüne eklenen madde ve miktarları	36
Çizelge 4.7	IRMS'e bağlı GC'nin çalışma parametreleri	37
Çizelge 5.1	Pekmez örneklerinde belirlenen glukoz, fruktoz, sakkaroz ve fruktoz/glukoz değerleri	40
Çizelge 5.2	Üzüm örneklerinde belirlenen glukoz, fruktoz, sakkaroz ve fruktoz/glukoz değerleri	40
Çizelge 5.3	Pekmez örneklerinden elde edilen etanolde tespit edilen (D/H) _I , (D/H) _{II} , R ve $\delta^{13}\text{C}$ değerleri	43
Çizelge 5.4	Pekmeze ilave edilebileceği düşünülen tatlandırıcılardan elde edilen etanolde tespit edilen (D/H) _I , (D/H) _{II} , R ve $\delta^{13}\text{C}$ değerleri	43
Çizelge 5.5	1 ve 4 nolu pekmezlerin % 50 oranında tatlandırıcılarla karıştırılması sonucu elde edilen etanolde tespit edilen (D/H) _I , (D/H) _{II} , R ve $\delta^{13}\text{C}$ değerlerinin karşılaştırılması	44
Çizelge 5.6	Üzüm örneklerinden elde edilen etanolde tespit edilen (D/H) _I , (D/H) _{II} , R ve $\delta^{13}\text{C}$ değerleri	45
Çizelge 5.7	Çizelge 7.3 ve Çizelge 7.4'de belirtilen aynı bölgeye ait üzüm ve pekmez numunelerinden elde edilen etanolde tespit edilen (D/H) _I , (D/H) _{II} , R ve $\delta^{13}\text{C}$ değerleri	49
Çizelge 5.8	İncelenen pekmez ve üzüm örneklerinin yetiştirildiği bölgedeki bağların filizlenme, çiçeklenme ve oluşturma tarihleri	51
Çizelge 5.9	Pekmez ve üzüm örneklerinin yetiştirildiği bölgelerin birtakım iklimsel ve coğrafi verileri	52
Çizelge 5.10	İncelenen pekmez örneklerinin yetiştirildiği bölgeye göre iklimsel bölgeleri ve bu bölgelerin tespit edilen (D/H) _{II} ve (D/H) _I değerleri	53
Çizelge 5.11	İncelenen üzüm suyu ve kuru üzüm örneklerinin yetiştirildiği bölgeye göre iklimsel bölgeleri ve bu bölgelerin tespit edilen (D/H) _{II} ve (D/H) _I değerleri	54

PEKMEZ ve PEKMEZE BENZER GIDALARDA TAKLİT, TAĞŞIŞ ve COĞRAFİ KÖKEN TAYİNİ ARAŞTIRMASI**Muharrem YILMAZ**

Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Hüseyin AFŞAR

Dünya gıda pazarındaki rekabetin artışı, yerli tüketicilerin yüksek kaliteli ürünleri düşük fiyatlara alma beklentisi gıda kalitesinin izlenmesi için yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmasına neden olmaktadır. Gıdalarda yapılan tağşış ve hilenin veya yanıltıcı ilavelerin tespiti için gerek mevcut analitik yöntemlerin geliştirilmesi gerekse de hem Avrupa Birliği hem de diğer gelişmiş ülkelerce yasal düzenlemelerin yapılması adına yönetmelikler ve tüzükler sürekli güncellenmektedir. Ancak, yapılan bilimsel araştırma ve çalışmalara paralel olarak gıda sahtecileri de kabul edilen bu analitik yöntemleri bertaraf edebilecek teknikler geliştirmektedirler.

Çalışmamızda gıda ürünlerine ekonomik değeri düşük tatlandırıcıların ilave edilmesi suretiyle yapılan hilenin ve elde edilen veriler ışığında ürünün coğrafik kökeni ve orijinalliğinin tespit edilebilmesine çalışılmıştır.

Çalışmada incelenen pekmez ve üzüm örneklerinin fruktoz, glukoz ve sakkaroz miktarları HPLC ile tespit edilerek üçgen diyagramında yerleştirilmiş ve Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi tebliğinde belirtilen aralıklar baz alınarak elde edilen işaretlenmiş bölge içinde olup olmadıkları kontrol edilmiştir. Eğer pekmez analizi ile bulunan sonuçlar bu bölge içinde değil ise o pekmezin hileli olma olasılığı oldukça yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Ancak pekmeze eşit miktarlarda fruktoz ve glikoz ilavesi veya invert şeker ilavesi yapılarak fruktoz/glikoz oranı doğal şıradaki gibi 0,9-1,1 arasında ayarlandı ise, bu ilaveyi kromatografik olarak tespit etmek mümkün değildir. Bu aşamada kararlı izotop analizleri önem kazanmakta ve bu analizler sonucu elde edilen verilerin kullanımıyla oluşturulan tağşış üçgeninin kullanılmasıyla pekmezde yapılan tağşış ve bu tağşışın hangi suretle yapıldığı tespit edilebilmektedir.

Aynı bölgede yetişen pekmez ve üzüm numunelerinin SNIF-NMR sonucu elde edilen (D/H)_I ve (D/H)_{II} sonuçlarının büyük oranda örtüştüğü ve aynı zamanda bu değerlerin meteorolojik verilerle oluşturulan bölgelerle de uyumlu olduğu görülmüştür. Ayrıca, ilk olarak tarafımızca yapılan bu çalışmada pekmez ve üzüm örnekleri bölgesel olarak farkedirilmişlerdir.

Anahtar Kelimeler: HPLC, tağşış, hile, pekmez, etanol, kararlı izotop analizi, döteryum, SNIF-NMR®, karbon izotopu, IRMS, orjinallik, coğrafik köken.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

INVESTIGATION of DETERMINATION of FRAUD, ADULTERATION and GEOGRAPHIC ORIGIN of MOLASSES and SIMILAR FOODS**Muharrem YILMAZ**

Department of Analytical Chemistry

PhD. Thesis

Advisor:

Prof. Dr. Hüseyin AFŞAR

Increasing competition in the world food market and domestic consumers' expectation of high-quality products at a low price means there is a need for new tools for monitoring food quality.

Both the development of analytical methods and regulations as well as European Union and other developed countries on behalf of legal arrangements are updated continuously. However, it must be stated that, despite this ongoing research, those involved in carrying out food fraud are also continuing to develop new ways of circumventing accepted techniques for food authentication.

In this study, the determination of adulteration with the addition of low cost sweeteners to foods has been studied. Moreover, the authenticity and geographical origin of samples has been tried to determine.

Amounts of fructose, glucose, and sucrose in grape molasses determined with HPLC have been placed in a triangle diagram, and it has been checked whether they have been placed shaded area created on behalf of Turkish Food Codex Grape Syrup Regulation or not. It has been concluded that if results have been placed out of shaded area, the grape molasses is a very high probability of being fraudulent.

Nevertheless if grape molasses have been adulterated with addition of equal amounts of fructose and glucose or inverted sugar to arrange fructose/glucose ratio around 0.9-1.1 as natural grape concentrate, it is impossible to determine using chromatographic methods this type of adulteration. Stable isotopic analyses have been gained importance at this stage. The adulterated triangle has been created by using obtained data, and this graph provides information about whether molasses is adulterated or not even the type of sweetener in molasses evaluated as fraudulent.

$(D/H)_I$ and $(D/H)_{II}$ results obtained from SNIF-NMR have been largely coincided with grape and grape molasses samples grown in the same region, and it is observed that these values have been compatible with region generated by us using meteorological data. Besides, grape molasses and grape samples have been differentiated regionally with this study done by us firstly.

Key words: HPLC, adulteration, fraud, grape molasses, ethanol, analysis of stable isotopes, deuterium, SNIF-NMR®, carbon isotope, IRMS, authenticity, geographical origin.

YILDIZ TECHNICAL UNIVERSITY**GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Dünya gıda pazarındaki rekabetin artışı, yerli tüketicilerin yüksek kaliteli ürünleri düşük fiyatlara alma beklentisi gıda kalitesinin izlenmesi için yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmasına neden olmaktadır.

Gıdalarda yapılan tağşiş ve hilenin veya yanıltıcı ilavelerin tespiti için gerek mevcut analitik yöntemlerin geliştirilmesi gerekse de hem Avrupa Birliği hem de diğer gelişmiş ülkelerce yasal düzenlemelerin yapılması adına yönetmelikler ve tüzükler sürekli güncellenmektedir. Ancak, yapılan bilimsel araştırma ve çalışmalara paralel olarak gıda sahtecileri de kabul edilen bu analitik yöntemleri bertaraf edebilecek teknikler geliştirmektedirler. Örneğin 2008'de Çin'de görülen melamin katkılı süt ürünleri gibi.

Gıda Sektöründe çok yaygın olarak görülen bir hile şeklide, numuneye beyan edilmeden yapılan tatlandırıcı ilavesidir. Özellikle karbohidratça zengin gıdalarda bu yolla yapılan tağşişin tespiti oldukça güçtür, çünkü ilave edilen tatlandırıcılar ürünün mevcut karbohidrat profili ile uyum içindedir. Tatlandırıcıların analizi, ürünün orijinalliğinin ve yapılan hilenin tespiti için bir belirteç olabilmektedir.

2010 yılı verilerine göre 4 255 000 ton üzüm üretimiyle Türkiye, Dünya'da İtalya, ABD, Çin, İspanya ve Fransa'dan sonra 6., Avrupa'da ise 4.sırada yer almaktadır. 2010'da ülkemizde üretilen üzümün % 52,8'i sofralık, % 36,3'ü kurutmalık, % 10,8'i ise şaraplık olarak kullanılmıştır. 2004-2010 yılları arasındaki üretilen üzümün kullanım alanları ve % dağılımları Çizelge 1.1'de yer almaktadır [1].

Çizelge 1.1. 2004-2010 yılları arasındaki üretilen üzümün kullanım alanları ve % dağılımları.

Üretilen Yıl	Üretilen Üzümün Kullanıldığı Yerler ve % Dağılımı		
	Sofralık	Kurutmalık	Şaraplık
2004	54.3	35.1	10.6
2005	51.9	36.4	11.7
2006	51.5	37.4	11.1
2007	52.9	33.7	13.3
2008	50.3	37.7	12.0
2009	52.9	35.9	11.2
2010	52.9	36.3	10.8

Pekmez geleneksel bir Türk gıdası ve bizim için önemli bir besin maddesidir. Son zamanlarda hileli pekmez örnekleri hem iç piyasada hem de ihracatta Türkiye için artarak büyüyen bir problem teşkil etmektedir. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği 2007/27 nolu üzüm pekmezi tebliğine göre sıvı üzüm pekmezi sadece kendi meyvesinde elde edilen şıra ile üretilmeli ve ilave tatlandırıcı içermemelidir. Ancak maliyeti düşürmek adına glikoz şurubu, yüksek fruktozlu mısır şurubu ve sakkaroz gibi tatlandırıcılar üzüm şirasına ilave edilerek karıştırılmakta ve hatta sadece invert şeker şurubu ve renklendirici karamel kullanılarak pekmeze benzer ürünler sunulmaktadır.

Literatürde, pekmezde yapılan tağşişin tespit edilebilmesi amacıyla ticari olarak üretilen bazı sıvı ve katı üzüm pekmez örneklerinin fiziksel özellikleri ile kimyasal bileşenleri belirlenerek Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi Tebliği' ne uygunluğu incelenmiş [2], farklı oranlarda glikoz ve fruktoz şurupları doğal pekmezle karıştırılarak numunelerin şeker ve mineral içerikleri regresyon analiz metodu kullanılarak

araştırılmış [3], üzüm pekmezi farklı meyve konsantreleri ile karıştırılarak birtakım fiziksel ve kimyasal özellikleri ve bileşimleri karşılaştırılmıştır [4]. Kararlı izotop analizi ise sadece bir çalışmada üzüm pekmezi örneklerinin IRMS kullanılarak toplu-izotop analizi yönünden incelenmiştir [5].

Çalışmamızda gıda ürünlerine ekonomik değeri düşük tatlandırıcıların ilave edilmesi suretiyle yapılan hilenin ve elde edilen veriler ışığında ürünün coğrafi kökeninin tespit edilebilmesine çalışılmıştır.

Ülkemizce bolca üretilen üzüm ve bu üzümünden elde edilen ürünlerin kontrolü önem arz etmektedir. Bölgesel olarak seçilen pekmez örnekleri ve bu pekmezlerden bazılarının üretildikleri üzüm suyu ve kuru üzüm numuneleri, hem pekmezde yapılan hile ve tağşişin tespiti hem de coğrafi köken bakımından farkedilebilmesi amacıyla, öncelikle sıvı kromatografik yöntemle mono ve disakkarit dağılımları tespit edilerek kıyaslanmıştır. Sonrasında, bilindiği kadarıyla Türkiye topraklarında yetişen üzümünden elde edilen ürünlerin kararlı izotop analizleri SNIF-NMR® ve IRMS yöntemleriyle ilk defa bu çalışmamızda incelenmiştir. Yapılan bu çalışmalar sonucunda elde edilen pekmez ve üzüm örneklerine ait veriler hem kendi aralarında hem de birbirleriyle kıyaslanmıştır. SNIF-NMR® ve IRMS yöntemleriyle elde edilen veriler kullanılarak tağşiş üçgeni oluşturulmuş ve bu grafikte pekmezin tağşişli olup olmadığı, hatta tağşişli ise ne tür bir tatlandırıcı ilave edildiği hakkında bilgi edinilmektedir. Ayrıca numuneler, elde edilen kararlı izotop analiz sonuçlarının numunelerin yetiştirildiği bölgelere ait meteorolojik verilerle de ilişkilendirilerek bölgesel olarak farkedilmeye çalışılmıştır.

Çalışmamız ülkemiz topraklarında yetiştirilen üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerle ilgili olarak örneklerin fermente edilmesiyle elde edilen alkolle SNIF-NMR® ve IR-MS yöntemlerinin kullanılmasıyla yapılan ilk izotopik çalışmadır.

Ayrıca, ilk olarak yapılan bu çalışmada SNIF-NMR® ve IRMS verilerinin birlikte kullanılmasıyla **Tağşiş üçgeni** adı verilen grafik elde edilmiş ve bu grafik sayesinde üzüm ve pekmez örneklerinin orijinal veya hileli olup olmadığı hatta hileli ise ne tür bir katkı ile hile yapıldığı hakkında bilgi edinilebilmektedir.

Yapılan çalışmalarda saf pekmez örneklerinin hem SNIF-NMR® hem de IRMS sonuçları kirletilen örneklerinkinden belirgin derece farklı oldukları gözlemlenmiştir.

Aynı bölgede yetişen pekmez ve üzüm numunelerinin SNIF-NMR® sonucu elde edilen $(D/H)_I$ ve $(D/H)_{II}$ sonuçlarının büyük oranda örtüştüğü ve aynı zamanda bu değerlerin meteorolojik verilerle oluşturulan bölgelerle de uyumlu olduğu görülmüştür. İlk olarak tarafımızca yapılan bu çalışmada pekmez ve üzüm örnekleri bölgesel olarak farkedilmişlerdir.

BÖLÜM 2

ÜZÜM ve PEKMEZ

Bağcılık, Türkiye ekonomisinde ayrı öneme sahip bir tarımsal faaliyettir. Özellikle, diğer tarımsal ürünlerin yetiştirilmesine uygun olmayan tarım alanlarının değerlendirilmesine olanak tanıdığı için ayrı bir öneme sahiptir. Yaklaşık 7500 yıl önce Anadolu'da kültüre alınan asma bu topraklar üzerinde hüküm süren uygarlıklar döneminde daima tarımsal yapı içerisinde önemli bir yere sahip olmuş, her zaman insanımızın toplumsal ve ekonomik yaşamında önemli katkılarda bulunmuştur [6].

Asma, dünyada kültüre alınan en eski meyve türlerinden biri olup, bugün 10000'in üzerinde üzüm çeşidi bulunmakta ve bunun 1200'den fazlası ülkemizde yetiştirilmektedir. Ancak, günümüzde bu kadar çeşitten 50-60 kadarı ekonomik önem taşımaktadır.

Türkiye'de ekolojik koşullar dikkate alındığında Doğu Anadolu'da birkaç il ve yüksek yaylalar dışında her yerde bağcılık yapılabilmektedir. Bağ alanları ekilebilir tarım alanlarımızın % 3,1'ini bağ-bahçe alanının % 16'sını teşkil etmekte ve yıllık tarımsal milli gelirimizin % 6-7 si bağcılıktan sağlanmaktadır [6].

2.1. Üzüm ve Şıranın Bileşimi

2.1.1. Üzümün Çeşitli Kısımlarının Bileşimi

Asmanın meyvesi olan üzüm, salkım halinde sap kısmı ile daneler ve daneleri sap kısımlarına bağlayan çöplerden ibarettir. Şıra dane içinde olup danenin etli kısmı şıra ile doludur. Salkımı oluşturan çeşitli kısımların bileşimleri üzüm çeşidine ve olgunluk derecelerine göre değişiklik göstermektedir. Çizelge 2.1'de salkımın çeşitli kısımlarının bileşimi verilmiştir. Salkımda sap ve çöp kısmı genel olarak salkım ağırlığının % 3-7, kabuk kısmını % 4-20 ve çekirdek kısmını % 0-6, danenin etli kısmını ise % 75-85 kısmını oluşturur [2].

Çizelge 2.1. Üzüm salkımının çeşitli kısımlarının % bileşimi [2].

Bileşenler	Salkım Kısımları			
	Saplar	Çekirdek	Kabuk	Etli Kısım
Su (g/100 g)	55-80	30-45	65-75	65-85
Şeker (g/100 g)	eser	Eser	Az	15-30
Ham Selüloz (g/100 g)	5	28	4	Çok az
Kül (g/100 g)	1-2	1-2	0,5-1	0,2-0,6
Tanen (g/100 g)	2-5	2-8	0,4-4	eser
Tartarik Asit (g/100 g)	eser	-	-	0,4-0,8

2.1.2. Şıranın Bileşimi

Üzüm şırasında bulunan maddelerin başlıcaları: Su, karbohidratlar, asitler, mineral maddeler, azotlu maddeler, renk maddeleri, fenolik maddeler, lipidler, aroma maddeleri, enzimler, vitaminler ve diğer maddelerdir.

Üzüm meyvesinde enerji, protein, karbohidrat, ham selüloz, kalsiyum fosfor, potasyum ve askorbik asit miktarları üzüm suyuna ait değerlerden daha fazla olarak bulunurken, ham yağ, toplam kül ve demir miktarları ise üzüm meyvesi ve üzüm suyunda aynı olarak bulunmuştur. Üzüm ve üzüm suyunun bileşimi ve özellikleri Çizelge 2.2'de verilmiştir [2].

Çizelge 2.2. Üzüm ve üzüm suyunun bileşimi ve özellikleri [2].

