



**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SİRKE ÜRETİM PROSESİNİN KARADUT MEYVESİNİN  
BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNE  
ETKİSİ**

**Fatma İpek MARANGOZ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**ÇANAKKALE**

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SİRKE ÜRETİM PROSESİNİN KARADUT MEYVESİNİN**  
**BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNE**  
**ETKİSİ**

**Fatma İpek MARANGOZ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Tezin Sunulduğu Tarih: 25/01/2016**

**Tez Danışmanı:**

**Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA**

**ÇANAKKALE**

Fatma İpek MARANGOZ tarafından Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA yönetiminde hazırlanan ve 25/01/2016 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Sirke Üretim Prosesinin Karadut Meyvesinin Biyoaktif Bileşenleri ve Antioksidan Özelliklerine Etkisi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

### **JÜRİ**

Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA

.....

**Başkan**

Prof. Dr. Cengiz CANER

.....

**Üye**

Yrd. Doç. Dr. Onur GÜNEŞER

.....

**Üye**

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No: .....

Bu tez çalışması, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından FLY-2015-581 no'lu projeden desteklenmiştir.

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Fatma İpek MARANGOZ

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, bana her konuda büyük bir özveriyle yardımcı olan, daima yol gösteren, deneyimlerinden faydalandığım çok değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA'ya en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümüne,

Bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarına katkıda bulunan değerli hocam Arş. Gör. Buket AYDENİZ'e,

Sirke üretimi için gerekli olan maya ve enzim tedarikini sağladığımız Suvla Şarap Fabrikası (Eceabat/Çanakkale) çalışanı Tuğba ŞAHİN'e ve sirke kültürü temin ettiğimiz Tariş Sirke Pekmez İşletmesi (Alaşehir/Manisa) bünyesine,

Sirkecizade Firması sahibi Sayın Ahmet ÇİMENDER'e,

İlgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan babam Hasan ŞAYIR, annem Perihan ŞAYIR ve kardeşim Hüseyin ŞAYIR'a,

Çalışmamın her aşamasında yanımda olan değerli arkadaşlarım Aygül CAN ve Hatice ALDEMİR'e teşekkürlerimi borç bilirim.

Fatma İpek MARANGOZ

Çanakkale, Ocak 2016

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|                  |                                                         |
|------------------|---------------------------------------------------------|
| fw.              | Taze ağırlık                                            |
| dw.              | Kuru ağırlık                                            |
| GAE              | Gallik asit eşdeğeri                                    |
| QE               | Quercetin eşdeğeri                                      |
| Cy-3-glu         | Siyanidin-3O- glukozit                                  |
| Cy-3-rut         | Siyanidin-3O-rutinozit                                  |
| EC <sub>50</sub> | Radikalin %50'sinin inhbisyonunu sağlayan konsantrasyon |
| DPPH             | 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl                           |
| TEAC             | Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi                  |
| FRAP             | Demir indirgeyici antioksidan kapasitesi                |
| CUPRAC           | Bakır indirgeyici antioksidan kapasitesi                |
| ORAC             | Oksijen radikal absorbands kapasitesi                   |
| HPLC             | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi                 |
| TFA              | Triflora asetik asit                                    |
| TAS              | Sitrik asit cinsinden titrasyon asitliği                |
| TAA              | Asetik asit cinsinden titrasyon asitliği                |

## ÖZET

### SİRKE ÜRETİM PROSESİNİN KARADUT MEYVESİNİN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

Fatma İpek MARANGOZ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA

25/01/2016, 75

Bu çalışmanın amacı biyoaktif bileşenlerce zengin karadut (*Morus nigra*) meyvesinin sirke üretiminde değerlendirilmesi ve bu süreçte biyoaktif bileşenler ile birlikte antioksidan kapasitede meydana gelecek değişimlerin belirlenmesidir. Bu amaçla, sirke üretim sürecinin karadut meyvesinin (1) Biyoaktif bileşenleri (Fenolik Bileşen Profili, toplam fenol ve monomerik antosiyanin içeriği); (2) Antioksidan özellikleri (TEAC, CUPRAC, DPPH ve FRAP); (3) Fizikokimyasal özellikleri (pH, Suda Çözünür Kurumadde ve titrasyon asitliği) üzerine etkileri ile birlikte üretilen karadut sirkesinin duyuşal açıdan tüketici beğenisi değerlendirilmiştir. Yüzey kültür yöntemi ile gerçekleştirilen sirke üretim sürecinde (n=3), karadut meyve suyu (KMS), alkol fermentasyonu (AF) sonrası ve asetikasyon sonrası (AS) olmak üzere örnekleme yapılmıştır.

KMS, AF ve AS örneklerinin toplam fenol içerikleri sırasıyla 1064,65, 988,84 ve 855,55 mg GAE/L olarak değişmiş olup, bu azalış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P<0,05$ ). KMS örneğinin 190,37 mg siyanidin-3O-glukozit/L olan başlangıç monomerik antosiyanin miktarı, 20°C’de 15 gün alkol fermentasyonu sonrası 95,94 mg siyanidin-3O-glukozit/L düzeyine ve asetikasyon sonrası ise 22,13 mg siyanidin-3O-glukozit/L düzeyine azalmıştır. Karadut suyunun kendine özgü renginden sorumlu önemli bir kalite kriteri olan monomerik antosiyanin içeriği sirke üretimi sürecinde yaklaşık %88,4 düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir kayba uğramıştır.

HPLC ile gerçekleştirilen fenolik bileşen profil analizi sonuçlarına göre, KMS örneklerinde başat antosiyaninler siyanidin-3O-glukozit (130,09 mg/L) ve siyanidin-3O-rutinozit (112,04 mg/L) olarak belirlenmiş olup bunların dışında çok daha az miktarda

pelargonidin-3O-glukozit (12,13 mg/L) tespit edilmiştir. Alkol fermentasyonu sonucunda %89,04 ile en fazla kayba uğrayan bileşen siyanidin-3O-glukozit olup siyanidin-3O-rutinozit antosiyaninde ise %84,5 ile en fazla kayıp asetifikasyon sonrasında gözlenmiştir. Bunun dışında, KSM örneklerinde sirke fermentasyonu sonucunda flavanol grubu bir bileşen olan kateşin, hidroksisinamik asit grubu bir bileşen olan kafeik asit ve yine hidroksisinamik asit esterlerinden klororjenik asit değerlerinde önemli artışlar belirlenmiştir ( $P<0,05$ ).