Bileşim Maddeleri	Üzüm Meyvesi	Üzüm Suyu
Enerji (kcal /100 g)	56	53
Nem (%)	84,4	85,2
Protein (%)	0,5	0,3
Ham Yağ (%)	0,2	0,2
Karbohidrat (%)	14,4	14
Ham Selüloz (%)	0,2	-
Toplam Kül (%)	0,30	0,30
Kalsiyum (mg/100g)	6	5
Fosfor (mg/100g)	13	10
Demir (mg/100g)	0,2	0,2
Sodyum (mg/100g)	1	2
Potasyum (mg/100g)	130	45
Askorbik Asit (mg/100g)	4	-

2.1.2.1. Karbohidratlar

Şıra toplam kuru maddesinin büyük bir kısmını monosakkaritler oluşturur. Üzümde bulunan monosakkaritler: glikoz (üzüm şekeri) ve fruktoz (meyve şekeri) dur. Glukoz ile fruktoz, şıradaki şekerlerin % 99'unu, olgun tane ağırlığının ise % 12-27'sini oluşturur. Bu şekerler yapraklarda çoğunlukla sakkaroz şeklinde sentezlenir. Daha sonra üzüm tanelerine taşınan sakkaroz, burada invertaz enzimi yardımıyla kendisini oluşturan glikoz ve fruktoza ayrışır. İnvvertaz aktivitesi çiçeklenmeden sonraki 6.haftada en yüksek seviyesine ulaşır. Tane gelişiminin başlangıcında glikoz miktarı daha fazla olmasına karşılık, hasat zamanında glikoz ve fruktoz oranı yaklaşık olarak birbirine eşit kabul edilir. Glikoz/fruktoz oranının çeşitlere göre 0,74-1,05 arasında değiştiği bulunmuştur.

Fruktoz; glikoz ve sakkarozdan daha tatlı bir maddedir. Yüzde 15' lik fruktozun verdiği tadı ancak % 17,8' lik sakkaroz veya % 22,8' lik glikoz verebilmektedir. Erkenci çeşitler için fruktoz, orta ve geçici çeşitler için glikoz miktarı yüksek çeşitlerin seçilmesi önerilmiştir. Şeker miktarı tane tutumundan sonra hasada kadar düzenli olarak artar.

Olgun üzümlerde oldukça düşük miktarlarda (% 0,02-0,6) bulunan ancak, teknolojik olarak önemli olan polisakkaritler pektik maddelerdir. Üzümler preslendiğinde elde edilen şıra mat ve koloidal bir görünüştedir. Şıranın berrak bir halde olmaması kısmen presleme sırasında şıraya geçen bazı maddelerden ileri gelirse de, mat görünüş şıradaki pektik maddelerden ileri gelir. Pektik maddeler şırada koruyucu kolloid görevi görerek diğer bulanıklık maddelerinin çökmesini de engellerler. Pektik maddelerin yapı taşları arabinoz, galaktoz, metil alkol ve galaktronik asittir. Henüz olgunlaşmamış üzümlerde pektin diğer meyvelerde olduğu gibi suda çözünmeyen protopektin halinde olup, meyve dokusunun sert olmasında etkili olur. Meyvede olgunluk başlayıp yavaş yavaş ilerledikçe protopektinazın etkisiyle protopektin suda çözünen pektin haline dönüşür. Aşırı olgun üzümlerde ise pektin pektinmetilesteraz etkisiyle pektik asite dönüşmektedir. Danenin olgunlaşması sırasında yavaş yavaş yumuşaması ve çekirdeği saran etli kısmın küçülmesinde bu değişikliğin rol oynadığı düşünülmektedir [2].

2.1.2.2. Asitler

Üzüm şirasında bulunan asitlerin başlıcaları: tartarik asit ve malik asit olmakla beraber, bu asitlerden başka şırada oldukça düşük düzeylerde sitrik asit, süksinik asit (olgunlaşmamış üzümlerde) ve okzalik asit bulunmaktadır. Şıradaki genel asit miktarı üzüm çeşidine, iklim koşullarına, toprak çeşidine, hastalık durumuna ve üzümlerin olgunluk düzeylerine göre değişiklik göstermektedir. Genellikle olgunlaşmış üzümlerde genel asit miktarı 3-15 g/L (tartarik asit olarak) düzeylerinde olmaktadır.

Meyveler arasında hemen hemen yalnız üzümde bulunan tartarik asit, üzümde kısmen serbest, kısmen de bağlı haldedir. Olgunlaşmamış üzümlerde daha çok serbest halde bulunurken tane büyüdükçe ve olgunluk ilerledikçe potasyumla birleşir ve olgunluk sırasında tartarik asidin büyük kısmı bağlı hale geçmiş olur.

Malik asit miktarı üzümlerin olgunlaşmaya başlamasına kadar tanede devamlı olarak artar ve miktarı litrede 15-20 grama kadar yükselir; ancak, tanelerin yumuşamaya başlamasıyla birlikte miktarı sürekli azalır ve aşırı olgun üzümlerde oldukça düşük miktarlara geriler. Üzüm şirasında diğer organik asitlerden çok düşük miktarlarda sitrik asit (0,01-0,03g/100ml), özellikle olgunlaşmamış üzümlerde az miktarda süksinik asit ve çok az miktarda da okzalik asit (0,03-0,04 g/l) bulunur [2].

2.1.2.3. Mineral Maddeler (Kül)

Üzüm şirasındaki mineral maddelerin toplam miktarı 2-5g/L arasında değişmektedir. Üzüm şirasındaki kül miktarı üzerinde üzüm çeşidi, olgunluk derecesi, iklim koşulları ve yağışların vejetasyon devresindeki dağılışı, toprak cinsi ve gübreleme etkili olmaktadır. Kurak iklim bölgelerinde ve yıllarda köklerin topraktan mineral maddeleri alma imkanı daha az olacağından üzümlerde bulunan mineral maddelerin miktarı daha az olmaktadır. Şıradaki mineral maddelerin en büyük kısmını potasyum (15-25 mg/100ml) ile, kalsiyum (4-25 mg/100 ml) ve magnezyum (10-25 mg/100 ml) oluşturur.

Bunların yanı sıra sodyum (en çok 20 mg/100 ml), demir (en çok 3 mg/100 ml), sülfirik asit, az miktarda silikat asidi ile borik asidin tuzları bulunmaktadır [2].

2.2. Pekmez

Pekmez ülkemizde üretilen geleneksel bir gıda maddesidir. Pekmez yaygın olarak taze üzüm ve ihraç şansı olmayan kuru üzümde üretilmekle birlikte elma, dut, kayısı, erik, karpuz, incir ve şeker pancarından da pekmez üretilmektedir. Pekmez genel olarak meyve şirasının asitliğini gidermeden veya giderdikten sonra açık yada vakum kazanlarda koyulaştırılarak elde edilen bir ürün olup, üretim aşamaları hammaddeye ve yöreye göre değişiklik göstermektedir. Fakat ülkemizde en yaygın üretilen ve tüketilen pekmez türleri üzüm ve dut pekmezleridir. Pekmez yüksek miktarda şeker, mineral ve organik asit ihtiva eden bir üründür. Bundan dolayı da insan beslenmesi açısından çok önemli bir gıdadır [7].

Ülkemizde pekmez üretimi çok eskilere dayanmaktadır. Pekmez, Osmanlı İmparatorluğu zamanında Mısır çarşısında soğuk algınlığı, göğüs nezlesi ve boğaz ağrısı için ilaç olarak kırmızı acı biber ile beraber kullanılmaktaydı. Memluklar devrinde de içki çeşidi olarak pekmez tüketildiği Memluklar devrinde yazılan Türkçe eserlere de yansımıştır. Pekmez ile ilgili Türkçe yazılı literatür ancak 1940'lı yıllarda yazılmaya başlanmıştır. 1940 yılında "üzüm pekmezleri üzerine teknik araştırmalar" başlıklı bir araştırma yapılarak geleneksel pekmez üretim yöntemleri belirtilmiş ve farklı bölgelerden sağlanmış olan pekmez örneklerinin bileşimleri araştırılmıştır. 1940'lı yıllardan sonra şeker darısı, şeker pancarı, karpuz ve üzüm pekmezleri üzerine yapılmış olan bazı araştırmalar vardır. Daha sonra Turgut Yazıcıoğlu'nun yapmış olduğu araştırmalar 1976'ya kadar devam etmiştir. 1980 yılının başlarında Ankara Üniversitesi

Ziraat Fakültesinde “üzüm şirasının pekmeze işlenmesi sırasında oluşan terkip değişimleri üzerine bir çalışma” yapılarak bu çalışma 1982 yılında yayınlanmıştır. Ayrıca 1976-1984 yılları arasında Gebze, Tübitak Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsünde Gökçen, Ömeroğlu ve Yazıcıoğlu'nun pekmez üzerine yapmış oldukları bazı çalışmalar yayınlanmıştır. 1990' nın başında Batu ve Yurdagel Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünde kuru üzümden beyaz katı üzüm pekmezi üzerinde bazı araştırmalar yapmışlardır. Bu çalışmada, kuru üzüm şirasında oluşan kolloidlerin durultulması, durultulmuş şiranın açık kazan ve vakum kazanında konsantrasyonu sırasında oluşan kimyasal değişimler ve ayrıca sıvı pekmezin ağartılması ve katılaştırılması üzerine farklı araştırmalar yapılmıştır. Bunlara ek olarak son yıllarda Çukurova, Selçuk ve Gaziantep Üniversitelerinde pekmez üzerine bazı araştırmalar devam etmektedir [7].

2.2.1. Pekmez Üretimi

Türkiye'de pekmez çok eski zamanlardan beri büyük miktarlarda üretildiği halde üretim tekniği çok fazla değişmemiştir. Farklı özelliklerde olan pekmezlerin üretiminde bir takım farklılıklar vardır. Bu farklılıklarda dikkate alınarak değişik pekmezlerin üretim aşamaları şu şekilde özetlenebilir.

2.2.2. Sıvı Pekmez Yapımı

Sıvı pekmezler şiranın asitliğinin giderilip giderilmemesine göre; tatlı ve ekşi sıvı pekmez olmak üzere iki tipe ayrılır.

2.2.2.1. Tatlı Sıvı Pekmez Yapımı

Pekmez yapılacak hammaddeler üzerlerindeki toz, toprak ve sap parçacıkları ile tarımsal ilaç kalıntılarını uzaklaştırmak için yıkanılır. Temizlenen ürünlerden şıra eldesi insan gücü kullanılarak gerçekleştirilir. Ürünler çuvallara doldurularak tahtadan veya betondan yapılmış teknelerde ayakla çiğnenerek şıraları çıkarılır. Elde edilen şıra bulanık ve asit karakterlidir. Ortalama olarak litrede 5 g olan bu asitlerin tatlı pekmez üretebilmek için belirli düzeyin altına indirilmesi gerekir. Asit giderici olarak çeşitli yörelerde, değişik bileşim gösteren ve pekmez toprağı denilen toprak kullanılmaktadır. Kireci fazla, rengi beyaz veya beyaza yakın topraklar bu amaçla kullanılmaktadır. Pekmez toprağı aynı zamanda durultmanın sağlanmasında da etkili olmaktadır. Kullanılacak toprak miktarı değişik olabilmektedir. Bu amaçla 100 kg taze üzüm şirasına 0,1-1,0 kg arası toprak veya 100 L şiranın asitliğini % 0,1 düzeyinde azaltmak için 66 g teknik kalsiyum karbonat, CaCO₃ ilave edilmelidir. Toprağın şıraya etkisini kolay ve çabuk sağlamak, mayaların faaliyetini önlemek ve durultmayı hızlandırmak için üzüm şirası kuvvetli yanan bir ocak üzerinde bir taşım kaynatılır ki buna şiranın kestirilmesi denir. Kestirme sonrasında şıra dinlenmeye bırakılır ve 5-6 saat sonra tortunun kabın dibine çöktüğü görülür. Uygulamada genellikle bir gece beklenerek işlem gerçekleştirilmektedir. Bu bekleme süresi sonunda berrak kısım tortudan ayrılır ve berrak şıra elde edilir. Elde edilen berrak şiranın koyulaştırma işlemi 15-18 cm derinliğinde ve 70-80 cm çapındaki bakır hazırlama kaplarında yapılır. Berrak şiradan 45 L alınıp bakır hazırlama kabına aktarılır ve hazırlama kabı ocağın üzerine yerleştirilir. Şıra kaynarken devamlı karıştırılır ve savrulur. Böylece buharlaştırma işlemine yardımcı olunur ve kabın dibindeki yanıkların oluşması önlenir. Karıştırma sırasında şıra yüzeyinde oluşan kirli köpükler alınır. Koyulaştırmanın yeterliliği pratik olarak, koyulaşan pekmezden tahta kaşıkla alınan örneğin yavaşça akıtılması ile damlaların bir noktadan değil de yan yana iki yerden damlaması ile anlaşılır. Koyulaştırma işlemi, güneşi bol ve kurak bölgelerde güneş enerjisinden yararlanılarak da yapılır. Şıra tepsilere konur ve güneşte bekletilerek koyulaştırılır. Bu şekilde yapılan pekmeze “günbalı” veya “gün pekmezi” denir ve pekmezler içinde en kaliteli olanıdır. Pekmez, cam kavanoz, plastik bidon veya diğer ambalajlara doldurularak muhafaza edilir.

Modern yöntemle tatlı sıvı pekmez üretimi kuru üzümünden pekmez yapılacaksa kuru üzümler öncelikle nemlendirilir ve kıyım makinesinden geçirilir. Kıyılmış olan kuru üzümlere ters akım prensibine göre (1:3, katı : sıvı ekstraksiyonu) özütleme işlemi uygulanır. Taze üzümlerden üretim yapılacaksa öncelikle üzümler yıkanarak temizlenirler. Temizlenen üzümler, sap ayırma makinesinden geçirilerek saplarından ayrılır. Danelenen üzümler, üzüm ezme değirmeninden geçirilerek ezilirler. Böylece üzümler, preslenmeye hazır hale gelirler. Şıranın elde edilmesi için üzümler prestan (pnömatik, horizontal, paketli) geçirilirler. Presleme sonucu elde edilen şıraya renk kararmalarını önlemek amacıyla 50 ppm düzeyinde kükürt dioksit, SO₂ ilave edilebilir. Presleme sonucu elde edilen şıra bulanık ve asit karakterlidir. Bulanıklığın derecesi ve niteliği çeşide, taze veya bekletilmiş oluşuna göre değişmektedir. Modern işletmelerde şıra, kaba maddelerinden ayırmak amacıyla separatörden geçirilir. Separasyon işleminden sonra şıraya asitliğini gidermek amacıyla pekmez toprağı ilave edilir. Bu amaçla 100 L şıranın asitliğini % 0,1 düzeyinde azaltmak için 66 g teknik CaCO₃ ilave edilir. Toprağın şıraya etkisini kolay ve çabuk sağlamak, mayaların faaliyetini önlemek ve durultmayı hızlandırmak için şıra 70°C'ye kadar ısıtılır. Şıra soğutulur ve dinlenmeye bırakılır. 5-6 saat sonra tortunun kabın dibine çöktüğü görülür. Bu bekleme sonunda berrak kısım tortudan ayrılır. Şıranın tamamen berraklaştırılabilmesi ve buruk tatların ortadan kaldırılabilmesi için şıraya durultma işlemi uygulanır. Durultma işlemi ısı uygulamak suretiyle, tanen-jelatin uygulaması veya enzimatik yolla sağlanabilir. Yeterli bir durultma için, % 41 kuru maddeli şıraya 10 g/hl, % 17 kuru maddeli şıraya ise 5 g/hl tanen ve jelatin ilave edilmesi yeterli olmaktadır. Durultma sonunda şıra filtre edilerek berrak şıra elde edilir. Berrak şıra açık kazan ya da vakum yöntemine göre suyu buharlaştırılarak koyulaştırılmaktadır. Açık kazanda yüksek sıcaklıklarda konsantrasyon işlemi pekmezdeki şekerin % 5-10 kadarının yanarak karamelize olup esmer renkli, tat ve kokusu bozuk olan bir ürün oluşmaktadır. Pekmezin böyle esmer renk alması şıranın bileşiminde bulunan indirgen şekerlerin ısı işlem sonucunda asitlerin ve diğer kimi maddelerin etkisiyle tepkimeye girmesi sonucu oluşmaktadır.

Isıl işlem uygulaması ile koyulaştırılan gıda maddelerinde önemli bir kalite faktörü de hidroksimetilfurfural, HMF'dir. Açık kazan yönteminde asitlik değerinin yükselmesi durumunda konsantrasyon işlemi süresince ortamda bulunan indirgen şekerlerin ortamın pH derecesi düştükçe HMF üzerinden formik asit ve levulin aside kadar parçalandığı belirtilmektedir. Vakumda konsantrasyon işlemiyle uygun renk, tat ve kokuda, karamelize olmamış pekmez üretilebilmektedir. Vakum yöntemiyle üretilen pekmezin HMF içeriği 32,25 mg/kg gibi düşük düzeyde olup, açık kazan yöntemiyle üretilen pekmezde bu değer yasal sınır olan 150 mg/kg'ın çok üzerinde olmaktadır. İstenilen kurumadde düzeyine ulaşıncaya konsantrasyon işlemine son verilir ve pekmez soğumaya bırakılır. Pekmez, insan sağlığına zarar vermeyecek ve pekmezin özelliklerini bozmayacak nitelikteki laklı teneke kutu, cam kavanoz plastik veya diğer ambalajlara doldurularak piyasaya arz edilir [7].

2.2.2.2. Ekşi Sıvı Pekmez Yapımı

Hasat edilen üzümler, üzerlerindeki toz, toprak ve sap parçacıkları ile tarımsal ilaç kalıntılarını uzaklaştırmak için yıkanılır. Pekmez üretiminde mikroorganizmaların hammaddede en az düzeyde bulunması istenir. Temizlenen üzümlerden şıra eldesi insan gücü kullanılarak gerçekleştirilir. Elde edilen şıra bulanık ve asit karakterlidir. Ekşi pekmez yapımında elde edilen şıra asit giderme işlemi uygulanmadan koyulaştırma işlemine tabi tutulur. Koyulaştırma işlemi 15-18 cm derinliğinde ve 70-80 cm çapındaki bakır hazırlama kaplarında yapılır. Elde edilen şıradan 45 L alınıp bakır hazırlama kabına aktarılır ve hazırlama kabı ocağın üzerine yerleştirilir. Şıra kaynarken devamlı karıştırılır ve savrulur. Böylece buharlaştırma işlemine yardımcı olunur ve kabın dibinde yanıkların oluşması önlenir.

Karıştırma sırasında şıra yüzeyinde oluşan kirli köpükler alınır. Koyulaştırmanın yeterliliği pratik olarak, koyulaşan pekmezden tahta kaşıkla alınan örneğin yavaşça akıtılması ile damlaların bir noktadan değil de yan yana iki yerden damlaması ile anlaşılır.

İstenilen koyuluğa ulaşan pekmez ocaktan indirilir ve soğumaya bırakılır. Pekmez, cam kavanoz, plastik bidon veya diğer ambalajlara doldurularak muhafaza edilir.

2.2.3. Katı Pekmez Yapımı

Katı pekmezler bir kaptan diğerine ancak bir kaşık, hatta bıçakla alınabilecek özelliktedir. Ayrıca katı pekmezlerin renkleri de çok değişiktir. Bazıları kahverengi, bazıları sarı ve bir kısmı da beyaz denecek kadar açık renkli olurlar. Katı pekmez yapımı çok dikkat isteyen ve gerçekten hüner gerektiren bir iştir. Ülkemizde katı pekmez yapma yöntemleri bölgelere göre farklılık gösterir [7].

İZOTOPIK ANALİZ

3.1. Gıda Ürünleride Orjinallik (Authenticity) Tayini

Authenticity (Orjinallik) Codex Alimentarius'da gıda ürünlerinin fiziksel, kimyasal, organoleptik ve esansiyel besinsel karakteristiklerinin değişmeden kalması şeklinde tanımlanmaktadır. Gıda ürünlerinin orjinalliği üretici, tüketici ve kontrol organlarıncı önemli bir konu arz etmektedir. Gıdaların tadını, kokusunu ve rengi gibi karakteristik özellikleri değiştirmek adına birtakım değişik katkıları ilave edilir ki, bu ilavelerden bazıları ürünün kalitesini resmeder. İlavelerin çoğu bazı yönetmeliklerle belirlenmekte, ayrıca yapılan ilavelerin açık bir şekilde beyanı zorunlu olmaktadır. Beyan edilmeksizin yapılan hileli ilavelerin tespiti ekonomik olarak büyük önem taşımaktadır [8].

Bitki ve hayvansal organizmalardaki moleküllerin izotopik içerikleri ve dağılımları çevresel faktörlerden ve sentez yollarından etkilenmektedir ki, bu sebeple bu özellik kimyasal olarak aynı yapıya sahip fakat farklı kaynaklardan sentezlenen moleküllerin kökeni (kaynağı) hakkında bilgi vermektedir. Kimyasal bir türün "yapay (sentetik)" veya "doğal" olduğunu belirleyen yöntemler izotopik analiz temeli üzerine kurulmuştur.

Örneğin her bitki coğrafik faktörlerden ve metabolizmatik sentezlerden dolayı kendine özgü bir döteryum dağılımına sahiptir. Doğada döteryum su içerisinde ortalama 150 ppm dolaylarındadır. Ancak bu dağılım yerkürede aynı oranda olmayıp, ekvator da en yüksek değerlerde iken kutuplarda 70 ppm'e kadar düşmektedir.

Bitkiler çevresinden bünyesine aldığı suyu metabolizmatik aktivitelerinde kullanarak şeker, protein ve diğer ürünlere dönüştürür. Her bitki kendine özgü biogenetik yolla metabolizmasındaki kimyasalları üretir, dolayısıyla aynı cins iki bitki kendine özgü yapısından ötürü moleküllerinde kendine has döteryum dağılımına sahiptir [8].

3.2. Kararlı İzotopların Analizi

Son 30 yıldan bu yana kararlı izotopların (radyoaktif olmayan izotopların) ölçülmesi gıda sanayinde sahteciliğe karşı güvenli bir araç olduğunu göstermiştir. Birçok izotopik analiz gerek Avrupa'da gerekse de Kuzey Amerika'da gıdaların orjinalliğinin tespiti için resmi veya standart metod olmuştur. Bu metodlar bir ürünün veya bir ürünün içerisinde önem arzeden bir maddenin kararlı izotoplarının (^2H , ^{13}C , ^{18}O , ^{15}N vb.) ölçülmesi ilkesine dayanır (Çizelge 3.1) [9].

Çizelge 3.1. Birtakım kararlı izotoplar, doğal bollukları ve referans maddeleri [9].

Element	İzotop	Göreceli Doğal Bolluk (%)	Uluslararası referans ve onun izotopik oranı (R)
Hidrojen	¹ H	99,9895	V-SMOW(H ₂ O)
	² H(D)	0,0145	² H/ ¹ H=1,5576x10 ⁻⁴
Karbon	¹² C	98,892	V-PDB ^a (CaCO ₃)
	¹³ C	1,108	¹³ C / ¹² C =1,1237 x 10 ⁻²
Azot	¹⁴ N	99,6337	AIR(Atmosferik azot-N ₂)
	¹⁵ N	0,3663	¹⁵ N / ¹⁴ N =3,6765 x 10 ⁻³
Oksijen	¹⁶ O	99,7587	V-SMOW(H ₂ O) veya V-PDB ¹⁸ O/ ¹⁶ O=2,0052- 2,0672x 10 ⁻³
	¹⁷ O	0,0375	
	¹⁸ O	0,2039	

Kararlı izotop analizleri gıdalarda yapılan hilenin tespiti için en etkili yöntemdir. Bu metotlar bir ürün içindeki veya dolaylı yollarla elde edilen kararlı izotopların ölçümüne dayanır. Kararlı izotop ölçümlerinde iki teknik kullanılır ve bu teknikler şöyledir:

- Site-specific Natural Isotope Fractionation Nuclear Magnetic Resonance (SNIF-NMR)
- İzotop Oranı-Kütle Spektroskopisi (IRMS)

NMR veya IRMS kullanımı ile yapılan bu tespitler botanik ve coğrafik köken hakkında bilgiler verir ki, bu veriler tüketiciler veya ulusal ve uluslararası yönetmelikler tarafından çok önemli karakteristik özellikler olarak düşünülür. Bununla beraber, şunun altı çizilmelidir ki, sadece bir elementin veya o elementin sadece bir bölümüne ait veriler yerine çoklu izotopik analizler ve veriler gıdaların orijini ve orijinalliği hakkında güvenilir bilgiler adına gereklidir.

Numune bünyesinde yer alan şekerlerle, sonradan dışarıdan ilave edilen mısır, şeker kamışı sakkarozu, glukoz ve fruktoz şurubu ve invert şekeri gibi şekerleri farkedilebilmektedir.

3.3. Hidrojen ve Oksijen: Doğal İzotopik Fraksiyonlaşma

Tabiatta suyun hidrolojik çevriminin önemli bir unsurunu teşkil eden buharlaşma, yeryüzünde sıvı ve katı halde değişik şekil ve şartlarda bulunan suyun meteorolojik faktörler etkisiyle atmosfere gaz halinde dönüşü olarak tarif edilir. Yeryüzünde suyu ihtiva eden her yüzey, atmosferdeki su buharının kaynağıdır. Denizler, göller, akarsular, nemli topraklar, karla örtülü veya buzla kaplı yüzeyler, ormanlar, bitki örtüsüne sahip araziler üzerinde devamlı buharlaşma meydana gelmektedir.

Su yüzeyinde meydana gelen su kayıplarına buharlaşma (evaporasyon), bitkilerden meydana gelen su kaybına terleme (transpirasyon) denir. Bitkilerden ve civarındaki topraktan meydana gelen su kaybına ise evapotranspirasyon adı verilir.

3.3.1. Buharlaşıma Etki Eden Faktörler

Su yüzeyi ve ıslak yüzeylerde meydana gelen buharlaşma devamlı bir harekettir. Su yüzeyini terk eden su buharı miktarı, birim saha üzerindeki havanın özelliklerine (meteorolojik şartlar), suyun ve çevrenin özelliklerine göre değişim gösterir. Suda meydana gelen bu değişiklik bir enerji etkisiyle olmaktadır. 1 gram suyun buhar haline gelebilmesi için 539-597 kalorilik ısıya ihtiyaç vardır.

Buharlaşıma; difüzyon, konveksiyon veya rüzgar tesiriyle meydana gelir. Havanın buhar basıncı, su sıcaklığına paralel olarak doymuş buhar basıncının altına düşüncüye kadar difüzyon olayı devam eder. Su havadan daha sıcak olduğu zaman konveksiyon (dikey yönde hareket) hareketi başlar. Bu değerlendirmenin ışığı altında buharlaşmaya etki eden faktörleri aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz [10].

3.3.1.1. Meteorolojik Faktörler

Güneş radyasyonu, hava buhar basıncı, sıcaklık, basınç ve rüzgar buharlaşmayı etkileyen önemli meteorolojik faktörler arasındadır.

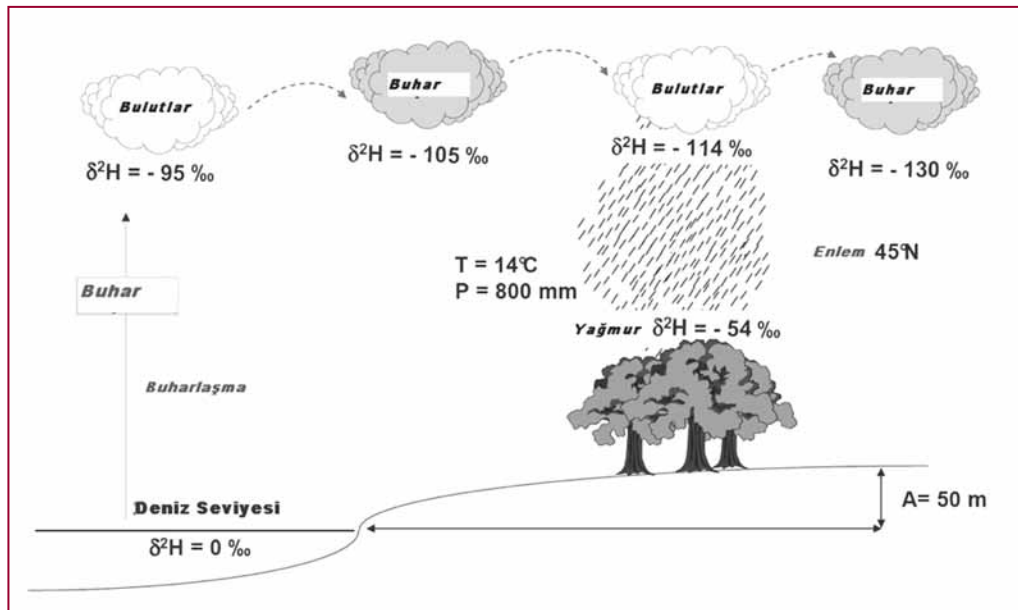
3.3.1.2. Coğrafik ve Topoğrafik Faktörler

Buharlaşıma olayında buharlaşmanın gerçekleşeceği bölgenin, coğrafik konumu ve güneşe karşı konumu önemli yer tutmaktadır.

3.3.1.3. Suyun Kalitesi ve Bulunduğu Ortam

Su kütlesinin büyüklüğü, tuzluluk durumu, bulanıklılığı ve hareketliliği buharlaşma miktarı üzerinde etkilidir.

Hidrojen ve oksijen izotoplarının fraksiyonlaşması su döngüsünün buharlaşma ve yoğunlaşma işlemleri boyunca sürer: okyanuslardaki su sıvı halden atmosfere buhar fazına geçer ve kuvvetli bir izotopik fraksiyonlaşmaya uğrar ki, buhar ve bulutlardaki ağır izotopların (döteryum veya ^2H , oksijen-18 veya ^{18}O) azalmasına sebep olur.



Şekil 3.1. Su döngüsü ve bu döngü esnasında döteryumun fraksiyonlaşması

Bir hava kütlesi okyanus ve denizler gibi kaynaklardan kıtalardan geçerek bir yörünge izleyerek soğur ve yağış şeklinde su buharını kaybeder. Bu yağış (rain-out) işlemi esnasında, ağır izotoplarca zenginleşen yağmur yeryüzüne düşer ve bulutlardaki buhar kademeli olarak ağır izotopları ($2H$ ve $18O$) bünyesinden kaybeder (Şekil 3.1). İklim, coğrafik ve topoğrafik koşulların toplamının evrensel etkisi meteorik suların farklı izotopik modellemeye sebep olur [9].

Bitki fizyolojisi de izotop fraksiyonlaşmasında önemli bir rol oynar; örneğin, bitkinin çevresindeki suyu (atmosfer ve topraktaki nemden) bünyesine almasına olanak sağlayan görelî diyafram ve stomanın kapanması gibi.

Olgunlaşma döneminde gerçekleşen buharlaşma-terleme aslında izotopik fraksiyonlaşmada bir etkidir. Bu işlem bitki ve meyvelerdeki sudaki hem oksijen hem de hidrojen atomlarının ağır izotoplarca zenginleşmesine neden olur. Bitki sularının izotop oranları yer altı sularına göre görelî pozitifdir. Ayrıca, asma gibi yeryüzünde yetişen bitkiler yer altında büyüyen şeker pancarı gibi bitkilere göre daha kuvvetli buharlaşma-terleme etki gösterir ki, bu özellik asmadaki şekerin döteryum içeriğinin şeker pancarındaki şekerden daha zengin olduğunu açıklar. Bu farklılık, fermantasyon sonucu elde edilen etanoldaki döteryum zenginleşmesini bölge bölge ölçme temeline dayanan SNIF-NMR®'in temel prensibidir.

3.4. Site-specific Natural Isotope Fractionation Nuclear Magnetic Resonance (SNIF-NMR®)

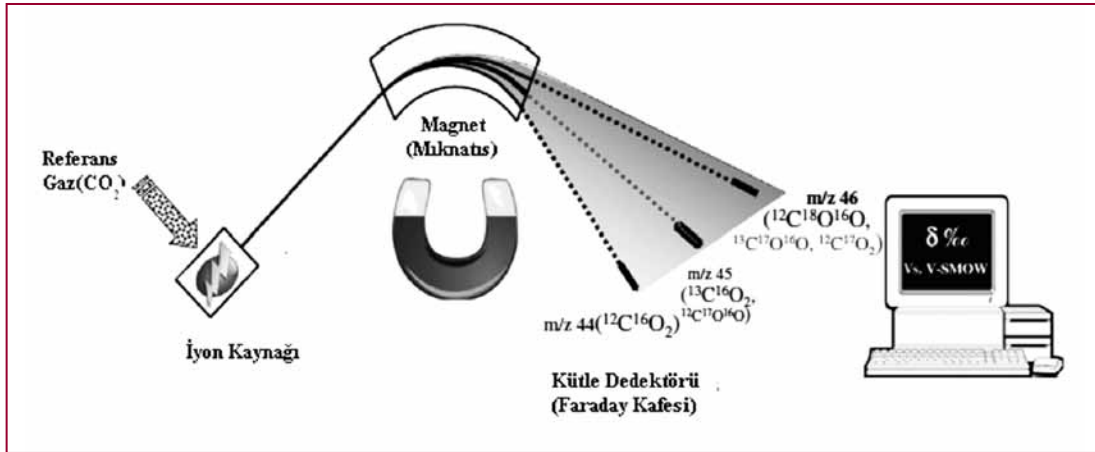
IRMS tekniği bir molekülün tamamının izotopik içeriğini belirlerken o moleküldeki farklı pozisyonların izotopik oranları ile ilgili bilgi veremez. Gıdaların orijinalliğinin tespitine yüksek-çözünürlüklü NMR'ın en belirgin katkısı belirli bir tür içerisinde doğal zenginliği düzeyindeki özel (spesifik) moleküler bölgenin izotopik içeriğinin tespit edilebilmesine olanak tanınmasıdır. NMR ile belirlenen bölge-spesifik doğal izotop fraksiyonu (SNIF-NMR® for site-specific natural isotope fractionation studied by NMR) olarak tanımlanan teknik 1980'lerin başında Nantes Üniversitesinde Prof. Gerard ve Maryvonne Martin tarafından geliştirilmiştir. Bu teknik, izotopik metotların performansını geliştirmiş ve bir molekülün "doğal" veya "yapay" kökenli olup olmadığını tespiti ile ilgili gerçek, güvenilir kanıtlar sunmuştur.

SNIF-NMR® yönteminin ilk uygulamaları şaraba ilave şekerin katılıp katılmamasının tespitine yöneliktir. "Chaptalization" olarak tanımlanan bu işlemin amacı, kamış şekeri, pancar şekeri veya konsantre edilmiş rektifiye şıranın üzüm suyu veya şaraba fermentasyon sırasında veya öncesinde ilave ederek şarabın alkol seviyesini yükseltmek ve market değerini arttırmaktır. Bu tüketiciyi aldatmaktır, çünkü yapılan şeker ilavesi ürün üzerindeki etikette yer almamaktadır. Bu ekonomik dolandırıcılığın en yaygın türlerinden birisidir ve amacına ulaştığında, ucuz şarabın yanlış sunumu veya mükemmel ve pahalı bir şarabın, genellikle farklı bir bölgesel yöreden hatta farklı bir ülkeden sağlanan ucuz ve düşük kalitedeki bir şarabın karıştırılmasına olanak sağlar. Bu sebeple SNIF-NMR metodu 1987 yılında Uluslararası Asma ve Şarap Organizasyonu (OIV) ve Avrupa Birliği (AB) Komisyonunca resmi metot olarak kabul edilmiştir.

Günümüzde SNIF-NMR, kimlik doğrulama (orijin tespiti), etiket kontrolü, taşış tespiti, uluslararası ticaret standartlarına uygunluk ve oldukça kompleks yapıda olan kimyasal çevrimlerin aydınlatılması gibi birçok değişik alanlarda kullanılmaktadır. Ayrıca, bu yöntem fermente ve destile içeceklerdeki alkollerin, meyve sularındaki karbohidratların, deniz, hayvansal ve bitkisel yağlardaki trigliserit yapıların ve türevlerinin, aroma sanayisinde kullanılan esansiyel yağların analizlerinin yapılmasına yönelik olarak da geliştirilmiştir [8].

3.5. İzotop Oranı-Kütle Spektroskopisi (IR-MS)

Kararlı izotopların analizi doğal sistemlerdeki izotopik fraksiyonların belirlenmesi ile gerçekleştirilir. İzotop oranlarının hassas bir şekilde belirlenmesi amacıyla kullanılan Kütle Spektrometreleri magnetik sektördür. Magnetik sektör, quadropole sistemlere göre iki büyük avantaj sağlar. Birincisi birden fazla toplayıcı sistemle kullanılır-yani eş zamanlı olarak farklı izotop oranlarının belirlenmesine olanak verir. İkincisi ise yüksek kalitede eğrilerin alınabilmesidir. Bu iki özellik de hassas şekilde izotop oranlarının belirlenmesi için gereklidir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Simultane izotop analizi yapılan IRMS'teki iyon kaynağı, magnet ve Faraday kafesinin genel dizilimi [8]

IRMS ile ölçülen izotopik zenginleşmesi mil başına (‰) cinsinden uluslararası standartlara karşın delta (δ) gösterimiyle aşağıdaki eşitlikte örnek olarak karbon (C) atomu cinsinden şöyle ifade edilir [23]:

$$\delta^{13}\text{C} [\text{‰}] = \left(\frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \text{ örnek}}{^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \text{ std}} \right) \times 100 \text{ ‰} \quad (3.1)$$

¹⁸O/ ¹⁶O ve D/H izotop oranları için V-SMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water), ¹³C/ ¹²C için PDB (Pee Dee Belemnite), ¹⁵N/ ¹⁴N için atmosferik hava ve ³⁴S/ ³²S için CDT (Canyon Diablo Troilite) birincil uluslararası standartlardır. Tanıma göre bu standartların δ değerleri sıfır olarak kabul edilir.

3.5.1. Karbon

Bitkiler metabolizmalarındaki farklılıktan ötürü üç kategoriye ayrılırlar [11]:

3.5.1.1. Kalvin Döngüsü Metabolizması

Fotosentezdeki karbon tutulumu mekanizmalarından biridir. **C₃ karbon tutulumu mekanizması** olarak da adlandırılır ve bu tür metabolizmaya sahip bitkilere **C₃ bitkileri** denir.

C₃ bitkilerine örnek olarak pirinç, arpa ve şeker pancarı örnek verilebilir ve δ¹³C değerleri -26 ila -30 ‰ arasındadır [8].