KMS, AF ve AS örneklerinin antioksidan değerleri, TEAC yöntemine göre sırasıyla 6,78, 6,67 ve 10 mg trolox/L; DPPH yöntemine göre  $EC_{50}$  değerleri sırasıyla 17,14, 11,93 ve 11,66  $\mu$ L/mL; CUPRAC yöntemine göre ise sırasıyla 296,22, 295,30 ve 404 mg vitC/L ve 354,25, 353,21, 475,5 mgTE/L; FRAP yöntemine göre sırasıyla 716,28, 820,03 ve 869,06 mg vitC/L ve 1091,47, 1252,46 ve 1328,53 mg trolox/L olarak belirlenmiştir. KMS örneklerinin antioksidan aktivite değerleri fermentasyon uygulamaları (alkol fermentasyonu ve asetifikasyon) sonucunda artan bir eğilim göstermiş olup AS örneklerinin TEAC, DPPH ve CUPRAC değerlerindeki bu artış, hem KMS hem de AF örneklerine göre istatistiksel olarak önemli düzeyde gerçekleşmiştir ( $P<0,05$ ).

Tüketici beğeni testi sonucuna göre karadut sirkesi hem lezzet hemde genel özellik bakımından referans alınan üzüm sirkesine göre daha çok beğenilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Karadut, Sirke, Biyoaktif bileşenler, Antioksidan aktivite, Tüketici beğenisi.

## ABSTRACT

### EFFECT ON BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF MULBERRY FRUIT OF VINEGAR PRODUCT PROCESSING

Fatma İpek MARANGOZ

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Science Department of Food Engineering

Advisor: Yard. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA

25/01/2015, 75

The aim of these thesis is to evaluate black mulberry (*Morus nigra*) which is rich in bioactive compounds for the production of vinegar and to determine changes that will occur in antioxidant capacity together with bioactive compounds in this process. For this purpose, the effects of vinegar production process have been evaluated effects on (1) bioactive compounds (phenolic compound profile, total phenol and monomeric anthocyanin contents) of mulberry, (2) antioxidant properties (TEAC, CUPRAC, DPPH, FRAP) of mulberry, (3) physicochemical properties (pH, water-soluble substance and titration acidity) of mulberry during process and in terms of sensory consumer tastes of black mulberry vinegar that final product. Sample has been taken as black mulberry juice (KMS), after alcohol fermentation (AF) and after acidification (AS) in the vinegar production process that has been performed by means of surface culture method.

Total phenol contents of samples KMS, AF and AS were to 1064,65, 988,84 and 855,55 mg GAE/L respectively, but this decrease has not been found to be significant ( $p < 0,05$ ). The amount of monomeric anthocyanin of sample KMS that initially 190,37 mg siyanidin-3O-glukozit/L have decreased 95,94 mg siyanidin-3O-glukozit/L after 15 days of alcohol fermentation at 20°C and also, 22,13 mg siyanidin-3O-glukozit/L after acidification. Monomeric anthocyanin content that is an important quality of parameter and responsible distinctive color of black mulberry juice has incurred a significant loss about 77% in the vinegar production process.

According to the findings of the the phenolics profile analysis performed with HPLC, principal antocyanins of KMS have been determined as cyanidin-3O-glukoside (115,54 mg/L) and cyanidin-3O-rutinoside (100,04 mg/L). Besides, KMS has been found to have less amount pelargonidin-3O-glukoside (10,96 mg/L). As a result of alcohol

fermentation, compound that incurred most losses with 87,1% was cyanidin-3O-glucoside; cyanidin-3O-rutinoside was also observed to have highest loss after acetification. Moreover, KMS samples have been found to have statistically significant increases in values catechin that is one of the compounds of flavonoid groups, caffeic acid as a compound of the group hydrocinnamic acid and chlorogenic acid as ester of hydrocinnamic acid ( $P < 0,05$ ).

Antioxidant values of KMS, AF and AS were determined according to TEAC assay as 6,78, 6,67 and 10 mg trolox/L; according to DPPH assay values of  $EC_{50}$  as 17,14, 11,93 and as 11,66  $\mu\text{L/mL}$ ; according to CUPRAC assay as 296,22, 295,30 and 404 mg vitC/L and as 354,25, 353,21, 475,5 mgTE/L; according to FRAP assay as 716,28, 820,03 and 869,06 mg vitC/L and as 1091,47, 1252,46, 1328,53 mg trolox/L respectively. Antioxidant activity values of KMS showed an increasing tendency as a result of fermentation processes (alcohol fermentation and acidification). The increase in TEAC, DPPH and CUPRAC values of AS is statistically significant level compared to both KMS and AF samples ( $P < 0,05$ ).

According to results of consumer liking test, the black mulberry vinegar was liked more than grape vinegar in terms of in both taste and general characteristics.

**Keywords:** Black mulberry, Vinegar, Bioactive compounds, Antioxidant activity, Consumer test.

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

|                                                           |      |
|-----------------------------------------------------------|------|
| TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ.....                             | ii   |
| İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....                       | iii  |
| TEŞEKKÜR.....                                             | iv   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                              | v    |
| ÖZET .....                                                | vi   |
| ABSTRACT.....                                             | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                      | xii  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                   | xiii |
| BÖLÜM 1                                                   |      |
| GİRİŞ.....                                                | 1    |
| BÖLÜM 2                                                   |      |
| ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....                                    | 3    |
| 2.1. Biyoaktif Bileşenler ve Antioksidan Aktivite.....    | 3    |
| 2.2. Dut Meyvesi.....                                     | 6    |
| 2.2.1. Dut Yetiştiriciliği.....                           | 6    |
| 2.2.2. Dut Meyvesinin Değerlendirilmesi.....              | 9    |
| 2.2.3. Dut Meyvesi ve Sağlık.....                         | 10   |
| 2.3. Sirke Üretimi.....                                   | 10   |
| 2.3.1. Sirke Üretiminin Tarihi.....                       | 11   |
| 2.3.2. Sirke Çeşitleri.....                               | 11   |
| 2.3.3. Sirkenin Kullanım Alanları.....                    | 12   |
| 2.3.4. Sirke Üretim Mekanizması.....                      | 12   |
| 2.3.5. Sirke Üretim Yöntemleri.....                       | 13   |
| 2.3.5.1. Yavaş Yöntem.....                                | 13   |
| 2.3.5.1.1. Sirke Anası.....                               | 13   |
| 2.3.5.2. Hızlı Yöntem (Alman Yöntemi).....                | 14   |
| 2.3.5.3. Derin Kültür Yöntemi (Submers Yöntemi).....      | 14   |
| 2.3.6. Sirke Üretiminde Kullanılan Mikroorganizmalar..... | 14   |
| 2.3.6.1. Mayalar.....                                     | 14   |
| 2.3.6.2. Asetik Asit Bakterileri.....                     | 15   |
| 2.3.7. Sirke Üretiminde Kullanılan Hammaddeler.....       | 15   |

|                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.3.8. Sirkede Kaliteyi Etkileyen Etmenler.....                              | 16        |
| 2.3.9. Sirke ve Sağlık.....                                                  | 17        |
| <b>BÖLÜM 3</b>                                                               |           |
| <b>MATERYAL VE METOT .....</b>                                               | <b>19</b> |
| 3.1. Materyal.....                                                           | 19        |
| 3.2. Deneme Planı.....                                                       | 19        |
| 3.2.1. Sirke Anası ve Sirke Üretim Süreci.....                               | 21        |
| 3.2.2. Fizikokimyasal Analiz Yöntemleri.....                                 | 22        |
| 3.2.2.1. Titrasyon Asitliği Analizi.....                                     | 22        |
| 3.2.2.2. Suda Çözünür Kuru Madde.....                                        | 22        |
| 3.2.2.3. pH Analizi.....                                                     | 23        |
| 3.2.2.4. Renk Ölçümü.....                                                    | 23        |
| 3.2.2.5. Toplam Fenol Miktarı.....                                           | 23        |
| 3.2.2.6. Monomerik Antosiyanin Analizi.....                                  | 24        |
| 3.2.3. Antioksidan Kapasite Analiz Yöntemleri.....                           | 24        |
| 3.2.3.1. TEAC (Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) Yöntemi.....            | 24        |
| 3.2.3.2. CUPRAC (Bakır İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi.....        | 25        |
| 3.2.3.3. DPPH Yöntemi.....                                                   | 26        |
| 3.2.3.4. FRAP Yöntemi.....                                                   | 26        |
| 3.2.4. Fenolik Bileşen Profiline Belirlenmesi.....                           | 26        |
| 3.2.5. Duyusal Analiz.....                                                   | 29        |
| 3.2.6. İstatistiksel Analiz.....                                             | 30        |
| <b>BÖLÜM 4</b>                                                               |           |
| <b>ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>                                 | <b>31</b> |
| 4.1. Sirke Üretim Sürecinde Fizikokimyasal Değişimler.....                   | 31        |
| 4.2. Sirke Üretim Sürecinde Toplam Fenol Miktarındaki Değişim.....           | 34        |
| 4.3. Sirke Üretim Sürecinde Monomerik Antosiyanin Miktarındaki Değişim.....  | 36        |
| 4.4. Sirke Üretim Sürecinde Fenolik Bileşen Profiline Değişim.....           | 37        |
| 4.5. Sirke Üretim Sürecinde Antioksidan Aktivite Değerlerindeki Değişim..... | 41        |
| 4.6. Duyusal Analiz.....                                                     | 44        |
| <b>BÖLÜM 5</b>                                                               |           |
| <b>SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>                                               | <b>45</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                       | <b>47</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                                        | <b>61</b> |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. Karadut meyvesi ağacı görünümü.....                                            | 7  |
| Şekil 2.2. Karadut meyvelerinin olgunluk derecesine göre görünümü.....                    | 8  |
| Şekil 2.3. Olgun karadut meyveleri.....                                                   | 8  |
| Şekil 2.4. Karadut meyvesinin bölgelere göre üretim miktarı.....                          | 9  |
| Şekil 2.5. Türkiye'de dut meyvesinden elde edilen ürünler.....                            | 10 |
| Şekil 3.1. Karadut sirkesi üretim akım şeması.....                                        | 20 |
| Şekil 3.2. Alkol fermantasyonu düzeneği.....                                              | 21 |
| Şekil 3.3. Toplam fenol miktarı analizi için hazırlanmış gallik asit standart eğrisi..... | 23 |
| Şekil 3.4. TEAC yöntemi için hazırlanan trolox standart eğrisi.....                       | 25 |
| Şekil 3.5. CUPRAC yöntemi için hazırlanan trolox ve vitamin C standart eğrileri.....      | 25 |
| Şekil 3.6. FRAP yöntemi için hazırlanan trolox ve vitamin C standart eğrileri.....        | 26 |
| Şekil 3.7. Siyanidin-3-glukozit standart eğrisi ve regresyon eşitliği.....                | 28 |
| Şekil 3.8. Siyanidin-3-rutinozit standart eğrisi ve regresyon eşitliği.....               | 28 |
| Şekil 3.9. Pelargonidin-3-glukozit standart eğrisi ve regresyon eşitliği.....             | 28 |
| Şekil 3.10. Kateşin standart eğrisi ve regresyon eşitliği.....                            | 28 |
| Şekil 3.11. Klorojenik asit standart eğrisi ve regresyon eşitliği.....                    | 29 |
| Şekil 3.12. Kafeik asit standart eğrisi ve regresyon eşitliği.....                        | 29 |
| Şekil 3.13. Tüketici testi değerlendirme formu örneği.....                                | 29 |
| Şekil 4.1. KMS, AF ve AS örneklerinin antosiyanin profilindeki değişim.....               | 38 |
| Şekil 4.2. KMS, AF ve AS örneklerinin fenolik bileşen profilindeki değişim.....           | 39 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa No

|                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3.1. Fenolik bileşenlerin belirlenmesinde kullanılan gradient programı .....                                                             | 27 |
| Çizelge 4.1. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin pH, SÇKM, TAA ve TAS değerlerindeki değişim .....                                 | 32 |
| Çizelge 4.2. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin renk değerlerindeki değişim .....                                                 | 33 |
| Çizelge 4.3. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin toplam fenol miktarı ..                                                           | 35 |
| Çizelge 4.4. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin monomerik antosiyanin miktarları.....                                             | 37 |
| Çizelge 4.5. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin antosiyanin miktarları .....                                                      | 40 |
| Çizelge 4.6. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin klorojenik asit, kateşin ve kafeik asit miktarları .....                          | 41 |
| Çizelge 4.7. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin TEAC, DPPH, CUPRAC ve FRAP yöntemlerine göre antioksidan aktivite değerleri ..... | 42 |
| Çizelge 4.8. Tüketici testi sonuçları .....                                                                                                      | 44 |