3.5.1.2. Hatch-Slack Metabolizması

C₄ karbon tutulumu mekanizması olarak da adlandırılır ve bu tür metabolizmaya sahip bitkilere **C₄ bitkileri** denir. C₄ mekanizmasının işleyişi iki Avustralyalı araştırmacı M. D. Hatch ve C. R. Slack tarafından 1966'da bulunmuştur.

Bu tür bitkilere mısır, şeker kamışı, semiz otu, *Sorghum* ve *Cyperus* örnek olarak gösterilebilir ve $\delta^{13}\text{C}$ değeri -12(-8) ile -14 ‰ arasındadır [8].

3.5.1.3. Krassulasean asit metabolizması

CAM veya **Crassulaceae asit metabolizması bitkileri** ya da CAM fotosentezi, bazı fotosentetik bitkilerde görülen karbon fiksasyonu yoludur.

CAM metabolizması bitkilerine ananas, kaktüs ve vanilya verilebilir ve $\delta^{13}\text{C}$ değeri C₃ ve C₄ metabolizması bitkileri arasındadır [8].

3.5.2. IRMS'in Temel Prensipleri

Yüklü atom ve moleküller bir kütle spektrometresinde kütle'nin yüke oranını (m/z) baz alınarak ayrılırlar. Kütle numarası, bir atom, molekül ya da iyondaki proton ve nötronların toplamıdır. Sonrasında iyonların doğal bollukları bölgesel olarak ayrılan iyon sinyallerinden kaynaklanan akımların ölçülmesiyle belirlenir [8].

BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1. Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasallar, sarf maddeler ve temin edildikleri firma bilgileri Çizelge 4.1'de gösterilmektedir. Tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

4.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Sistemler

Çalışmanın deneysel kısmında kullanılan araç ve gereçler aşağıda verilmiştir:

- SNIF-NMR® Sistemi: Üzerinde 10 mm BBO Prop bulunan Bruker Avance II 400 Mhz NMR Spektrometre cihazı
- HPLC Sistemi: Waters Breeze model HPLC (Waters 600 pompa, Water 717 oto örnekleyici, amino ön kolon, Waters silika bazlı propil amin kolon, kolon fırını, Waters 2414 kırılma indisi detektörü ve Empower 2 Yazılımı)
- IRMS Sistemi: Isoprime 100 MS, Elementar Microcube, Agilent 7890 GC.

Çizelge 4.1. Kullanılan kimyasallar, sarf maddeler ve temin edildikleri firma bilgileri

Temin Edilen Firma	Kimyasal ve Sarf Malzeme Adı	Ürün Kodu
Sigma-Aldrich	D-(+)Glikoz	16325
	D-(-)Fruktoz	15
	Sakkaroz	16104
	Çinko nitrat heksahidrat	96482
	Bakır (II) nitrat trihidrat	61194
	Saccharomyces cerevisiae maya	YSC2
	Asetonitril	34998
	Susuz etanol	34923
Aldrich	Hekzaflorobenzen	326720
Merck	Apura Combitrant 1:5 Composit	188005
	Sodyum tartarat	106664
DIFCO	Azot bazlı amino asit içermeyen bakteri	291940
IRMM	Tetrametil üre (TMU)	STA-003k
	Standart etanol çözeltileri (H, L, M),	BCR 123
	Standart glukoz	BCR 656
	Standart sulu etanol çözeltisi	BCR660

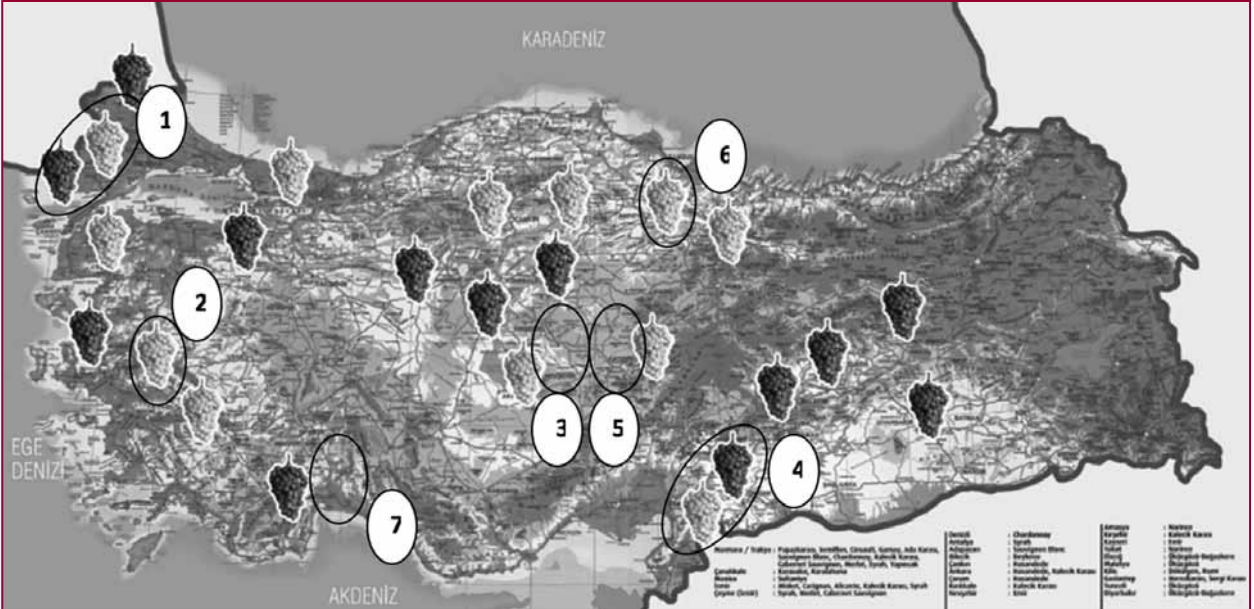
4.3. Deneyel Çalışmada Kullanılan Diğer Yardımcı Aletler

- Ultra saf su cihazı (Human Zeneer UP 900)
- Homojenizatör (Retch Grindomix Gm 200)
- Dijital Refraktometre (Metler Toledo RM40)
- Karl-Fischer Volumetrik Su Tayin Cihazı (Metler Toledo V20)
- pH-Metre (WTW Inolab pH 720)
- Ultrasonic Banyo (Elmasonic S 60)
- Etüv (MMM Medcenter)
- İnkübatör (MEMMERT IPP 400)
- Tepe Üstü Karıştırıcı (IKA EUROSTAR power basic)

4.4. Analiz Edilen Örnekler

4.4.1. Pekmez Numuneleri

Araştırmamızda incelenen pekmez numuneleri Şekil 4.1'deki Türkiye üzüm haritası üzerinde görüleceği üzere Trakya, Ege, İç Anadolu, Karadeniz, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden seçilmiştir. Elde edilen kaynaklar ve detayları Çizelge 4.2'de yer almaktadır.



Şekil 4.1. Türkiye üzüm haritası (Daire içine alınan bölgeler incelenen numunelerin alındığı yerleri göstermektedir) [12].

Çizelge 4.2. İncelenen Pekmez Numuneleri ve Bölgeleri

Numune No	Numune Adı	Üretildiği Üzümün Bölgesi
1	Tekirbağ üzüm Pekmezi	Trakya-Tekirdağ
2	Tariş üzüm pekmezi	Ege-Manisa
3	Karacaşar tatlı kırmızı pekmez	İç Anadolu-Nevşehir
4	Afrin üzüm pekmezi	Güneydoğu Anadolu-Kilis
5	Ev yapımı üzüm pekmezi	İç Anadolu-Kayseri
6	Özkaleli üzüm pekmezi	Orta Karadeniz-Tokat
7	Ev yapımı üzüm pekmezi	Akdeniz-Antalya(Akseki)

4.4.2. Üzüm Numuneleri

Çizelge 4.2'de yer alan birtakım pekmez örneklerinin elde edildikleri üzüm suyu ve kuru üzüm numuneleri incelenmiştir. İncelenen örneklerin bilgileri Çizelge 4.3'tedir.

Çizelge 4.3. İncelenen üzüm suyu, kuru üzüm numuneleri ve üretildikleri bölgeler

Numune No	Numune Adı	Üretildiği Üzümün Bölgesi
1	Tekirbağ % 100 üzüm suyu	Trakya-Tekirdağ
2	Tariş sultaniye kuru üzümü	Ege-Manisa
3	Kırmızı kuru üzüm	İç Anadolu-Nevşehir
4	Çekirdekli urumu (rumi) kuru üzüm	Güneydoğu Anadolu-Kilis
5	Siyah kuru üzüm	İç Anadolu-Kayseri

4.4.3. Pekmez Numunelerine Taşış Adına İlave Edilebileceği Düşünülen Tatlandırıcılar

Pekmez örneklerine dışarıdan sahtecilik adına ilave edilebileceği düşünülerek seçilen sakkaroz ve şeker çözeltilerinin özellikleri Çizelge 4.4'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.4. Pekmeze ilave edilebileceği düşünülen tatlandırıcılar ve özellikleri

Tatlandırıcı Adı	Elde Edildiği Kaynak	Özellikleri
Sakkaroz	Şeker Pancarı	% 100 sakkaroz
Isosugar 041	Mısır Nişastası	% 55 Fruktoz (kuru bazda) içeren fruktoz-glukoz şurubu
Isosugar 551	Mısır Nişastası	% 30 Fruktoz (kuru bazda) içeren fruktoz-glukoz şurubu
Glucoamyl H 361	Mısır Nişastası	DE değeri 50-64 arasında glukoz şurubu

Pancar şekeri yerel marketlerden Isosugar 041, Isosugar 551 ve Glucoamyl H 361 numuneleri Amylum Nişasta San. A.Ş.'den (Tate & Lyle) temin edilmiştir.

4.4.4. Tatlandırıcı İlavesiyle Kirletilen (Tağşiş) Yapılan Örnekler

4 Nolu pekmez numunesi, pancar şekeri, Isosugar 041, Glucoamyl H 361 ticari isimli şeker çözeltileri ile ayrıca 1 nolu pekmez numunesi de pancar şekeri ve Isosugar 551 ile ayrı ayrı % 50 oranında karıştırılmak suretiyle kirletilmiştir.

4.5. Deneysel Çalışmalar

4.5.1. Pekmez ve Üzüm Numunelerinde Şeker (Glikoz, Fruktoz, Sakkaroz) Kompozisyonunun HPLC ile Belirlenmesi

0,1 mg duyarlılıkla 350'şer mg fruktoz ve glikoz tartılıp 50 mL'lik ölçü balonuna aktarılarak 7'şer mg/mL fruktoz ve glikoz içeren stok çözelti ve sonrasında bu çözeltinin 2, 4 ve 8 defa seyreltilmesiyle sırasıyla 3,500, 1,750 ve 0,875 mg/mL fruktoz ve glikoz içeren çalışma çözeltileri hazırlanmıştır.

200, 100 ve 50 µg/mL sakkaroz içeren çalışma çözeltileri ise, 0,1 mg duyarlılıkla 200 mg sakkaroz tartılıp 500 mL'lik ölçü balonuna aktarılarak 400 µg/mL sakkaroz içeren stok çözelti hazırlandıktan sonra bu çözeltinin 2, 4 ve 8 defa seyreltilmesiyle hazırlanmıştır.

10 g pekmez, 20 g üzüm suyu ve öğütülerek homojen hale getirilmiş 10 g kuru üzüm örnekleri tartılmıştır. Sonrasında bu örnekler 80 ml saf su eklenip 20 dak. 70 °C'deki ultrasonik su banyosunda tutulmuş ve süre sonunda banyodan çıkarılarak oda sıcaklığına gelene kadar soğuması beklenmiştir. Oda sıcaklığındaki çözeltilere toplam hacmi 100 ml olacak şekilde saf su ilave edilerek 0,45 µm' lik membran filtreden geçirilip analize hazır hale getirilmiştir [13]. Numunelerin, sakkaroz içeriği doğrudan bu çözelti kullanılarak glikoz ve fruktoz içerikleri hazırlanan bu çözeltinin 10 kat seyreltilmesiyle elde edilen çözeltilerden tespit edilmiş ve miktarlar g/100 g cinsinden belirtilmiştir. Kullanılan metotla ilgili çalışma parametreleri Çizelge 4.5'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.5. Şeker Kompozisyonunun Belirlenmesi Amacıyla Uygulanan Metot ve Çalışma Parametreleri

Uygulanan Metot	AOAC 980.13
Hareketli Faz	% 80 Asetonitril: %20 Su
Akış Hızı	1,0 ml/dak
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Kullanılan önkolon ve kolon	µBondapak NH ₂ ön kolon ve Waters Karbohidrat Analiz Kolonu (Silika Bazlı Propil Amin Kolon)
Kolon Sıcaklığı	30°C
Detektör	Kırılma İndis (RI) Detektör, Waters 2414

4.5.2. İzotopik Fraksiyonlaşma Tespiti İçin Yapılan Analizler

4.5.2.1. SNIF-NMR® Analiz Yöntemi

Şeker (pancar, şeker kamışı ve mısır şurubunda elde edilen sakkaroz ve invert şeker vb. gibi) içeren maddelerin fermente edilmeleri sonucu oluşan etanol, üründe bulunan ve/veya sonradan başka bir kaynaktan ilave edilen şekerin farkedilmesinde kullanılabilir. Şekerin içindeki döteryum ve meyve suyu içindeki su fermentasyon sonrası I ($\text{CH}_2\text{DCH}_2\text{OH}$), II (CH_3CHDOH), III ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OD}$) ve IV (HOD) şeklinde yeniden düzenlenecektir. $(\text{D}/\text{H})_I$ izotopları oranı I nolu molekölü resmeder ve ilave şekerin tespitinde kullanılır. $(\text{D}/\text{H})_I$ oranı bitki türüne özgüdür.

OIV-MA-AS311-05 [16] analiz yöntemi uygulanmış ve NMR ile analiz öncesi yapılan işlemler aşağıda maddeler halinde sunulmuştur:

Numunelerin Şeker İçeriklerinin Tespit Edilmesi

Madde 4.5.1'de belirtilen analiz yöntemi kullanılmıştır.

Numunelerdeki Çözünür Madde Miktarının (Briks) % 12'ye Ayarlanması

Pekmez ve üzüm suyu numunelerinin ilk briks değerleri 20°C 'de tespit edilmiş [14] sonrasında 0,6 L briks değeri 12 olacak şekilde saf su ilave edilmiştir.

Öğütülerek homojen hale getirilmiş yaklaşık 110 g kuru üzüm örnekleri üzerine 600 mL saf su ilave edilerek 70°C 'ye ayarlanmış manyetik ısıtıcıda 30 dak bekletilmiş, sonrasında hafif vakum altında adi süzgeç kağıdıyla süzülerek elde edilen berrak çözelti gerektiğinde son briks değeri 12 olacak şekilde saf su ilavesiyle hazırlanmıştır.

Numunelerin Fermentasyonu

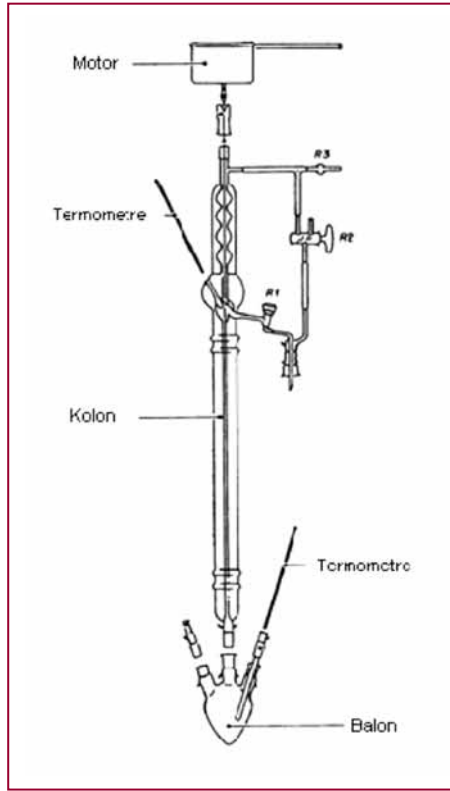
0,6 L briks değeri 12 olan yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan şeker çözeltileri 1 L'lik geniş boyunlu bir erlene alınarak üzerlerine 1,0 g "Saccharomyces cerevisiae" kuru maya ve 3,0 g azot bazlı, amino asit içermeyen bakteri mayası ilave edilmiştir. Elde edilecek alkolün buharlaşmasını önlemek için erlenlerin ağızları kapatılmış ancak ortamda oluşacak karbondioksit gazının rahat bir şekilde uzaklaşması içinde kapak üzerine küçük delikler açılarak, 20°C 'de inkübasyona bırakılmıştır.

Fermentasyon Kontrolü İçin Numunenin Şeker İçeriğinin Takibi Ve Fermentasyonun Sonlandırılması

Fermente edilen üründen, ilk 12 saat 3 saatte bir, sonrasında 6 saatte bir örnekler alınarak Madde 4.5.1'de belirtilen analiz yöntemi kullanılarak şekerlerin etil alkole dönüşümü takip edilmiştir. 3. günün sonunda tespit edilebilir düzeyde şeker bulunmadığından fermentasyon işlemi sonlandırılmıştır.

Numunenin Fermentasyonu Sonunda Elde Edilen Alkolün Destilasyonu

Fermentasyon sonucu elde edilen etil alkolün destilleme işlemi yaklaşık 1 m uzunluğunda dar bir cam boru içinden geçen spiral teflon bir çubuğun bir motor yardımıyla 2000 devir/dk. hızla dönmesi sonucu elde edilen **Cadiot kolon** ile yapılmıştır (Şekil 4.4). Etanol-su karışımının ayrılabilmesi için $78,0$ ile $78,2^\circ\text{C}$ arasındaki sıvı toplanmalı, sıcaklık $78,5^\circ\text{C}$ 'yi aşdığı anda destilat musluğu kapatılarak sıcaklık tekrar $78,0$ düştüğünde sıvı toplamaya devam edilmelidir. Bu hassasiyeti elde edebilmek amacıyla, destilat musluğu olarak tamamen elektronik bir termostat kontrolü eklenmiştir.



Şekil 4.4. Cadiot Destilasyon Düzeneği

Destillenen Alkolün Derişiminin Belirlenmesi

Destilleme sonucu elde edilen üründen 0,25 ml alınarak su içeriği Karl Fisher (KF) yöntemiyle % H₂O cinsinden tespit edilmiştir.

Elde edilen Alkolün NMR Analizi İçin Hazırlanması

Elde edilen alkol numunesi 10 mm'lik NMR tüpüne Çizelge 4.6'da belirtilen miktarlar 0,1 mg duyarlılıkla tartıldı.