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

İnsan vücudunda, fizyolojik olaylar ve dış faktörlerin etkisiyle oluşan serbest radikaller, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi ciddi sağlık sorunlarının gelişimine neden olmaktadır. Üzümsü meyvelerin içerdikleri antioksidanlar nedeniyle bu hastalıklara karşı koruyucu olabilecekleri düşünülmektedir. Birçoğu yabani olarak yetişen, kendilerine özgü kırmızı-siyah renkte antosiyanin pigmentlerini içeren, botanikte yumuşak etli, sulu ve çoğu kez küçük ve yenilebilen meyvelere sahip yarı çalımı veya çalımı olarak tanımlanan üzümsü meyveler arasında ahududu, yaban mersini, çilek, dut, böğürtlen, frenk ve bektaşı üzümü, mürver yemişi bulunmaktadır. İçerdikleri yüksek miktardaki antosiyanin, fenolik madde ve askorbik asit nedeniyle üzümsü meyvelere ilgi günden güne artmaktadır (Tosun ve Yüksel, 2003; Polat, 2013).

Üzümsü meyveler sınıfında yer alan karadut meyvesi (*Morus nigra*), kendine özgü tadı ve besleyicilik değerinin yanında içerdği önemli düzeyde antosiyaninler, fenolik bileşenler ile dutgiller familyası arasında dikkat çekmektedir. Karadut meyvesi içerdği fenolik bileşikler sayesinde antioksidan özellik göstermektedir. Bununla birlikte, karadut meyvesinin kendine özgü koyu kırmızı-mor rengini sağlayan antosiyaninler, bu meyvelerin önemli flavonoid gruplarını oluşturmaktadır. Karadut meyvesinde bulunan fenolik bileşikler ve fenolik bileşiklerin alt grubu olan flavonoidler sadece antioksidan özellikte olmayıp aynı zamanda antiinflamatuvar, antitrombotik ve antimikrobiyal aktivite gibi sağlığa yararlı etkiler de sağlamaktadır (Liu ve ark., 2004; Kang ve ark., 2006; Aramwit ve ark., 2010; Tomas ve ark., 2015).

Karadut meyvesi her ne kadar içerdği antosiyanin ve gösterdiği yüksek antioksidan aktivite özelliklerinden dolayı fonksiyonel bir gıda olarak düşünülse de, yumuşak bir meyve yapısına sahip olduğundan tüketimi toplama dönemi ile kısıtlı olan bir üründür. Bu nedenle karadut biyoyararlanımı arttırmak için farklı gıda ürünleri üretilmektedir. Nitekim, ülkemizde dut meyvesinden yörelere bağlı olarak dut suyu, dut suyu konsantresi, dut ezmesi, pekmez, reçel, şarap, pestil, cevizli sucuk, köme gibi çeşitli ürünler elde edilmektedir (Aramwit ve ark., 2010; Hepsağ ve ark., 2012).

Üretimi M.Ö. 3000 yıllarına dayanan sirke, sağlık üzerine olumlu etkileri her geçen gün daha iyi anlaşılan ve gıda endüstrisinde kullanımı hergeçen gün artan bir üründür (Yetiman, 2012). Sirke, şeker ve nişasta içeren hammaddelerden alkol ve asit fermentasyonu ile elde edilen fermente bir üründür. Üretiminde kullanılan hammaddeye

bağlı olarak içerdikleri biyoaktif bileşenler sayesinde sirke sağlık üzerine olumlu etkilere sahiptir (Tan, 2003). Samanidou ve ark. (2001), sirkede bulunan biyoaktif maddelerin kanser gelişimini önleyici etkileri ile sağlığımızı koruduklarını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, sirkenin sindirimi kolaylaştırdığı, iştah açıcı ve kalsiyum emilimini desteklediğı, kan basıncını dengelediğı, antitümör etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Ebihara ve Nakajima, 1988; Kishi ve ark., 1999; Kondo ve ark., 2001; Abe ve ark., 2007).

Söz konusu tezin amacı, biyoaktif bileşenlerce zengin karadut (*Morus nigra*) meyvesinin sirke üretiminde değerlendirilmesi ve bu süreçte biyoaktif bileşenler ile birlikte antioksidan kapasitede meydana gelecek değişimlerin belirlenmesidir. Bu kapsamda, sirke üretim sürecinin karadut meyvesinin biyoaktif bileşenleri, antioksidan özellikleri, fizikokimyasal özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bununla birlikte, son ürün karadut sirkesinin duysal açıdan tüketici beğenisi değerlendirilmiştir. Sunulan tez kapsamında değerlendirmeye alınan karadut meyvesinden elde edilen sirkenin, hem biyoaktif bileşenleri ve antioksidan özellikleri hem de duysal beğenisi ilk defa ortaya konulması özgün yönüdür.

## BÖLÜM 2

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

#### 2.1. Biyoaktif Bileşenler ve Antioksidan Aktivite

Meyve ve sebzelerde ikincil metabolizma sonucu biyoaktif bileşenler (fitokimyasallar) oluşmaktadır (Duda ve ark., 2015). Ekstra-besleyici olarak adlandırılan biyoaktif bileşenler, temel besin değerinin ötesinde sağlık üzerine fizyolojik etkisi bulunan ve gıdalarda doğal olarak bulunan gıda bileşenleri olarak tanımlanırlar (Biesalski ve ark., 2009; Marsanasco ve ark., 2015).

Gıdalarda şimdiye kadar belirlenen birçok biyoaktif bileşen kimyasal yapı ve özelliklerine göre; karotenoidler, flavonoidler, klorofiller, fosfolipidler, steroller ve polifenoller olarak sınıflandırılmaktadır. Ayrıca, farmakolojik etkileri ortaya çıkan vitamin ve mineraller de biyoaktif bileşenler olarak kategorize edilmektedir. (Duda ve ark., 2015; Hamzaloğlu ve Gökmen, 2016).

Fenolik bileşikler ve onların altgrubu olan flavonoidler, gıdalarda en fazla bulunan gıda bileşenleri olup, antioksidan özellik gösteren ve kardiyovasküler hastalıklar üzerine olumlu sağlık etkileri oluşturan biyoaktif bileşenlerdir. Diğer taraftan, fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteden sorumlu olduğu ve fenolik madde miktarına bağlı olarak antioksidan aktivitenin de arttığını bildiren birçok çalışma bulunmaktadır. Bunun dışında, flavonoidlerin alt grubu olan ve gıdaların renginden sorumlu antosiyaninler de biyoaktif bileşikler arasında yer almaktadır (Kris-Etherton ve ark., 2002; Chang ve ark., 2007; Perez-Vizcaino ve Duarte, 2010; Ünlüer, 2011; Charoenkiatkul ve ark., 2015; Hamzaloğlu ve Gökmen, 2016;).

Bioaktif karbonil grubu içeren biyoaktif bileşiklerin birçoğu antioksidan özelliklerinin yanında, antiviral, antirombotik, antialerjik antikarsinojik, antiinflamatuvar, antibakterial, antitümör, antiobezite ve antimikrobiyal özelliklere de sahiptir (da Silva ve ark., 2016; Hamzaloğlu ve Gökmen, 2016).

Biyoaktif bileşenlerce zengin gıdalara dayalı diyetin, kanser ve kardiyovasküler gibi kronik hastalıkların oluşma riskini azalttığı, diyabet, alzheimer, katarakt, felç gibi rahatsızlıkları önlediği, bazı yaşlanma belirtilerini azalttığı epidemiyolojik birçok çalışmayla ortaya konulmuştur (Kahraman ve ark., 2002; Kris-Etherton ve ark., 2002; Biesalski ve ark., 2009; Andrés ve ark., 2016; Hamzaloğlu ve Gökmen, 2016).

Bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron içeren kararsız bileşikler serbest radikaller olarak adlandırılmaktadır (Akpoyraz ve Durak, 1995). Son derece reaktif moleküller olan

serbest radikaller kısa ömürlü ve düşük moleköl ağırlığına sahiptirler. Organizmada endojen ve eksojen kaynaklar tarafından üretilen serbest radikallerin kararlı hale gelebilmek için başlattıkları zincirleme reaksiyonlar dizisine bağlı olarak yapısal ve fonksiyonel moleküller zarar görmektedir. Antioksidanlar, vücutta fizyolojik nedenlere bağlı olarak oluşan serbest radikallerin neden olduğu bu reaksiyonları durdurarak hücrelerin zarar görmesine engel olan moleküllerdir (Machlin ve Bendich, 1987; Halliwell, 1989; Akpoyraz ve Durak, 1995; Gökpınar ve ark., 2006; Valko ve ark., 2006, Ekici ve Sağdıç, 2008; Pham-Huy ve ark., 2008; Nizamlioglu ve Nas, 2010; Demir, 2011). Serbest radikallerin hasarının engellenmesinde endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar görev yapmaktadır. Endojen kaynaklı antioksidanların organizmayı serbest radikallerden koruyamadığı durumlarda, eksojen antioksidanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Eksojen antioksidanlar sentetik ilaçlar, bitkiler ve besinler olarak sıralanabilmektedir (Kasapçopur Özer ve Birdane, 2014). Fenolik bileşikler, flavonoidler ve vitaminler gibi eksojen kaynaklı antioksidanların birçoğu bugün yaygın olarak tükettiğimiz gıdalarda bulunmaktadır (Karaman ve ark., 2002). Özellikle meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler ve flavonoidlerin serbest radikallere etki ederek antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinmektedir (Kris-Etherton ve ark., 2002). Bu açıdan, son zamanlarda birçok gıdanın insan sağlığına olumlu etkilerinin onların antioksidan aktivitelerinden kaynaklandığının kabul edilmesiyle bitki kaynaklı antioksidan maddeler üzerine çalışmalar artmıştır (Gülçin, 2012). Serbest radikal yakalama kapasiteleri ve antioksidan aktiviteye sahip olmaları nedeniyle antioksidanlar kanser ve kardiyasküler düzensizlikler gibi kronik hastalıklara karşı koruyucu etki sağlamaktadır (Kahraman ve ark., 2002).

Antioksidan bileşiklerin antioksidatif kapasiteleri çeşitli yöntemlerle belirlenmektedir. Çeşitli mekanizmalar boyunca farklı radikallerin rol aldığı antioksidan kapasite analiz yöntemleri, elektron transferi (ET) ve hidrojen atom transferine (HAT) olarak iki gruba ayrılmaktadır (Huang ve ark., 2005; Re ve ark., 1999). HAT yöntemleri, oksijen radikal absorbans kapasite (ORAC), toplam radikal toplayıcı antioksidan parametre (TRAP) ve krosin ağartma yöntemini içerirken; ET yöntemleri, Folin-Ciocalteu ayracı ile toplam fenol analizi (FRC), troloks eşiti antioksidan aktivite (TEAC), demir iyonu indirgeyen antioksidan güç (FRAP), bakır (II) kullanan toplam antioksidan aktivite yöntemi (CUPRAC), ve DPPH yöntemlerini içermektedir (MacDonald-Wicks ve ark., 2006).

Elektron transferine dayanan analizde; renkli oksidan bileşik olan radikal, antioksidan maddeden redoks reaksiyonu ile elektron almakta ve bunun sonucu olarak

radikalde antioksidan konsantrasyonuna bağı olarak renk değişimi meydana gelmektedir. Kısaca, ET temelli yöntemler substratın (antioksidan) indirgeyici yeteneğini ölçmektedirler. Hidrojen transferi esasına dayalı yöntemde ise antioksidan bileşik, floresan özellikte okside olabilir madde olan bir prob ile yarışa girerek bu bileşiğin radikal ile oksidasyonunu geciktirmekte veya önlemektedir (Huang ve ark., 2005).