Çizelge 4.6. NMR tüpüne eklenen madde ve miktarları

Madde Cinsi	Miktar
Etanol Numunesi	3,2 ml
Tetrametil üre (TMU) (İç Standart)	1,3 ml
Hekzaflorobenzen (C ₆ F ₆) (Lock çözücüsü)	150 µL

(D/H)_I, (D/H)_{II}, R parametreleri eşitlik 4.1, 4.2 ve 4.3 verilen denklemler yardımıyla hesaplanır.

$$(D/H)_I = 1,5866 \times T_1 \times \frac{m_{st}}{m_A} \times \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D} \quad (4.1)$$

$$(D/H)_{II} = 2,3799 \times T_1 \times \frac{m_{st}}{m_A} \times \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D} \quad (4.2)$$

$$R = 2(D/H)_{II} / (D/H)_I \quad (4.3)$$

Denklemlerde $(D/H)_I$ I (CH_2DCH_2OH) nolu molekülün izotop oranını, $(D/H)_{II}$ II (CH_3CHDOH) nolu molekülün izotopik oranını, m_{st} iç standart olarak kullanılan TMU'nun ağırlığını, m_A etanol örneğinin ağırlığını, t_m^D etil alkol örneğinin derişimi $(D/H)_{st}$ IRMM'den temin edilen TMU'nun izotop oranını göstermektedir. Göreceli parametre, R ise I ve II moleküllerinin NMR spektrumunda elde edilen pik yüksekliklerinin oranı şeklinde tanımlanır.

NMR Spektrumunun Değerlendirilmesi

NMR cihazının çalıştığı bilgisayardan doğrudan ham verileri alarak başka bir bilgisayarda yüklü SNIF-NMR sisteminin bir parçası olan Eurospec 4.0 yazılımı ile NMR pikleri Lorentzian matematiksel modeli kullanılarak hem eğriler düzeltilmiş hem de hesaplanmıştır. Bu yazılıma aynı zamanda Çizelge 4.6'da belirtilen maddelerin kütleleri ve KF cihazında tespit edilen su içeriği girilerek, yazılımdan otomatik olarak 10 tekrarın sonucu ve her bir parametrenin standart sapma değerleri de elde edilmiştir.

4.5.2.2. IR-MS ile Yapılan Çalışmalar

Pekmez, üzüm ve tatlandırıcı numunelerinin fermantasyonu sonucu elde edilen ve destillenerek saflaştırılan etanolün $\delta^{13}C$ değerleri (GC-C)-IRMS kullanılarak tespit edilmiştir [15].

Etanol örneği saf su ile 10 kat seyreltilerek doğrudan GC örnekleme kabına alındı. Kullanılan metotla ilgili GC çalışma parametreleri Çizelge 4.7'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.7. IRMS'e bağlı GC'nin çalışma parametreleri

Çözelti Hacmi	0,3 µL
Enjektör sıcaklığı	200°C
Detektör sıcaklığı	220°C
Kapiler kolon	DB-5 ((%5-Fenil)-metilpolisioksan) (30 m x 0,32 mm, 0,25 µm)
Kolon Sıcaklık Programlaması	100°C 5 dak. bekle 20°C/min 180°C'ye kadar ısıt 180°C'de 2 dak. bekle

Öncelikle numune kolon çıkışı IRMS'e verilmeksizin sadece FID'de analiz edilmiştir. Sonrasında elde edilen kromatograma göre "açık ayırma" arayüzündeki valf 5 sn. süreyle açılarak etanolün tamamının sadece IRMS'e gitmesi sağlanmış ve tekrar valf kapanacak şekilde programlanmıştır.

IR-MS ile Yapılan Ölçümlerin Değerlendirilmesi

IRMS ile elde edilen sonuçlar $\delta\%$ cinsinden uluslararası V.PDB standardına göre Eşitlik 4.4'de göre ifade edilir:

$$\delta^{13}\text{C} [\text{‰}] = (R_{\text{ürün}} / R_{\text{standart}} - 1) \times 1000, \text{ eşitlikte } R = {}^{13}\text{C} / {}^{12}\text{C} \quad (4.2)$$

4.5.2.3. Numunelerin Fermentasyonu Sonucu Elde Edilen Etanol Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Her bir etanol örneğinin analizi metotta belirtildiği gibi SNIF-NMR® için 10, (GC-C)-IRMS için 3 defa tekrarlanmıştır.

Çalışmada incelenen pekmez, üzüm ve pekmeze taşış yapmak suretiyle ilave edilebileceği düşünülen tatlandırıcılardan elde edilen etanolde SNIF-NMR® ile belirlenen $(\text{D}/\text{H})_I$, $(\text{D}/\text{H})_{II}$, R ve (GC-C)-IRMS ile belirlenen $\delta^{13}\text{C}$ değerleri sırasıyla, Çizelge 5.3, 5.4 ve 5.5'de gösterilmektedir.

Bölüm 4.4.1 ve 4.4.1'de özellikleri belirtilen kuru üzüm, üzüm suyu ile bu üzüm ve üzüm suyundan elde edilen aynı bölgeye ait pekmez numunelerinin fermentasyonu sonucu elde edilen sonuçlar Çizelge 5.7'de verilmiştir.

Ayrıca Bölüm 4.4.4'de belirtildiği şekliyle kirletilen (taşış yapılan) pekmez örneklerinden elde edilen etanolün analiz sonuçları da Çizelge 5.5'de verilmektedir.

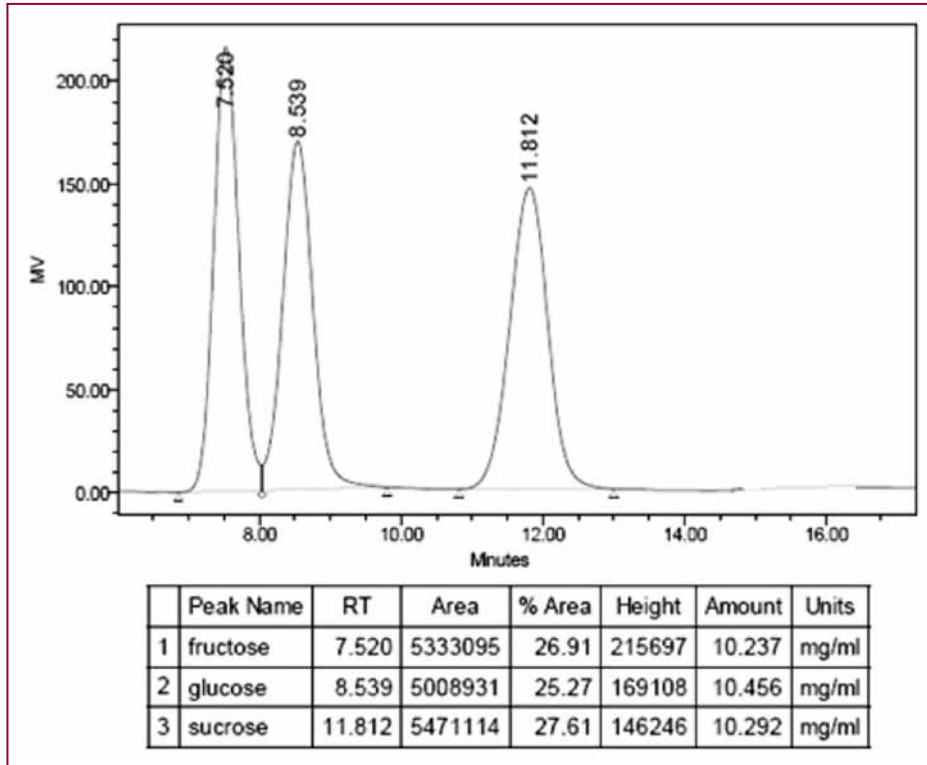
SNIF-NMR® ile belirlenen $(\text{D}/\text{H})_I$, ve (GC-C)-IRMS ile belirlenen $\delta^{13}\text{C}$ değerlerinin birlikte değerlendirilmesi sonuçları Bölüm 5.2.3'te belirtilmiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1. Pekmez ve Üzüm Numunelerinde Belirlenen Şeker (Glukoz, Fruktoz, Sakkaroz) Değerleri

Standart fruktoz, glikoz ve sakkaroz çözeltilerinin, Çizelge 4.5'de görülen çalışma şartları altında enjekte edilmesi ile alınan kromatogram Şekil 5.1'de gösterilmektedir.



Şekil 5.1. Standart şeker çözeltilerinin kromatogramı

5.1.1. Pekmez Numunelerinin Sonuçları

Çalışmada incelenen pekmez örneklerinde belirlenen, glukoz, fruktoz, sakkaroz ve fruktoz/glukoz değerleri Çizelge 5.1'de verilmiştir. Her bir numune 5'er defa enjekte edilmiş ve sapma değerleri % 95 güven düzeyinde verilmiştir.

Çizelge 5.1. Pekmez örneklerinde belirlenen glukoz, fruktoz, sakkaroz ve fruktoz/glukoz değerleri

Numune No	Fruktoz (g/ 100 g)	Glukoz (g/ 100 g)	Sakkaroz (g/ 100 g)	Fruktoz/Glikoz
1	26,565± 0,290	33,685 ± 0,572	0,00854± 0,00013	0,789
2	31,812 ± 0,110	32,621 ± 0,218	0,03684 ± 0,00053	0,975
3	32,392± 0,124	31,511± 0,145	0,21997± 0,01267	1,028
4	29,782 ± 0,091	35,005 ± 0,279	0,07100 ± 0,00050	0,856
5	32,924 ± 0,221	37,850 ± 0,360	0,77618 ± 0,00867	0,870
6	29,727 ± 0,045	30,889 ± 0,372	0,07759 ± 0,00958	0,962
7	31,485 ± 0,053	32,071 ± 0,297	0,16972 ± 0,00781	0,982

5.1.2. Üzüm Numunelerinin Sonuçları

Çalışmada incelenen üzüm örneklerinde belirlenen, glukoz, fruktoz, sakkaroz ve fruktoz/glukoz değerleri Çizelge 5.2'de verilmiştir. Her bir numune 5'er defa enjekte edilmiş ve sapma değerleri % 95 güven düzeyinde verilmiştir.

Çizelge 5.2. Üzüm örneklerinde belirlenen glukoz, fruktoz, sakkaroz ve fruktoz/glukoz değerleri

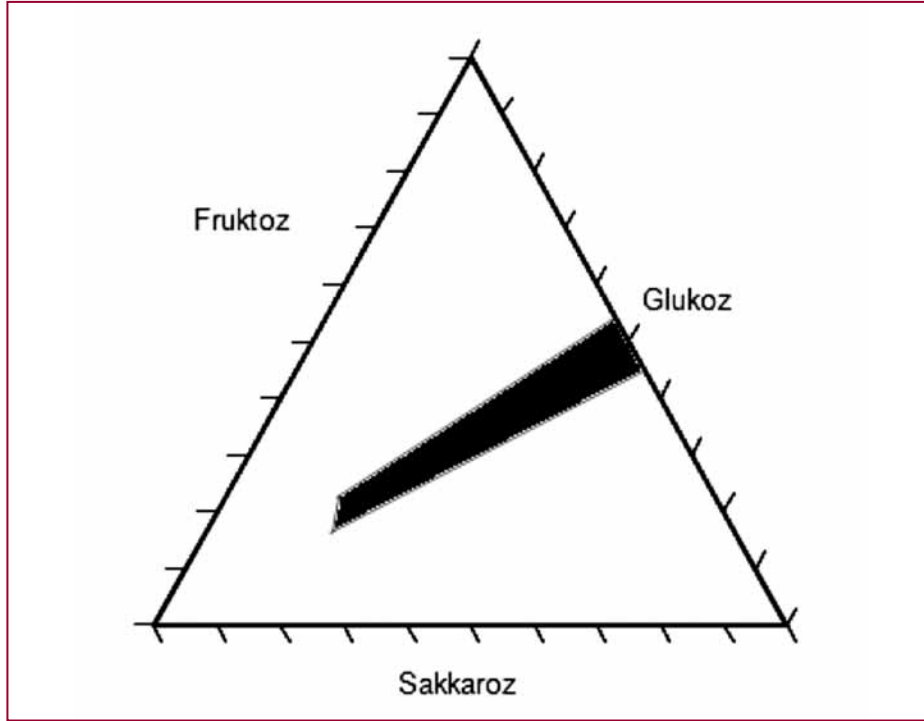
Numune No	Fruktoz (g/ 100 g)	Glukoz (g/ 100 g)	Sakkaroz (g/ 100 g)	Fruktoz/Glikoz
1	30,984 ± 0,222	36,348 ± 0,262	0,03220 ± 0,00028	0,852
2	34,473 ± 0,135	38,647 ± 0,401	0,05223 ± 0,00059	0,892
3	33,464 ± 0,072	33,829 ± 0,072	0,39569 ± 0,00602	0,989
4	34,740 ± 0,153	40,082 ± 0,294	0,03423 ± 0,00027	0,867
5	34,387 ± 0,176	39,122 ± 0,142	0,03849 ± 0,00040	0,879

5.1.3. Belirlenen Şeker (Glukoz, Fruktoz, Sakkaroz) Miktarlarının Üçgen Diyagramı Yardımıyla Değerlendirilmesi

Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi Tebliği'nde [20] sıvı üzüm pekmezinde bulunması gereken fruktoz/glukoz oranı 0,9-1,1 aralığında ve sakkaroz miktarının en fazla % 1 olması gerektiği belirtilmiştir. Bu yaklaşım baz alınarak fruktoz, glukoz ve sakkaroz değerleri Şekil 5.2'de görüldüğü gibi bir üçgen diyagrama geçirilmek üzere grafiğe dönüştürülmüştür. Bu diyagrama veriler şu şekilde geçirilmiştir:

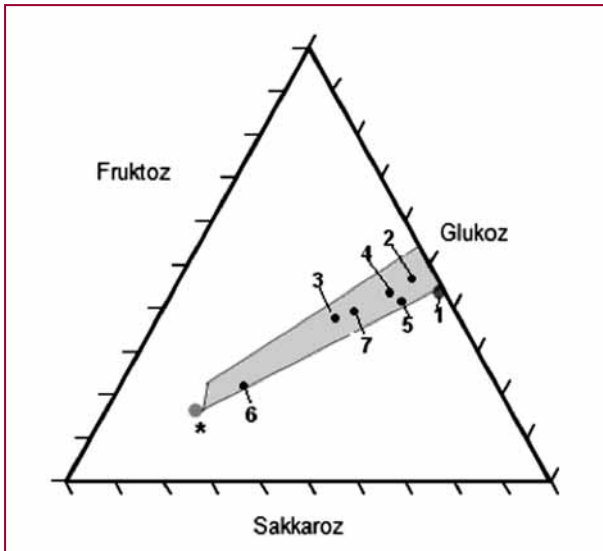
- Numunelerin sakkaroz içerikleri fruktoz ve glikoza oranla çok az olduğundan, sakkaroz değeri 100 ile çarpıldı.
- 100 ile çarpılan sakkaroz, fruktoz ve glikoz değerlerinin toplamı 100 kabul edilerek herbirinin % cinsinden miktarı hesaplandı ve üçgen diyagrama veri olarak girildi.

Bu şekilde yapılan hesaplamalardan elde edilen veriler diyagramda yerleştirildiğinde Şekil 5.2'de görülen taralı bölge fruktoz/glukoz oranı 0,9-1,1 aralığında ve sakkaroz miktarının en fazla % 1,0 olduğu alanı göstermektedir.

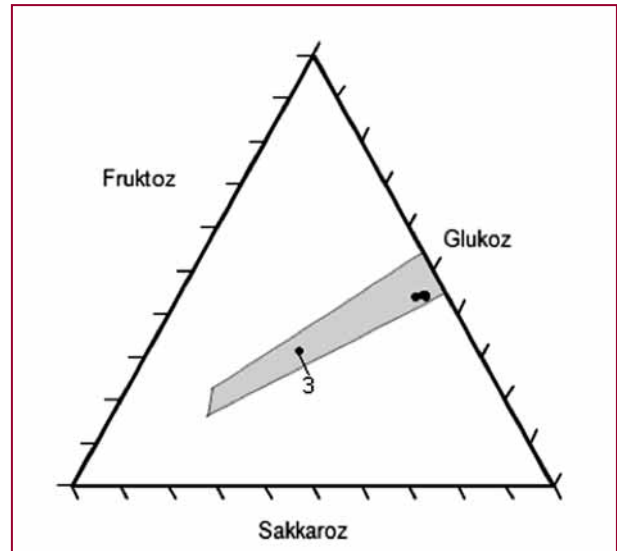


Şekil 5.2. Üçgen diyagramında fruktoz/glukoz oranı 0,9-1,1 aralığında ve sakkaroz miktarının en fazla % 1,5 olduğu alan

Çizelge 5.1'deki pekmez örneklerine ait veriler diyagrama geçirilmiş ve Şekil 5.3'de görüldüğü üzere numaralandırılmıştır.



Şekil 5.3. Pekmez analiz sonuçlarının ve sakkaroz ilavesiyle kirlenilen numuneden elde edilen verilerin üçgen diyagramında yerleşimi



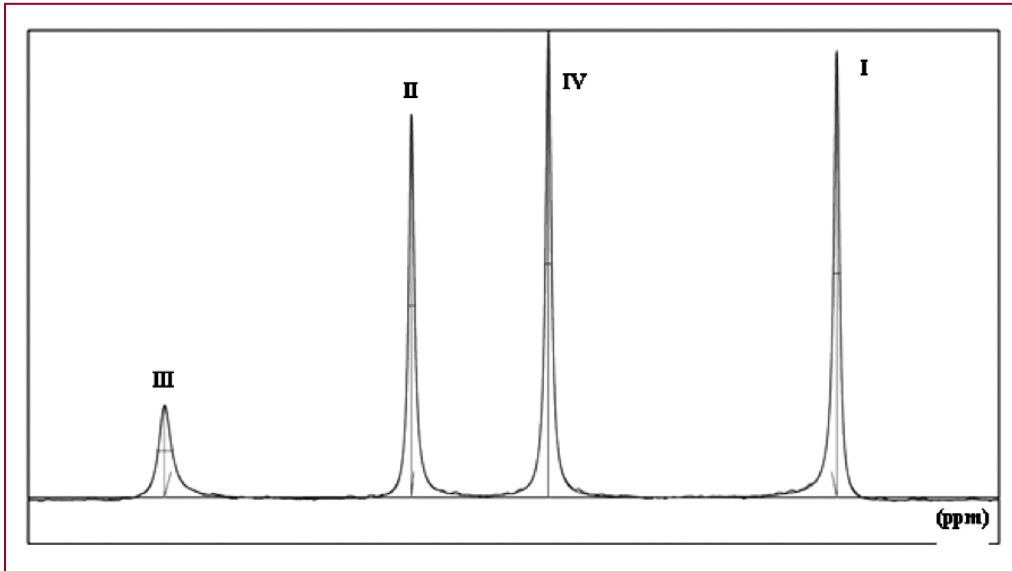
Şekil 5.4. Üzüm analiz sonuçlarının üçgen diyagramında yerleşimi

Çizelge 5.1'deki sonuçlardan görüldüğü gibi 1 nolu numunenin fruktoz/glukoz oranı 0,789 olarak tespit edilmiş ve Şekil 5.3'teki diyagramda taralı bölgenin dışında yer almıştır. Numunelerin tamamında sakkaroz oranı % 1'in altında tespit edilmiş olup * işaretli nokta 6 nolu örneğe toplam sakkaroz içeriği % 1,6 olacak şekilde sakkaroz ilavesiyle kirletilen numuneyi göstermektedir. Şekil 5.3'te görüldüğü üzere bu nokta taralı bölgenin dışında kalmaktadır.

Çizelge 5.2'deki üzüm örneklerine ait veriler Şekil 5.4'teki diyagrama geçirilmiş ve tamamı taralı bölgenin içinde yer almıştır. Sadece 3 nolu ürünlerdeki sakkaroz oranı $0,39569 \pm 0,00602$ g/100 g olarak tespit edilmiş ve Şekil 5.4'teki diyagramda görüleceği üzere diğerlerinden farklı bir bölgede yer almıştır.

5.2. Pekmez ve Üzüm Numunelerinde İzotopik Fraksiyonlaşma Tespiti İçin Yapılan Analiz Sonuçları

Çizelge 4.6'da belirtilen miktarlarda en az hacimce % 96'lık etanol, TMU ve C₆F₆ içeren 10 mm'lik NMR tüpündeki karışımların uygun lock ve shimming işlemleri yapıldığında elde edilen ²H-NMR spektrumu Şekil 5.5'de gösterilmektedir.



Şekil 5.5. Doğal etanolün tipik bir ²H-NMR spektrumu; standart numuneye ait I, II, III ve IV numaralı sinyallerin ilgili oldukları moleküller sırasıyla şöyledir: CH₂DCH₂OH, CH₃CHDOH, CH₃CH₂OD, ve Tetrametilüre (TMU).

5.2.1. IR-MS ile Yapılan Ölçümlerin Değerlendirilmesi ve Kontrolü

Elde edilen sonuçlar Eşitlik 4.4 yardımıyla hesaplanır ve otomatik olarak cihaz tarafından yapılmaktadır.

Ayrıca analize başlamadan önce ve analiz sonunda IRMM'den temin edilen ve $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = 26.72$ değerine sahip standart etanol (BCR-660) numunesi cihaza 3'er kez enjekte edilerek cihazın kalibrasyonu yapılmıştır.

5.2.2. Numunelerin Fermentasyonu Sonucu Elde Edilen Etanol Üzerinde Yapılan Çalışmaların Sonuçları

Bölüm 3.5.2.1'de maddeler halinde belirtilen yöntemlerle pekmez, üzüm ve diğer şeker örneklerinden elde edilen etanol, NMR ve (GC-C)-IRMS ile analize tabi tutulmuş elde edilen analiz sonuçları aşağıda belirtilmiştir:

5.2.2.1. Pekmez Numunelerinin Sonuçları

Çalışmada incelenen pekmez örneklerinden elde edilen etanolde SNIF-NMR® ile belirlenen (D/H)_I, (D/H)_{II}, R ve (GC-C)-IRMS ile belirlenen $\delta^{13}\text{C}$ değerleri Çizelge 5.3'de verilmiştir. Her bir numune analizi metotta belirtildiği gibi SNIF-NMR® için 10 ve (GC-C)-IRMS için 3 defa tekrarlanmıştır.

Çizelge 5.3. Pekmez örneklerinden elde edilen etanolde tespit edilen (D/H)_I, (D/H)_{II}, R ve $\delta^{13}\text{C}$ değerleri

Numune No	(D/H) _I (ppm)	(D/H) _{II} (ppm)	R	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
1	98,58 ± 0,32	120,59 ± 0,44	2,446± 0,010	-26,62 ± 0,05
2	104,51 ± 0,58	122,87 ± 0,47	2,351 ± 0,011	-25,98 ± 0,03
3	100,75 ± 0,28	121,60 ± 0,42	2,414 ± 0,012	-24,61 ± 0,08
4	105,89 ± 0,33	125,22 ± 0,50	2,365 ± 0,014	-26,18 ± 0,12
5	101,42 ± 0,29	124,62± 0,56	2,458 ± 0,011	-25,50 ± 0,12
6	103,35 ± 0,37	122,81 ± 0,44	2,377 ± 0,010	-25,62 ± 0,16
7	104,42±0,44	122,21 ± 0,46	2,341 ± 0,014	-27,03 ± 0,13

5.2.2.2. Pekmeze İlave Edilebilecek Tatlandırıcıların Analiz Sonuçları

Bölüm 3.4.3'te özellikleri belirtilen sakkaroz ve şeker çözeltilerinin fermentasyonu sonucu elde edilen etanolde SNIF-NMR® ile belirlenen (D/H)_I, (D/H)_{II}, R ve (GC-C)-IRMS ile belirlenen $\delta^{13}\text{C}$ değerleri Çizelge 5.4'te verilmiştir.

Çizelge 5.4. Pekmeze ilave edilebileceği düşünülen tatlandırıcılardan elde edilen etanolde tespit edilen (D/H)_I, (D/H)_{II}, R ve $\delta^{13}\text{C}$ değerleri

Numune No	Numune Cinsi (ppm)	(D/H) _I (ppm)	(D/H) _{II}	R	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
1	Pancar Şekeri	89,56 ± 0,50	124,78 ± 0,51	2,786± 0,009	-27,26±0,16
2	Isosugar 551	108,15± 0,29	127,38 ± 0,53	2,356 ± 0,010	-9,36± 0,09
3	Isosugar 041	112,19 ± 0,29	124,20 ± 0,40	2,214 ± 0,008	-8,96 ± 0,19
4	Glucoamyl H 361	109,49± 0,50	125,47 ± 0,40	2,292 ± 0,009	-10,26± 0,09

5.2.2.3. Tatlandırıcılarla Karıştırılarak Tağış Edilen Pekmez Numunelerinin Analiz Sonuçları

1 ve 4 Nolu Pekmez numuneleri, Bölüm 3.4.4'te belirtildiği üzere % 50 oranında karıştırılarak kirletilen numunelerin fermentasyonundan kazanılan etanolde SNIF-NMR® ile belirlenen (D/H)_I, (D/H)_{II}, R ve (GC-C)-IRMS ile belirlenen $\delta^{13}\text{C}$ değerleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 5.5'de verilmiştir.

Çizelge 5.5. 1 ve 4 nolu pekmezlerin % 50 oranında tatlandırıcılarla karıştırılması sonucu elde edilen etanolde tespit edilen (D/H)_I, (D/H)_{II}, R ve $\delta^{13}\text{C}$ değerlerinin karşılaştırılması

4 Nolu Pekmez ve Pancar Şekeri Karışımının Değerleri				
Numune Cinsi	(D/H) _I (ppm)	(D/H) _{II} (ppm)	R	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Pekmez	105,89 ± 0,33	125,22 ± 0,50	2,365 ± 0,014	-26,18 ± 0,12
Pancar Şekeri	89,56 ± 0,50	124,78 ± 0,51	2,786± 0,009	-27,26 ± 0,16
Karışım 1	100,36 ± 0,33	119,21 ± 0,26	2,376 ± 0,007	-26,60 ± 0,08
4 Nolu Pekmez ve Isosugar 041 Karışımının Değerleri				
Numune Cinsi	(D/H) _I (ppm)	(D/H) _{II} (ppm)	R	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Pekmez	105,89 ± 0,33	125,22 ± 0,50	2,365 ± 0,014	-26,18 ± 0,12
Isosugar 041	112,19 ± 0,29	124,20 ± 0,40	2,214 ± 0,008	-8,96 ± 0,19
Karışım 2	110,60 ± 0,30	124,04 ± 0,57	2,243 ± 0,011	-15,90 ± 0,09
4 Nolu Pekmez ve Glucoamyl H 361 Karışımının Değerleri				
Numune Cinsi	(D/H) _I (ppm)	(D/H) _{II} (ppm)	R	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Pekmez	105,89 ± 0,33	125,22 ± 0,50	2,365 ± 0,014	-26,18 ± 0,12
Glucoamyl H 361	109,49± 0,50	125,47 ± 0,40	2,292 ± 0,009	-10,26± 0,09
Karışım 3	108,75 ± 0,38	122,97 ± 0,32	2,262 ± 0,008	-18,42 ± 0,10
1 Nolu Pekmez ve Isosugar 551 Karışımının Değerleri				
Numune Cinsi	(D/H) _I (ppm)	(D/H) _{II} (ppm)	R	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Pekmez	98,58 ± 0,32	120,59 ± 0,44	2,446± 0,010	-26,62 ± 0,05
Isosugar 551	108,15± 0,29	127,38 ± 0,53	2,356 ± 0,010	-9,36± 0,09
Karışım 4	103,10 ± 0,31	125,47 ± 0,40	2,434 ± 0,011	-20,61± 0,11
1 Nolu Pekmez ve Pancar Şekeri Karışımının Değerleri				
Numune Cinsi	(D/H) _I (ppm)	(D/H) _{II} (ppm)	R	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Pekmez	98,58 ± 0,32	120,59 ± 0,44	2,446± 0,010	-26,62 ± 0,05
Pancar Şekeri	89,56 ± 0,50	124,78 ± 0,51	2,786± 0,009	-27,26 ± 0,16
Karışım 5	96,64± 0,35	121,63 ± 0,45	2,517± 0,013	-26,92± 0,09

Üzüm botanik köken olarak C₃ bitkilerinden (Kalvin-Benson Metabolizması), pekmez örneklerine ilave edilerek kirletilen tatlandırıcılardan, pancar şekeri de C₃ bitkilerinden iken, isosugar 041, glucoamyl H 361, isosugar 551 tatlandırıcıları ise mısırdan elde edilmiş olup C₄ bitkilerindedir (Hatch-Slack Metabolizması) [11].

İlave edilen tatlandırıcıların $\delta^{13}\text{C}$ değerleri; pancar şekeri için $-26,62 \pm 0,05$ ve isosugar 041, glucoamyl H 361, isosugar 551 için sırasıyla $-8,96 \pm 0,19$, $-10,26 \pm 0,09$, $-9,36 \pm 0,09$ tespit edilmiştir. Pekmez örneklerinde ise bu değerler 1 nolu pekmez için $-26,62 \pm 0,05$ ve 4 nolu pekmez için $-26,18 \pm 0,12$ 'dir.

Pancar şekeri ilavesi ile kirletilen 4 nolu pekmez numunesi haricinde diğer tağış yapılan 3 örneğin $\delta^{13}\text{C}$ değerleri saf pekmez numunelerinden oldukça farklı bulunmuştur.

Diğer taraftan SNIF-NMR analizi sonucu tespit edilen ve etanolun metil bölgesinin izotop oranını veren $(\text{D}/\text{H})_I$ değeri bitki türüne özgüdür [16] .

İlave edilen tatlandırıcıların $(\text{D}/\text{H})_I$ değerleri; pancar şekeri için $89,56 \pm 0,50$ ve isosugar 041, glucoamyl H 361, isosugar 551 için sırasıyla $112,19 \pm 0,29$, $109,49 \pm 0,50$, $108,15 \pm 0,29$ tespit edilmiştir. Pekmez örneklerinde ise bu değerler 1 nolu pekmez için $98,58 \pm 0,32$ ve 4 nolu pekmez için $105,89 \pm 0,33$ 'dür.

Tağış yapılan tüm örneklerin $(\text{D}/\text{H})_I$ değerleri saf pekmez numunelerinden oldukça farklı bulunmuştur.

Üzüm ve pancar şekeri C_3 bitkilerinden olduklarından üzüme ilave edilen şeker pancarı saf pekmezin $\delta^{13}\text{C}$ değerini kayda değer bir biçimde etkilememektedir. Aslında numuneye ilave edilen şeker pancarı Bölüm 4.1'de belirtilen kromatografik analiz sonucu kolaylıkla tespit edilebilir. Ancak, pancar şekeri üzüm şirasına ilave edilmeden veya ilave edildikten sonra invert edilerek fruktoz ve glukozu dönüştürüldü ve fruktoz/glikoz oranı Bölüm 4.1.3'te belirtildiği 0,9-1,1 arasında ayarlandı ise bu ilaveyi kromatografik olarak tespit etmek mümkün değildir. Bu aşamada SNIF-NMR analizi önem kazanır. Şöyle ki literatürde pancar şekerinin $(\text{D}/\text{H})_I$ değeri **89-93** ppm arasında verilmektedir (tespit edilen değer 89,56) [12]. Bu değer üzümün $(\text{D}/\text{H})_I$ değerinden oldukça farklıdır ve SNIF-NMR verileri kullanılarak bu tağış tespit edilmiştir. Saf pekmezin kirletilmeden önceki değeri **105,89 \pm 0,33** iken, karıştırıldıktan sonra oldukça farklı bir değer olan **100,36 \pm 0,33** kaymıştır.

Ayrıca metil ve metilen bölgesinin izotop oranlarıyla ilişkili olan **R** değerleri de bu farklılığı ortaya koymaktadır. Şöyle ki; saf pekmez örneklerinin **R** değerine göre pancar şekeri ilavesiyle **R** artmakta, diğer tatlandırıcıların ilavesiyle ise **R** azalmaktadır.

5.2.2.4. Üzüm Numunelerinin Sonuçları

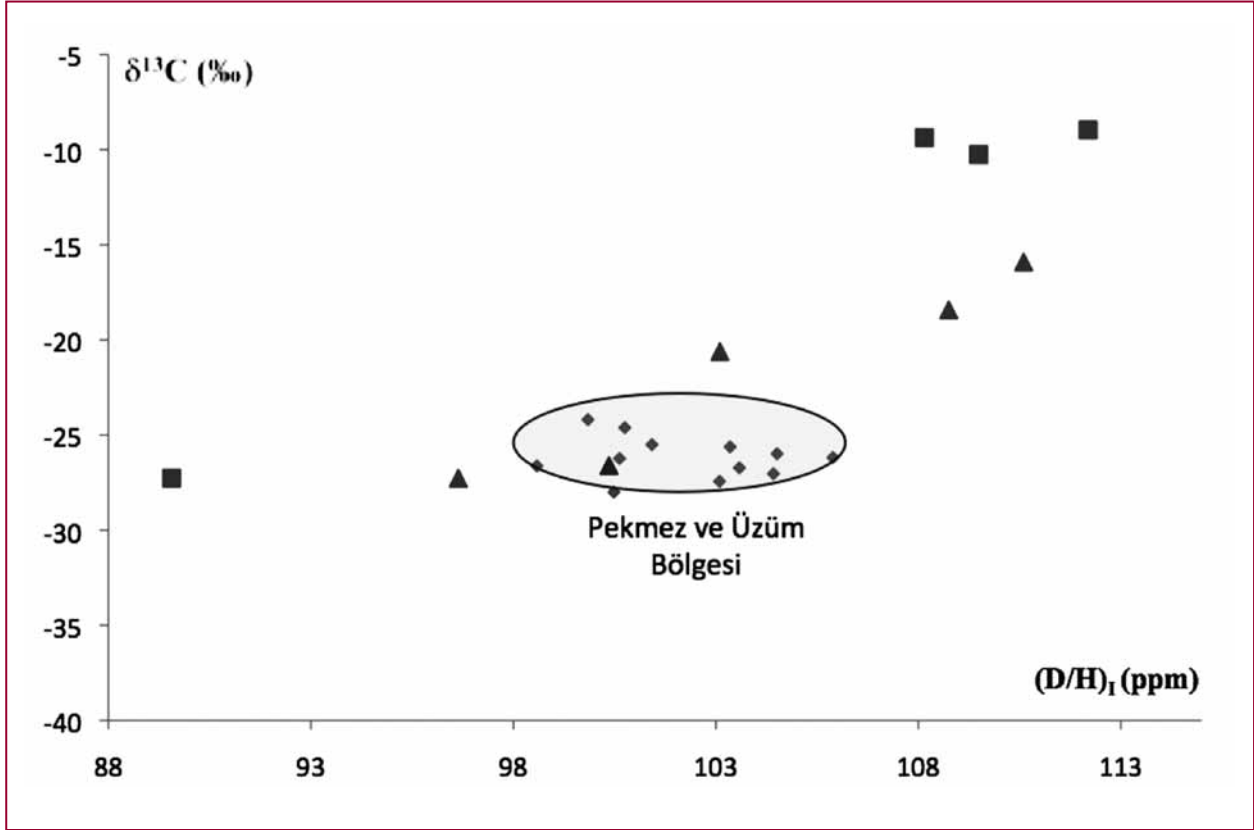
Çalışmada incelenen üzüm örneklerinden elde edilen etanolde SNIF-NMR® ile belirlenen $(\text{D}/\text{H})_I$, $(\text{D}/\text{H})_{II}$, **R** ve (GC-C)-IRMS ile belirlenen $\delta^{13}\text{C}$ değerleri Çizelge 5.6'da verilmiştir.

Çizelge 5.6. Üzüm örneklerinden elde edilen etanolde tespit edilen $(\text{D}/\text{H})_I$, $(\text{D}/\text{H})_{II}$, **R** ve $\delta^{13}\text{C}$ değerleri

Numune No	$(\text{D}/\text{H})_I$ (ppm)	$(\text{D}/\text{H})_{II}$ (ppm)	R	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
1	$100,48 \pm 0,44$	$123,03 \pm 0,58$	$2,449 \pm 0,015$	$-28,00 \pm 0,08$
2	$103,58 \pm 0,18$	$119,91 \pm 0,32$	$2,315 \pm 0,007$	$-26,72 \pm 0,03$
3	$99,84 \pm 0,28$	$120,51 \pm 0,42$	$2,414 \pm 0,008$	$-24,19 \pm 0,15$
4	$103,09 \pm 0,46$	$122,18 \pm 0,24$	$2,370 \pm 0,012$	$-27,43 \pm 0,11$
5	$100,62 \pm 0,27$	$122,87 \pm 0,65$	$2,442 \pm 0,013$	$-26,23 \pm 0,07$

5.2.3. SNIF-NMR® ve IR-MS Analiz Sonuçlarının Birlikte Değerlendirilmesi

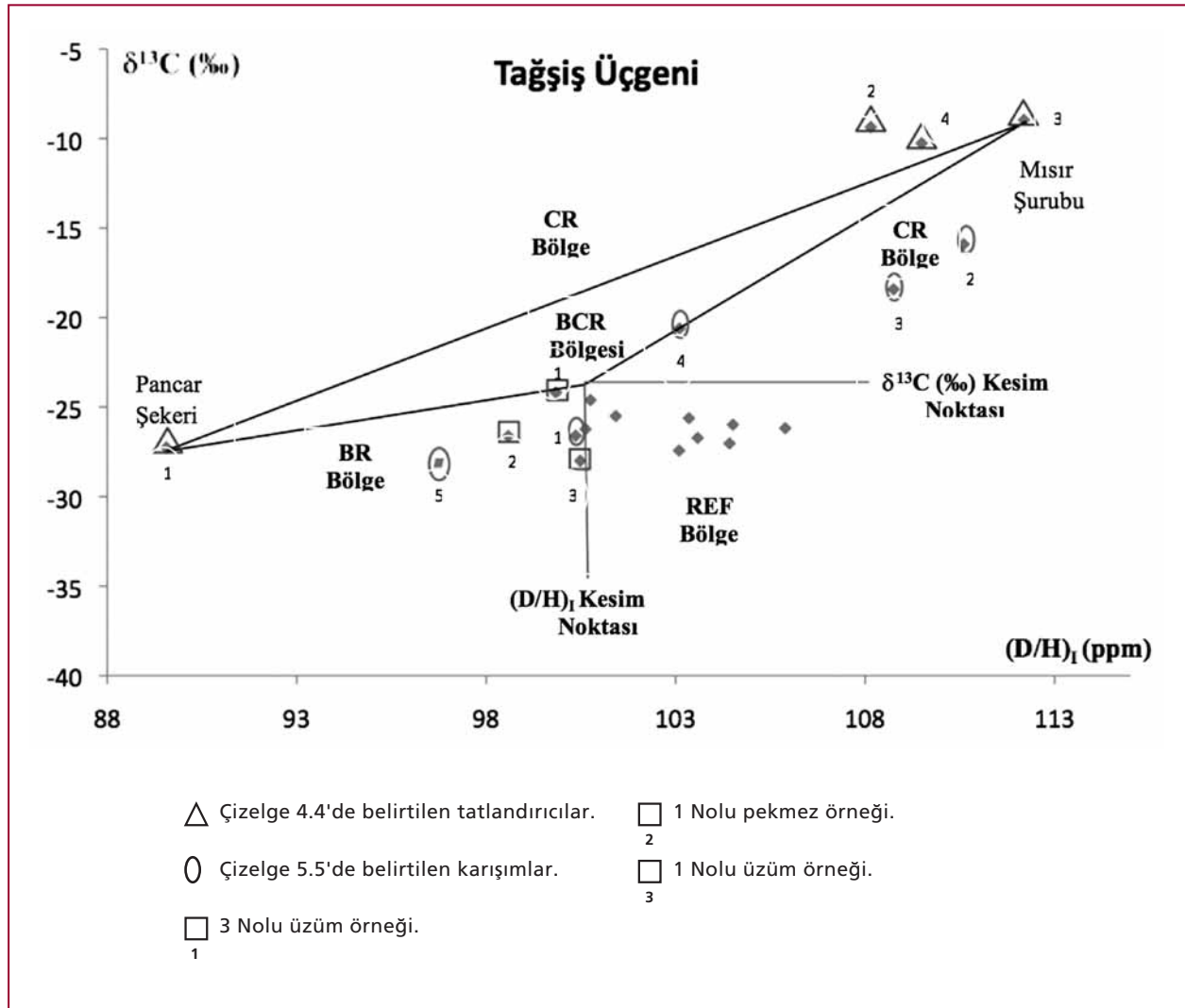
İncelenen üzüm, pekmez, tatlandırıcı ve tatlandırıcılarla kirletilmiş pekmez örneklerinden elde edilen etanolde SNIF-NMR® ile belirlenen $(D/H)_I$, $(D/H)_{II}$, R ve (GC-C)-IRMS ile belirlenen $\delta^{13}C$ değerlerinin bir arada değerlendirilmesinin grafiksel görünümü Şekil 5.6'da yer almaktadır.