Hem ET temeline dayanan hem de HAT temeline dayanan analizlerde kullanılan radikallerin özelliklerine göre belli avantaj ve dezavantajlar bulunmaktadır (Albayrak ve ark., 2010; Büyüktuncel, 2013). Bu araştırmada kullanılması sebebiyle, ET temeline dayanan TEAC, DPPH, CUPRAC ve FRAP yöntemlerinin bazı avantaj ve dezavantajları verilmiştir.

Uygulaması kolay olan TEAC yönteminde kullanılan ABTS radikalının geniş pH aralıklarında kararlı olması sulu ve organik çözücülerde çözünebilmesi pek çok çalışmada kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Lipofilik ve hidrofilik karakterde bileşiklerin antioksidan kapasitesini ölçmek için kullanılabilen TEAC yönteminin, redoks potansiyeli 0.68 V'dir. Bu açıdan redoks potansiyeli 0,70 V olan FRAP yöntemiyle benzer sonuçlar vermektedir. Ancak TEAC analizi nötr pH'da gerçekleştirilirken, FRAP analizi demiri çözmek için asitli koşullarda (pH 3,60) gerçekleştirilmektedir. FRAP yöntemi hızlı ve basit olmasına rağmen, antioksidan özellik göstermeyen bileşiklerin demiri indirgemesi dezavantaj oluşturmaktadır. Demir iyonunu esas alan FRAP yöntemi antioksidan kapasitesi için uygun değildir ( Benzie, 1996; Benzie ve Strain, 1996; Prior ve Cao, 1999; Re ve ark., 1999; Lemańska ve ark., 2001; MacDonald-Wicks ve ark., 2006; Osman ve ark., 2006). DPPH radikali ise organik çözücülerde çözünebilirken, sulu ortamda DPPH'nin koagüle olması nedeniyle antioksidanlarla kolay reaksiyona girememektedir (MacDonald-Wicks ve ark., 2006; Magalhães ve ark., 2008; Lo Scalzo, 2008). CUPRAC yönteminde kullanılan radikalın şeker ve sitrik asit ile okside olmaması, hava, güneş ışığı, pH ve nem gibi parametrelerden etkilenmemesi, ABTS ve DPPH gibi radikallerden daha kararlı olması avantajları arasında söylenebilmektedir (Apak ve ark., 2004; Huang ve ark., 2005; MacDonald-Wicks ve ark., 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, karadut meyvesinin içerdii fitokimyasal bileşikler nedeniyle doğal antioksidan olduğunu göstermektedir (Ercişli ve Orhan, 2007; Özgen ve ark., 2009; Kutlu ve ark., 2011; Boranbeyava, 2011; Kostic ve ark., 2013; Kamiloğlu ve ark., 2013, Tomas ve ark., 2015).

## 2.2. Dut Meyvesi

Dut, *Urticales* takımında yer alan *Moraceae* ailesinin *Morus* cinsine dahil edilmektedir (Hepsağ ve ark., 2012; Koyuncu ve ark., 2014; Budak, 2015). Ilıman, tropik ve subtropik gibi farklı iklim ve toprak şartlarına uyum yeteneği ile dünyanın pek çok yerinde yetişen ve kozmopolitik olarak adlandırılan dut ülkemizde de hemen hemen her ilde yetişen bir meyve türüdür (Martín ve ark., 1997; Çam ve Türkoğlu, 2004; Erdoğan ve Pırlak, 2005; Özgen ve ark., 2009; Imran ve ark., 2010; Kostić ve ark., 2013).

Dut meyvesinin kuşlar tarafından sevilerek yenmesi ve tohumlarının taşınması dut türlerinin orijini konusunda fikir ayrılıklarına neden olmaktadır. Dutun ilk orijini Vijayan ve ark.,(2004)'e göre Himalayalar, Vavilov (1926)'a göre ise Çin ve Japonya olduğu bildirilmektedir (Aktan ve Kalkan, 2011). Dut meyvesindeki tür sayısı hakkında da farklı görüşler bulunmaktadır. Freeman (1978) 14; Hou (2002), 14; Koidzumu (1917) 24 ve bir alt tür; Candolle (1967) 10 -12 dut türü olduğundan bahsederken, Martin ve ark., (2002) 30'un üzerinde türün bulunduğunu, Datta (2002), 68' fazla türün olduğunu bildirmektedir (Yılmaz ve ark., 2012).

Dünyada yaygın olarak 10-12 türün yetiştiği kabul edilmektedir. Bunlar; Karadut (*Morus nigra*), Beyaz dut (*Morus alba*), Çin dutu (*Morus australis*), Afrika dutu (*Morus mesozygia*), Moğol dutu (*Morus mongolica*), Teksas dutu (*Morus microphylla*), Kırmızı dut (*Morus rubra*), Himalaya dutu (*Morus serrata*), Ihlamur yapraklı dut (*Morus tiliaefolia*), *Morus trilobata*, *Morus cathayana*, *Morus liboensis*, *Morus notabilis* olarak sıralanabilir (De Candolle, 1967).

Deniz seviyesinden çok yükseklerle kadar geniş bir alanda yetişen dut ağacının yaygın türlerinden beyaz dutun anavatanı Japonya, Tayland, Çin; karadutun anavatanı Türkiye, İran, Kafkasya, Suriye; kırmızı dutun anavatanı ise K. Amerika'dır (Ercisli ve Orhan, 2007; Ercisli, 2004; Yılmaz ve ark., 2012).

### 2.2.1. Dut Yetiştiriciliği

Dut kışın yapraklarını döken, derin köke sahip çok yıllık odunsu bir bitkidir. Ayrıca hızla büyüyen dut çalı yada bodur ağaç formunda, yapraklarının şekli lobsuz ya da 1-5 loblu olabilmektedir (Datta, 2002). Yetiştirilmesi için ideal sıcaklık aralığı 24-28°C ve ideal toprak pH'ı 6,5-6,8 arasındadır (Martín ve ark., 1997; Butkhup ve ark., 2013). Yıllık yağış isteği 600-2500 mm civarında olan dut ağacı az yağışlı yerlerde sınırlı gelişim gösterirken fazla yağış ve aşırı sulama yapraklardaki protein ve karbonhidrat içeriğini düşürmektedir. Toprak yapısı olarak tuzlu topraklar hariç kireçli, kuru, kurak ve kumlu her tip toprak

yapısında yetişebilmektedir. Sığ toprakları sevmeyen dut ağacı derin topraklarda iyi gelişim göstermektedir (Datta, 2002).