Şekil 5.6. Numunelerin fermantasyonu sonucu elde edilen etanolde tespit edilen $\delta^{13}C$ değerlerinin $(D/H)_I$ değerleri ile normalize edilmesi.

Şekil 5.6'da pekmez ve üzüm bölgesi içinde yer alan ▲ nokta ve bölge dışında yer alan ▲ noktalar Bölüm 3.4.3'te belirtilen tatlandırıcılarla kirletilen pekmez örneklerine, ■ noktalar ise tatlandırıcılara aittir.

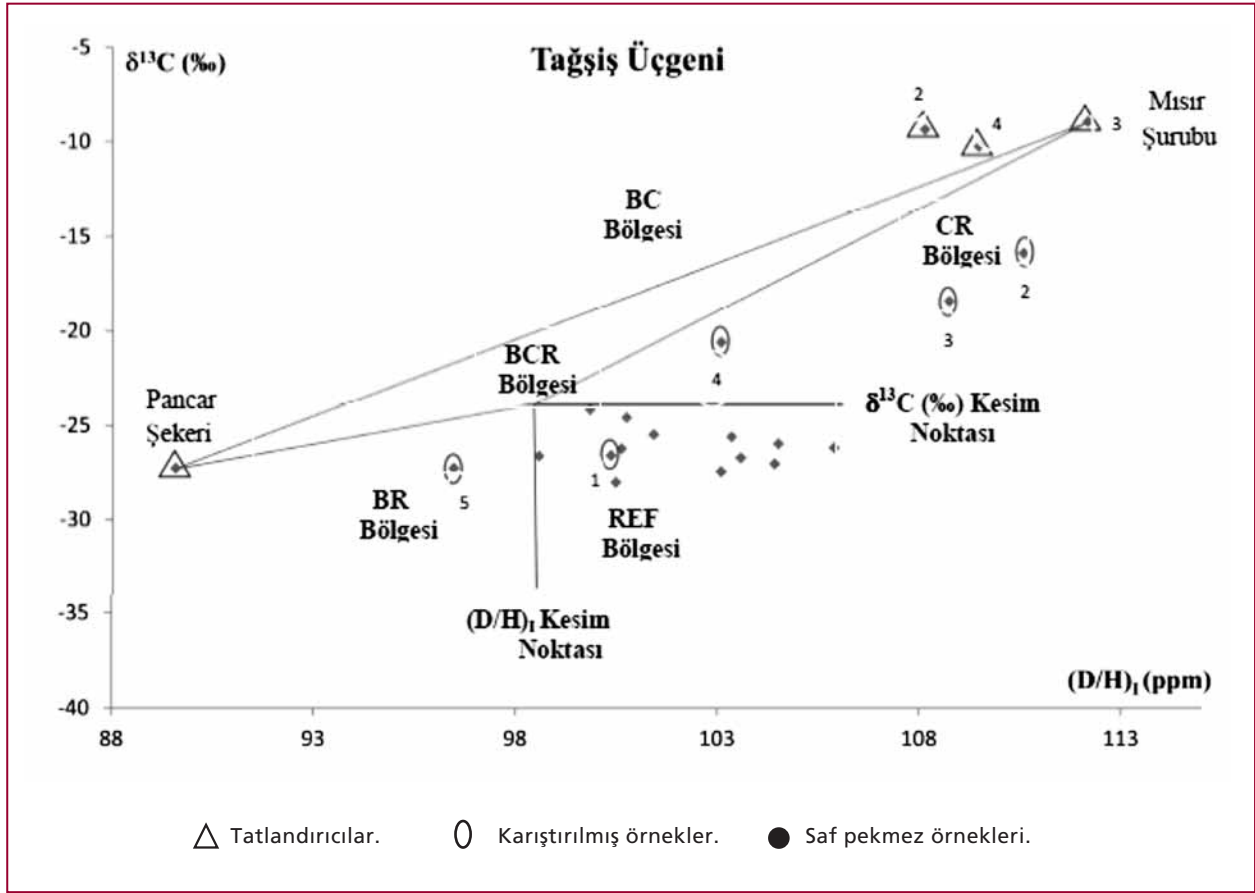
Pekmez numunelerine karıştırılan tatlandırıcılardan mısır şurubu, şeker pancarı ve üzüm örneklerinden elde edilen etanolün izotopik verileri kullanılarak bir üçgen elde edilir. Bu üçgene **tağşiş üçgeni** (adultration triangle) denilmektedir [15]. Bu verilerden elde edilen **tağşiş üçgeni** Şekil 5.7'de gösterilmektedir.



Şekil 5.7. Numunelerin fermantasyonu sonucu elde edilen etanolde tespit edilen $\delta^{13}\text{C}$ değerlerinin $(\text{D}/\text{H})_1$ değerleri ile normalize edilmesi.

Şekil 5.7 kullanılarak numunenin grafik üzerine düştüğü pozisyona göre tağşiş olup olmadığı kanısına varılabilir. Tağşişe uğramayan örnek referans bölgesine düşecektir (REF Bölgesi). Şayet numuneye pancar şekeri ilave edilmişse örnek BR, kamış şekeri veya mısır şurubundan elde edilen şeker ilavesi söz konusuysa da CR Bölgesine düşecektir. BCR bölgesi örneğe hem pancar şekeri hem de kamış şekeri veya mısır şurubu şekeri ilave edildiğine delalettir, BC bölgesi ise numuneye yüksek oranda üzümün başka bir meyve suyunun ilave edildiği bölgeyi resmeder.

3 adet örneğin doğası gereği oldukça düşük döteryum ($(\text{D}/\text{H})_1$) içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu sebeple bu örnekler REF Bölge dışında kalmıştır. Bu numuneleri de REF bölge içine alacak şekilde tağşiş üçgeni yeniden düzenlendiğinde Şekil 5.8'de görülen grafik elde edilmiştir.



Şekil 5.8. Doğası gereği düşük döteryum içeriğine sahip 1 ve 3 nolu üzüm ve 1 nolu pekmez örneklerinin REF bölgesine dahil edildiğinde elde edilen tağşiş üçgeni.

5.2.3.1. Aynı Bölgedeki Pekmez ve Üzüm Numunelerinin Karşılaştırılması

Bölüm 3.4.2 ve 3.4.3'te özellikleri belirtilen kuru üzüm, üzüm suyu; bu üzüm ve üzüm suyundan elde edilen aynı bölgeye ait pekmez numunelerinin fermentasyonu sonucu elde edilen etanolde SNIF-NMR® ile belirlenen $(D/H)_I$, $(D/H)_{II}$, R ve (GC-C)-IRMS ile belirlenen $\delta^{13}C$ değerleri Çizelge 5.7'de verilmiştir.

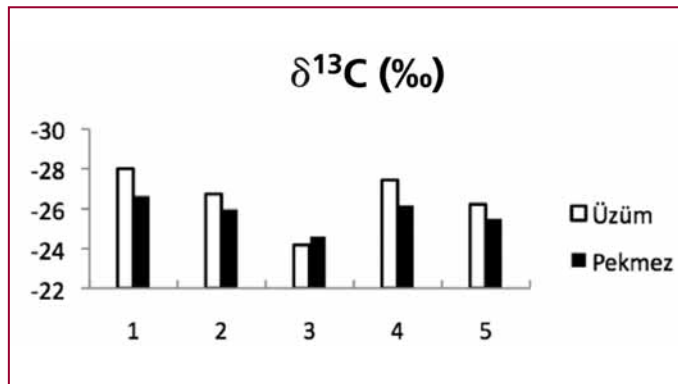
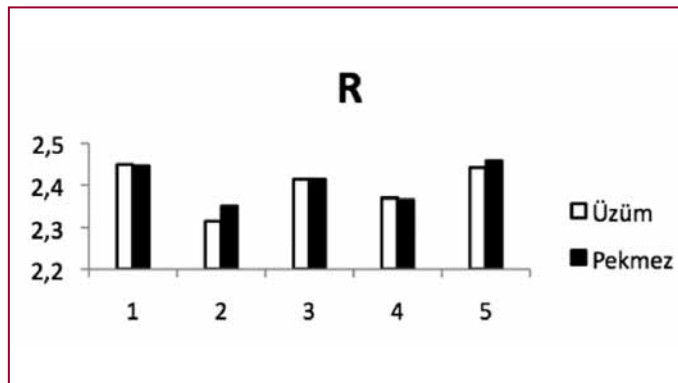
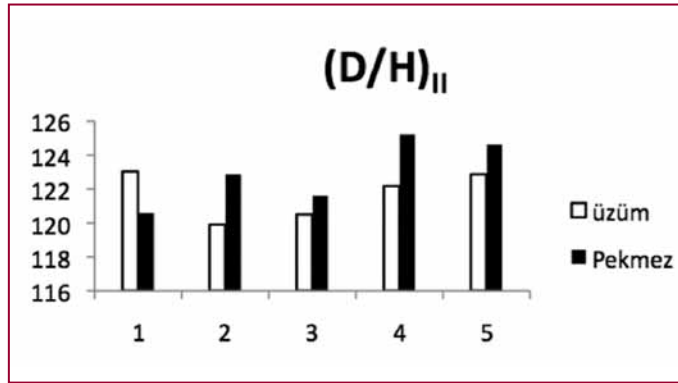
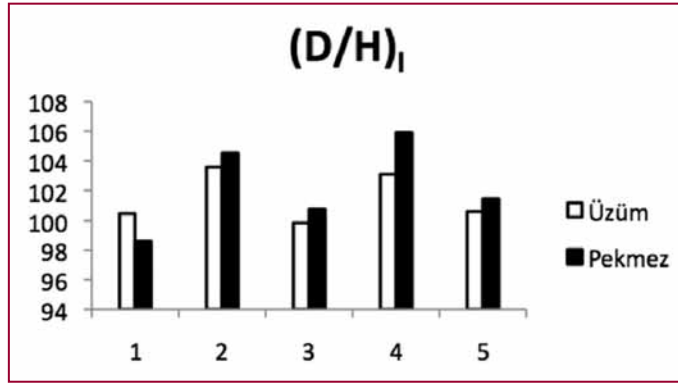
Çizelge 5.7. Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'de belirtilen aynı bölgeye ait üzüm ve pekmez numunelerinden elde edilen etanolde tespit edilen $(D/H)_I$, $(D/H)_{II}$, R ve $\delta^{13}C$ değerleri

1 Nolu Pekmez ve Üzüm Örnekleri				
Numune Cinsi	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R	$\delta^{13}C$ (‰)
Pekmez	98,58 ± 0,32	120,59 ± 0,44	2,446± 0,010	-26,62 ± 0,05
Üzüm	100,48 ± 0,44	123,03 ± 0,58	2,449± 0,015	-28,00 ± 0,08
2 Nolu Pekmez ve Üzüm Örnekleri				
Numune Cinsi	$(D/H)_I$ (ppm)	$(D/H)_{II}$ (ppm)	R	$\delta^{13}C$ (‰)
Pekmez	104,51 ± 0,58	122,87 ± 0,47	2,351 ± 0,011	-25,98 ± 0,03
Üzüm	103,58± 0,18	119,91 ± 0,32	2,315 ± 0,007	-26,72± 0,03
3 Nolu Pekmez ve Üzüm Örnekleri				
Numune Cinsi	$(D/H)_I$ (ppm)	$(D/H)_{II}$ (ppm)	R	$\delta^{13}C$ (‰)
Pekmez	100,75 ± 0,28	121,60 ± 0,42	2,414 ± 0,012	-24,61 ± 0,08
Üzüm	99,84 ± 0,28	120,51 ± 0,42	2,414 ± 0,008	-24,19± 0,15
4 Nolu Pekmez ve Üzüm Örnekleri				
Numune Cinsi	$(D/H)_I$ (ppm)	$(D/H)_{II}$ (ppm)	R	$\delta^{13}C$ (‰)
Pekmez	105,89 ± 0,33	125,22 ± 0,50	2,365 ± 0,014	-26,18 ± 0,12
Üzüm	103,09± 0,46	122,18 ± 0,24	2,370 ± 0,012	-27,43 ± 0,11
5 Nolu Pekmez ve Üzüm Örnekleri				
Numune Cinsi	$(D/H)_I$ (ppm)	$(D/H)_{II}$ (ppm)	R	$\delta^{13}C$ (‰)
Pekmez	101,42 ± 0,29	124,62± 0,56	2,458 ± 0,011	-25,50 ± 0,12
Üzüm	100,62 ± 0,27	122,87 ± 0,65	2,442± 0,013	-26,23 ± 0,07

Pekmez örneklerinin $(D/H)_I$ ve $(D/H)_{II}$ değerleri kuru üzüm örneklerinkinden daha büyük, 1 nolu üzüm suyunda ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Pekmez örneklerinin $\delta^{13}C$ değerlerinin ise 3 nolu örnek haricinde daha küçük olduğu görülmektedir. Bu değerlerin karşılaştırılmasının grafiksel görünümü Şekil 5.9'da görülmektedir.

Guyon vd. [17] çalışmalarında şıranın konsantre edilmesi tekniğinin şarap izotopik parametrelerini nasıl değiştirdiğini incelemiş ve bu tekniklerden yüksek vakum altında konsantre hale getirilen şıranın, konsantre edilmeden önceki $(D/H)_I$ ve $(D/H)_{II}$ değerlerinin kaydeğer bir şekilde yükseldiğini, ancak $\delta^{13}C$ değerlerinin çok fazla etkilenmediği belirtilmektedir.

Bölüm 4.2.2'de belirtildiği gibi pekmez üzüm şırasının ısı yoluyla konsantre edilmesiyle elde edilmektedir ki bu sebeple pekmez örneklerinin $(D/H)_I$ ve $(D/H)_{II}$ değerleri üzüme göre çoğunlukla artış göstermektedir. Aynı bölgede yetiştirilen üzüm ve pekmez numunelerinin $(D/H)_I$, $(D/H)_{II}$ ve $\delta^{13}C$ değerlerinin karşılaştırılması Şekil 5.9'dadır.



Şekil 5.9. Aynı bölgede yetiştirilen üzüm ve pekmez numunelerinin (D/H)_I, (D/H)_{II} ve δ¹³C değerlerinin karşılaştırılması.

5.2.4. Pekmez ve Üzüm Numunelerinin Yetiştirdiği Bölgelere Göre Kıyaslanması

Bölüm 2.3'te detaylarıyla anlatıldığı üzere iklimsel faktörlerin izotopik fraksiyonlaşmada özellikle döteryum içeriğinde büyük etkileri vardır. Bu etkiyi incelemek için Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğünden birtakım veriler elde edilmiştir [18]. Öncelikle Ziraî Meteoroloji ve İklim Rasatları Dairesi Başkanlığınca hazırlanan bağ için filizlenme, çiçeklenme ve oluşum zamanlarını gösterir haritalardan faydalanarak (Ek A) incelenen pekmez ve üzüm örneklerinin bölgelerine göre ayırımı ve bu geçiş tarih aralıkları Çizelge 5.8'de gösterilmektedir. Sonrasında, 1 Nisan-30 Eylül 2010 arasında ortalama sıcaklık (°C), toplam güneşlenme süresi (saat), toplam yağış miktarı (mm) ve ancak belirtilen tarihler arasındaki veriler elde edilebildiği için 1 Mayıs-30 Ekim 2011 arasındaki toplam buharlaşma miktarları (mm) söz konusu genel müdürlük internet sitesinden derlenerek yine incelenen pekmez ve üzüm örneklerinin bölgelerine göre ayırımı bazında Çizelge 5.9'da yer almaktadır. Ayrıca numunelerin yetiştirildiği bölgelerin enlem ve denizden yükseklik (rakım) bilgileri de Çizelge 5.9'da yer almaktadır.

Çizelge 5.8. İncelenen pekmez ve üzüm örneklerinin yetiştirildiği bölgedeki bağların filizlenme, çiçeklenme ve oluşum tarihleri

Numune No	Yetiştirdiği Bölge ve Yer Aralığı	Filizlenme Tarih Aralığı	Çiçeklenme Tarih Aralığı	Oluşum Tarih
1	Marmara Tekirdağ-Şarköy	15-30 Nisan 9 Haziran	25 Mayıs-	8-28 Ağustos
2	Ege Manisa- Sarıgöl	1-15 Nisan	10-25 Mayıs	29 Haziran- 19 Temmuz
3	İç Anadolu Nevşehir- Gülşehir	1-15 Mayıs	9-24 Haziran	19 Temmuz- 8 Ağustos
4	Güneydoğu Anadolu Kilis	1-15 Nisan	10-25 Mayıs	19 Temmuz- 8 Ağustos
5	İç Anadolu Kayseri-Yeşilhisar	1-15 Mayıs	10-25 Mayıs	19 Temmuz- 8 Ağustos
6	Karadeniz-İç Anadolu (Tokat-Zile)	1-15 Mayıs	25 Mayıs- 9 Haziran	8-28 Ağustos
7	Akdeniz Antalya-Akseki	1-15 Nisan	9-24 Haziran	28 Ağustos- 17 Eylül

Çizelge 5.9. Pekmez ve üzüm örneklerinin yetiştirildiği bölgelerin birtakım iklimsel ve coğrafi verileri

Numune	Yetiştirdiği Bölge ve Yer	Ortalama Sıcaklık (°C)*	Toplam Güneşlenme Süresi (saat)*	Toplam Yağış Miktarı (mm)*	Toplam Buharlaşma (mm)*	Bulunduğu Enlem	Rakım (metre)
1	Marmara Tekirdağ-Şarköy	19,50	48,70	204,80	751-1000	40°36'	6
2	Ege Manisa-Sarıgöl	23,77	56,40	147,80	1001-1250	38°11'	210
3	İç Anadolu Nevşehir-Gülşehir	17,17	59,00	173,60	1001-1250	38°41'4	885
4	Güneydoğu Anadolu Kilis	23,72	60,50	100,30	1501-1750	36°43'	680
5	İç Anadolu Kayseri-Yeşilhisar	17,72	56,10	185,40	1011-1250	38°20'	1150
6	Karadeniz-İç Anadolu Tokat-Zile	18,68	48,60	199,90	751-1000	40°17'	710
7	Akdeniz Antalya-Akseki	23,77	62,20	128,60	1001-1250	37°3'	1050

* 1 Nisan-30 Eylül 2010 arası, ⁷1 Mayıs-30 Ekim arası

Toplanan bu verilerden iklim ve diğer çevresel faktörlerden faydalanarak bir ayırım yapılmaya çalışılmıştır. Öncelikle, iklim farklılığı açısından **sıcak-kurak**, **sıcak-nemli**, **soğuk-kurak**, **soğuk-nemli** olmak üzere 4 bölgeye ayrılmıştır.

Buharlaşmanın az olduğu bölgelerde döteryum içeriğinin düşük olacağı, fazla yağış alan (özellikle yağmur) bölgelerde de döteryum oranının yine düşük olduğu belirtilmektedir.

5.2.4.1. Pekmez Numunelerinin Yetiştirdiği Bölgelere Göre Kıyaslanması

(D/H)_{II} değerinin üzümün yetiştirildiği bölgenin klimatolojisinden oldukça fazla ve sıradaki şeker konantrasyonundan çok az etkilendiği belirtilmektedir. İncelenen pekmez örneklerinde tespit edilen (D/H)_{II} ve (D/H)_I değerlerinin yukarıda belirtilen, iklim farklılığı açısından ayrılan ve pekmez örneklerinin yetiştirildiği bölgelerin ilişkisi Çizelge 5.10'da verilmektedir.

Çizelge 5.10. İncelenen pekmez örneklerinin yetiştirildiği bölgeye göre iklimsel bölgeleri ve bu bölgelerin tespit edilen (D/H)_{II} ve (D/H)_I değerleri

İklimsel Bölge	(D/H) _{II} (ppm)	(D/H) _I (ppm)	Yetiştirdiği Bölge ve Yer	Numune No
Sıcak-kurak	125,22	105,89	Güneydoğu Anadolu Kilis	4
Sıcak-nemli	122,87	104,51	Ege Manisa- Sarıgöl	2
	122,21	104,42	Akdeniz Antalya-Akseki	7
Soğuk-kurak	121,60	100,75	İç Anadolu Kayseri-Yeşilhisar	5
	124,62	100,62	İç Anadolu Nevşehir- Gülşehir	3
Soğuk-nemli	120,59	98,58	Marmara Tekirdağ-Şarköy	1
Geçiş*	122,81	103,35	Karadeniz-İç Anadolu (Tokat-Zile)	6

* Karadeniz - İç Anadolu arası iklim tipi

Pekmez numunelerinde tespit edilen (D/H)_{II} değerleri kıyaslandığında beklenildiği gibi, en yüksek değer 125,22 ppm ile sıcak-kurak bir iklime sahip olan Güneydoğu Anadolu Bölgesinde (GDAB) yetiştirilen pekmezde en düşük değer ise 120,59 ppm ile soğuk ve nemli bir iklimde yetişen pekmezde tespit edilmiştir.

GDAB yetişen pekmezi ise sıcak-nemli bir iklimde yetişen pekmez izlemiştir. Soğuk ve kurak bölgede yetişen pekmezin (D/H)_{II} değeri ise soğuk-nemli ve sıcak-nemli iklimlerde yetişen pekmezlerin arasında tespit edilmiştir.

Zile'nin coğrafi bölge olarak Orta Karadeniz Bölgesi'nin güneyi ile İç Anadolu Bölgesi'nin kuzeyinde bir geçit noktasında olması nedeniyle her iki bölgenin de iklim özelliklerini taşımaktadır. Yazlar sıcak ve kurak, kışlar özellikle kar yağışlı ve soğuk geçmekte, yağmurlar ise daha ziyade ilkbahar sonlarına kaymış olmakla birlikte sonbaharın ilk aylarında da görülmektedir. Bu nedenle Zile'de genel olarak Karadeniz - İç Anadolu arası iklim tipi görülmektedir [19]. Bu iklim özelliklerine sahip olan yörede yetiştirilen üzümde ise (D/H)_{II} değeri 122,81 ppm olarak tespit edilmiştir.

Sadece soğuk-kurak bir bölgeden Nevşehir'den temin edilen pekmez örneğinin **124,62 ppm** olan (D/H)_{II}, hem kendi bölgesine çok yakın bir bölge olan Yeşilhisar'dan temin edilen pekmezden çok farklı hem de 23,72°C ortalama sıcaklık ve yetiştirildiği tarih aralığında 100,30 mm yağış alan GDAB'ye oldukça yakın bir değerdir. Döteryum içeriği oksijen ile yakinen ilgilidir. Bu sebeple bu pekmez örneğinin kuru üzümde elde edilmiş olabileceği yani pekmez yaparken üzüm şirasının kendi suyundan ziyade dışarıdan su ilavesiyle hazırlanmış olabileceğinden şüphelenilmiştir.

Ayrıca Çizelge 5.10'da görüleceği üzere pekmez örneklerine ait $(D/H)_I$ değerleri de aynı şekilde bu farklandırılan iklimsel bölgeyle uyum içindedir.

En yüksek $(D/H)_I$ değeri 105,89 ppm ile GDAB yetiştirilen, en düşük değer ise 98,58 ppm ile soğuk ve nemli bir iklimde yetiştirilen pekmezde tespit edilmiştir. Ege ve Akdeniz bölgelerindeki pekmezlerde bu değer sırasıyla, 104,51 ve 104,42 ppm iken Zile pekmezi 103,35 ppm olarak tespit edilmiştir. İç Anadolu Bölgesindeki Nevşehir ve Kayseri illerinde yetişen pekmezlerde de $(D/H)_I$ değerinin sırasıyla 100,62 ve 100,75 ppm olduğu gözlemlenmiştir.

5.2.4.2. Üzüm Numunelerinin Yetiştirdiği Bölgelere Göre Kıyaslanması

Çizelge 5.11'de görüleceği üzere üzüm örneklerine ait $(D/H)_I$ değerleri pekmez numunelerinde olduğu gibi aynı şekilde farklandırılan iklimsel bölgeyle uyum içindedir. Ancak üzüm örneklerinde tespit edilen $(D/H)_{II}$ değerleri arasında benzer ilişkiye raslanılmamıştır.

Çizelge 5.11. İncelenen üzüm suyu ve kuru üzüm örneklerinin yetiştirildiği bölgeye göre iklimsel bölgeleri ve bu bölgelerin tespit edilen $(D/H)_{II}$ ve $(D/H)_I$

İklimsel Bölge	$(D/H)_{II}$ (ppm)	$(D/H)_I$ (ppm)	Yetiştirdiği Bölge ve Yer	Numune No
Sıcak-kurak	122,18	103,09	Güneydoğu Anadolu Kilis	4
Sıcak-nemli	119,91	103,58	Ege Manisa- Sarıgöl	2
Soğuk-kurak	122,87	100,62	İç Anadolu Kayseri-Yeşilhisar	5
	120,51	99,84	İç Anadolu Nevşehir- Gülşehir	3
Soğuk-nemli	123,03	100,48	Marmara Tekirdağ-Şarköy	1

GENEL SONUÇLAR

Yapılan çalışmalardan aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Çalışmamızda incelenen pekmez ve üzüm örneklerinin karbohidrat verileri (fruktoz, glikoz ve sakaroz değerleri) Şekil 5.2'de yer alan üçgen diyagramında yerleştirilmiş ve Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi tebliğinde [20] belirtilen aralıklar baz alınarak elde edilen işaretlenmiş bölge içinde olup olmadıkları kontrol edilmiştir. Eğer pekmez analizi ile bulunan sonuçlar bu bölge içinde değil ise o pekmezin hileli olma olasılığının oldukça yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır.
2. İkinci bölümünde yer alan çalışma, ülkemiz topraklarında yetiştirilen üzüm ve üzüm ürünleri ile ilgili olarak örneklerin fermente edilmesiyle elde edilen alkolde SNIF-NMR® ve IR-MS yöntemlerinin kullanılmasıyla yapılan ilk izotopik çalışmadır.
3. İlk olarak yapılan bu çalışmada SNIF-NMR® ve IRMS verilerinin birlikte kullanılmasıyla Şekil 5.8'de gösterilen **Tağışış üçgeni** adı verilen grafik elde edilmiş ve bu grafik sayesinde üzüm ve pekmez örneklerinin orijinal veya hileli olup olmadığı hatta hileli ise ne tür bir katkı ile hile yapıldığı hakkında bilgi edinilebilmektedir.
4. Yapılan çalışmalarda saf pekmez örneklerinin hem SNIF-NMR® hem de IRMS sonuçları kirletilen örneklerinkinden belirgin derece farklı oldukları gözlemlenmiştir.
5. Ülkemizde bolca üretilen üzüm ve bu üzümünden elde edilen ürünlerin kontrolü önem arz etmekle beraber, ülkemiz topraklarında yetişen üzümle ilgili bölgesel farklandırmaya yönelik herhangi bir izotopik analiz şu ana kadar yapılmamıştır. Aynı bölgede yetişen pekmez ve üzüm numunelerinin SNIF-NMR sonucu elde edilen (D/H)_I ve (D/H)_{II} sonuçlarının büyük oranda örtüştüğü ve aynı zamanda bu değerlerin meteorolojik verilerle oluşturulan bölgelerle de uyumlu olduğu görülmüştür. İlk olarak tarafımızca yapılan bu çalışmada pekmez ve üzüm örnekleri bölgesel olarak farklandırılmışlardır.
6. Ayrıca pekmez örneklerinin, aynı bölgede yetiştirilen kuru üzüm örneklerine göre döteryumca daha zengin oldukları tespit edilmiştir.
7. Bir pekmezin hileli olup olmadığını anlamak için aşağıda belirtilen yol izlenir:
 - a. Numunelerin C13 analizleri, toplu kararlı izotop analizinde bütün olarak geleneksel elementel analizlerle CO₂'ye dönüştürülerek yapılır. Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi tebliğinde sıvı pekmezin $\delta^{13}C$ ($^{13}C/^{12}C$) değerinin -23,5'den daha negatif olması gerektiği belirtilmektedir. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda tağışışlı gıda üreticilerinin gıdalara sentetik tatlandırıcı ilavesiyle bu tekniği bertaraf edecek biçimde kodeks ve yönetmeliklerde belirtilen $\delta^{13}C$ değerinde hileli ürünler ürettikleri görülmüştür [21] .

Öncelikle çalışmamızın ilk kısmında yer alan analizlerle, yukarıda belirtilen türdeki sahteciliğin tespiti amacıyla en yaygın sentetik tatlandırıcılardan aspartam ve sakarin aranır.
 - b. Bunlar bulunamadığında fruktoz, glikoz ve sakkaroz gibi doğal kaynaklı şeker analizi sıvı kromatografisi ile yapılarak bu değerlerin Şekil 5.2'de görülen üçgen diyagramında işaretlenmiş bölge içinde olup olmadığı kontrol edilir.

- c. Ancak pekmeze eşit miktarlarda fruktoz ve glikoz ilavesi veya invert şeker ilavesi yapılarak fruktoz/glikoz oranı doğal şıradaki gibi 0,9-1,1 arasında ayarlandı ise, bu ilaveyi kromatografik olarak tespit etmek mümkün değildir. Bu aşamada kararlı izotop analizleri önem kazanır. SNIF-NMR® ve IRMS analizleri sonucu elde edilen veriler, şekil 5.8'de gösterilen Tağşış üçgeninde referans bölge içersinde yer alıp almadığı kontrol edilir ve farklı bir bölgede yer alması halinde ise ne tür bir katkı ile hile yapıldığı hakkında yorum yapılabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Türkiye İstatistik Kurumu, http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=45&ust_id=13, 20 Temmuz 2011.
- [2] Akaydın(İyibil), C., (2009). Ticari Olarak Üretilen Bazı Sıvı Ve Katı Üzüm Pekmezlerinin Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- [3] Şimşek A., Artık N. ve Başpınar E., (2004). Detection of raisin concentrate (Pekmez) adulteration by regression analysis method , *Journal of Food Composition and Analysis*, 17,155-163
- [4] Şimşek A., (2000). Farklı Hammaddelerden Üretilen Pekmezlerin Bileşimi Üzerine Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Univerditesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [5] Gümüştaş B., (2010). Identification Studies For Honey, Grape Syrup And Fruit Juice Produced In Turkey By Using HPLC and 13C/12C Isotope Ratio Mass Spectrometric Methods, Master Thesis, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [6] Özbek, C., (2010). Hakkâri Yöresinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Bazı Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- [7] Karaca İ., (2009). Pekmez Örneklerinde Vitamin ve Mineral Tayini, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- [8] Sun Da-Wen, (2008). *Modern Techniques for Food Authentication*, First Edition, Elsevier Inc. Kanada.
- [9] Calderone G. ve Guillou C., (2008). Analysis of isotopic ratios for the detection of illegal watering of beverages, *Food Chemistry* 106, 1399-1405.
- [10] Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Açık Yüzey Buharlaşma Rasatlarının Değerlendirmesi, <http://www.dmi.gov.tr/veridegerlendirme/acik-yuzey-buharlasma.aspx>, 23 Mart 2011.
- [11] Wikipedia, Karbon Döngüsü, http://en.wikipedia.org/wiki/Carbon_fixation, 23 Mart 2011.
- [12] Tarım ve Hayvancılığın Adresi, <http://www.tarimsal.net/?p=575>, 23 Mart 2011.
- [13] AOAC 980.13 (1998). Fructose, Glucose, Lactose, Maltose, and Sucrose in Milk Chocolate Liquid Chromatographic Method, AOAC INTERNATIONAL, 16th Ed., Gaithersburg.
- [14] AOAC 932.14C (1998). Solids in Syrup By Means of Refractometer, AOAC INTERNATIONAL, 16th Ed., Gaithersburg.
- [15] Jamin E., Martin F. ve Martin G.G. (2004). "Determination of the 13C/12C Ratio of Ethanol Derived from Fruit Juice and Maple Syrup by Isotope Ratio Mass Spectrometry:Collaborative Study", *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, Vol.87,No:3.
- [16] OIV-MA-AS311-05 (2011). Detecting enrichment of grape musts, concentrated grape musts, rectified concentrated grape musts and wines by application of nuclear magnetic resonance of deuterium (SNIF-NMR/RMN-FINS), OIV, Paris.

- [17] Guyon F., Douet C., Colas S., Salagoity M. ve Medina B., (2006). Effects of Must Concentration Techniques on Wine Isotopic Parameters, *J. Agric. Food Chem.*, 54, 9918-9923.
- [18] Meteoroloji Genel Müdürlüğü, <http://www.dmi.gov.tr>, 23 Mart 2011.
- [19] Zile ve Zilelilerin Sitesi, <http://www.zilesitesi.com/sayfa.asp?id=2>, 26 Haziran 2011.
- [21] Cabanero A. I., Recio J. L. ve Rupeárez M., (2006). Liquid Chromatography Coupled to Isotope Ratio Mass Spectrometry: A New Perspective on Honey Adulteration Detection, *J. Agric. Food Chem.*, 54, 9719-9727.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Muharrem YILMAZ
Doğum Tarihi ve Yeri : 01.05.1978/Kilis
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : Muhyilmaz@gumrukticaret.gov.tr
muharremy@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Organik Kimya	Hacettepe Üniversitesi	2005
Lisans	Kimya (İng.)	Hacettepe Üniversitesi	2002
Lise	Fen Bilimleri	Cumhuriyet Lisesi	1996

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2009-	Gümrük ve Ticaret Bakanlığı İstanbul Laboratuvar Müdürlüğü	Gıda Birim Sorumlusu
2006-2009	Gümrük ve Ticaret Bakanlığı İstanbul Laboratuvar Müdürlüğü	Kimyager
2002-2006	Hacettepe Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

PROJELERİ

- Türk Gümrük İdaresinin Modernizasyonu- IV, İstanbul Gümrük Laboratuvarı Cihaz Alımı Projesi Cihaz Seçimi ve Teknik Şartname hazırlanması
- Türk Gümrük İdaresinin Modernizasyonu- IV, İtalyan Gümrük Ajansı ile birlikte yürütülen Eşleştirme Projesi (Twinning Light Project) (Katılımcı)
- İstanbul Gümrük Laboratuvarı numune takip sistemi elektronik altyapı oluşturulması

ÖDÜLLERİ

- Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü Birinciliği
- Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Üstün Başarı Ödülü

SEMİNER, SUNUM VE TOPLANTILAR

- | | | |
|--|---------|------|
| • Karedeniz Ekonomi İşbirliği Çalıştayı
(İstanbul Gümrük Laboratuvarı Uygulamaları) | Türkiye | 2012 |
| • German Seminar for Chemists on Customs Analytical Methods
(Food application of SNIF-NMR and IRMS) | Almanya | 2011 |
| • İtalya Gümrük İdaresi ile Kısa Süreli Eşleştirme Projesi
(Twinning Light) Çalışma Ziyareti | İtalya | 2011 |
| • Armonize Sistem Nomenklatör Proje Grubu | Belçika | 2009 |
| • Chemical Chapters Project Group | Belçika | 2007 |

BİLİMSEL YAYINLAR

- M. YILMAZ, H. AFŞAR, Gıda Ürünlerinde Aspartam Ve Sodyum Sakarinin Yüksek-Performanslı İnce Tabaka Kromatogafisiyle Analizi, YTÜ Sigma, 30, 91-101, 2012
- M. YILMAZ, H. AFŞAR, Üzüm Ve Üzümden Elde Edilen Birtakım Ürünlerin Coğrafik Köken Ve Orijinallik Tayininin SNIF-NMR® Metodu Kullanılarak Tespit Edilmesine Dair Bir Yaklaşım, YTÜ Sigma, 30, 102-112, 2012



**İSTANBUL
SANAYİ ODASI**

Meşrutiyet Caddesi No:62 Tepebaşı 34430 - İstanbul Tel: (0212) 252 29 00 Faks: (0212) 249 50 07 e-posta: kobi@iso.org.tr
(Elektronik) ISBN: 978-605-137-137-5 ISBN: 978-605-137-136-8