Karadut ağacı 10 -15 m boyunda, kalın dallı geniş tepeli, gövdeleri esmer gri renkte, sürgünleri tüylüdür. Yapraklar geniş yumurta biçiminde 6 -12 cm boyunda, yaprak uçları kısa damla, dip kısmı derin yürek şeklinde, kenarları dişli ve parçalıdır (Yiğit ve ark., 2007).



Şekil 2.1. Karadut meyvesi ağacı görümünü

Karadut meyveleri 2-3 cm büyüklüğünde, yaklaşık olarak 5-6 g ağırlığındadır (Elmaci ve Altug, 2002). Olgunlaşmaya başlayan meyve parlak kırmızı renkte iken, tam olgunlaşmış meyve siyaha çalan kırmızı renktedir (Yiğit ve ark., 2007). Ekşi tada sahip karadut meyvesinin ana bileşenleri şeker ve sitrik asit, malik asit, tannik asit gibi organik asitlerdir. 100 g karadut meyvesinde 0.9 protein, 60 mg kalsiyum, 93 kcal enerji, 19,8 g karbonhidrat, 1.1 mg demir, 1.1 g yağ, 0,05 mg tiamin, 0,9 g ham lif, 0.2 mg niasin, 0.07 mg riboflovin ve 17 mg kalsiyum bulunmaktadır (Elmaci ve Altug, 2002; Kobus-Cisowska ve ark., 2013).



Şekil 2.2. Karadut meyvelerinin olgunluk derecesine göre görünümü

Dut meyvesinin hasat dönemi batı bölgelerinde 15-20 gün gibi kısa bir süre iken doğu bölgelerinde bu süre Mayıs-Eylül ayları arasını içermektedir (Erdoğan ve Pırlak, 2005).

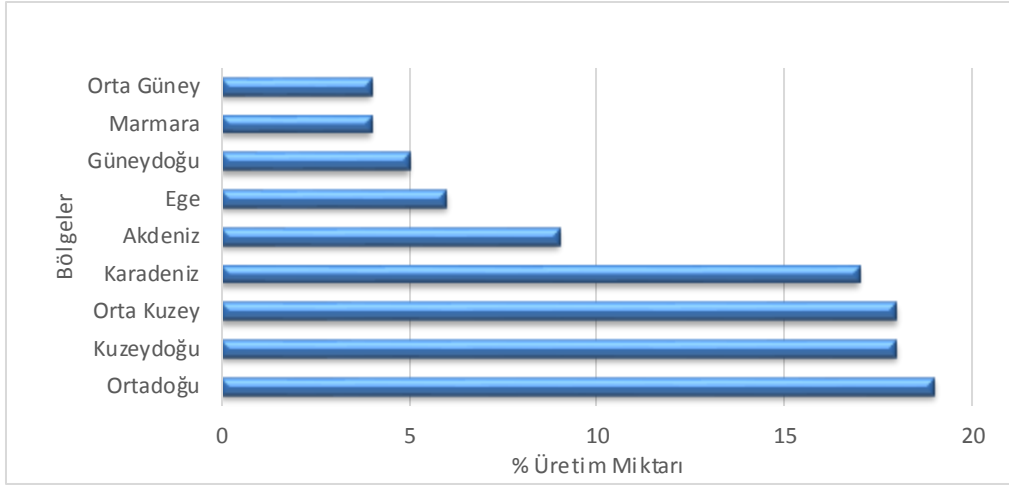


Şekil 2.3. Olgun karadut meyveleri

Ülkemizde yerel genotipleri bulunan dut meyvesi henüz kültüre alınmamış bir meyve türüdür. Farklı iklim koşullarında üretilebilmesi, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı oluşu organik yetiştiriciliği mümkün kılmaktadır (Ercisli ve Orhan, 2008).

Ülkemizde en çok İç Anadolu, Doğu ve Güney Doğu Anadolu bölgesinde yetişen dutların %95'i *Morus alba*, %3'ü *Morus rubra*, %2'si *Morus nigra* türüne aittir (Ercisli, 2004; Orhan ve Ercisli, 2010). Erzincan, Ankara, Adıyaman, Elazığ ve Malatya illerinde dut üretimi fazla miktarda yapılmaktadır (Polat, 2013). Karadut meyvesi özellikle Çoruh

vadisiyle birlikte Türkiye'nin kuzeydoğu kısmında yaygın olarak yetiştirilmektedir (Ercisli ve Orhan, 2008).

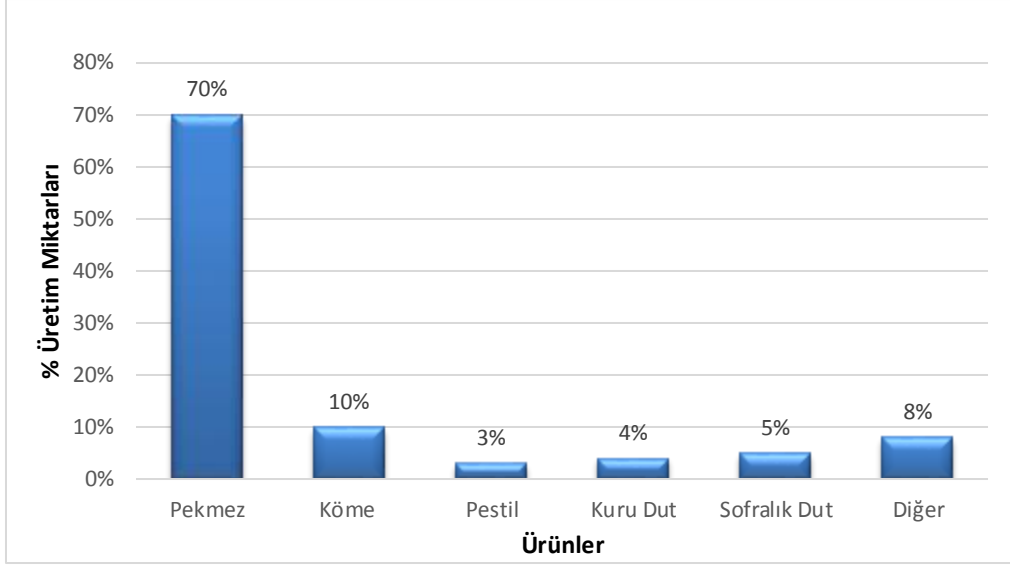


Şekil 2.4. Karadut meyvesinin bölgelere göre üretim miktarı (Erdoğan ve Pırlak, 2005; Ünlüer, 2011)

### 2.2.2. Dut Meyvesinin Değerlendirilmesi

Dut'un hem bitkisi hem meyvesi farklı alanlarda değerlendirilmektedir ( Polat, 2004; Erdoğan, 2005). Önemli bir enerji ve vitamin kaynağı olan dut meyvesi, anavatanı ve doğal yayılış alanı olan ülkemizde endüstriyel olarak yeterince değerlendirilememesine rağmen, yöresel olarak dut suyu, pekmez, pestil, reçel, dut ezmesi, cevizli sucuk, meyve suyu konsantresi, köme, sirke gibi ürünlerin eldesinde kullanılmaktadır (Erdoğan ve Pırlak, 2005; Erdoğan, 2005; Koyuncu ve ark., 2014). Ülkemizde dut en fazla pekmez, köme ve pestil üretiminde değerlendirilmektedir. Ayrıca ekmek, çörek, pay, puding yapımında da kullanılmaktadır (Polat, 2013).

Meyve kalitesi bakımından üstün birçok genotipe sahip ülkemizde dut kerestesinden yararlanılmak amacıyla kesilerek yok edilmektedir (Erdoğan, 2005). Ayrıca dut ağacı kağıt üretiminin yanı sıra çuval, mobilya, sandık ve bazı müzik aletlerinin yapımında da kullanılmaktadır (Polat, 2004; Erdoğan ve Pırlak, 2005). Kuru dut dalları mantar üretiminde kullanılmaktadır (Huo, 2002). Özellikle Çin ve Hindistan'da dut, yüksek protein içeren yapraklarının ipekböceğinin (*Bombyx mori*) beslenmesinde kullanılmasıyla önem kazanmış ve önemli bir ekonomik bileşen oluşturmuştur (Datta, 2002). Yine dut yaprakları yüksek sindirilebilirlikleri nedeniyle tek mideli ve geniş getiren hayvanların beslenmesinde kullanılmaya uygundur (Trujillo, 2008).



Şekil 2.5. Türkiye’de Dut Meyvesinden Elde Edilen Ürünler (Polat, 2013)

### 2.2.3. Dut Meyvesi ve Sağlık

Dut ve dut ürünleri astım, nezle, öksürük, ishal, ödem, hazımsızlık, ateş, baş ağrısı, kansızlık, hipertansiyon, diyabet gibi rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Ayrıca dut meyvesinin yara tedavi edici özelliği ve özellikle karadut meyvesinin bebeklerde görülen pamukçuğa karşı etkisi nedeniyle halk arasında uzun yıllardır ilaç niyetine kullanıldığı bilinmektedir (Elmaci ve Altug, 2002; Memon ve ark., 2010; Issa ve Abld-Aljabar, 2013). Dut; uyku ve sinir bozukluğu, saçların beyazlaması, romatizma, spazm, astım, akciğer problemlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (Erdoğan ve Pırlak, 2005). Dut meyvesinden izole edilen pigmentlerin yaşlanmayı geçiktirici ve antihiperlipidemi özellikler gösterdiği bilinmektedir (Lee ve ark., 2014). Karadut meyvesi ağız yaralarını ve birçok kanser türlerini önleyerek tedavi etmektedir (Tokbaş, 2009).

### 2.3. Sirke Üretimi

Genellikle yemek ve salatalarda tatlandırıcı, salamuraalarda koruyucu olarak kullanılan ve fermente bir ürün olan sirke sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı pazarda her geçen gün talebi artan bir üründür (Yetiman, 2012).

Etil alkolün asetik asit bakterileri tarafından asetik aside dönüştürüldüğü bir biyokimyasal olayın ürünü olan sirke; berrak ve hammaddeye göre değişen renge sahip sulu bir üründür (Aktan ve Kalkan, 2011).

Türk Standartları Enstitüsü (1880 EN 13188) sirke standardında belirtilen tanımıyla sirke; "Tarım kökenli sıvılar veya diğer maddelerden, iki aşamalı alkol ve asetik asit

fermantasyonu ile biyolojik yolla üretilen kendine özgü ürün” olarak tanımlanmıştır (Anonim, 2003).

Sirke Dünya Gıda ve Sağlık Örgütü (FAO/WHO) gıda standardında ise; “iki fermentasyon ile (alkol ve asetik asit fermentasyonu), nişasta ve/veya şeker içeren tarımsal kökenli hammaddelerden üretilen, insan tüketimi için uygun olan bir sıvıdır” şeklinde tanımlanır (Anonim, 2000).

### 2.3.1. Sirke Üretim Tarihi

Bilinen en eski kullanımı 10.000 yıl öncesine dayanan sirke hemen hemen 5000 yıldır üretilip satılmaktadır. Babillilerin 6. yüzyıla kadar meyve, bal ve malt sirkelerini üretilip sattıkları ve ilaç amacıyla sirkeyi kullandıkları eski ahitlerde ifade edilmiştir. Çin’de 10. yüzyılda adli tıp alanının geliştirilmesinde katkı sağlayan Sung Tse’nin enfeksiyonları önlemek için elleri yıkama ajanı olarak sülfür ve sirkeyi kullandığı bilinmektedir. Ayrıca 18. yüzyılda ise ABD tıp uzmanlarının ödem, yüksek ateş, karın ağrısı gibi birçok hafif hastalığın tedavisinde sirkeyi kullandığı görülmüştür (Tan, 2003; Budak ve ark., 2014).

Her ne kadar sirke tarihi çok eskilere dayansa da sirke üretimindeki teknolojik olayların anlaşılması 1600’lü yıllarda olmuştur. Becher, 1653-1682 yıllarında sirke yapımında oksijenin gerekli olduğunu belirttikten sonra Persoon, 1812 yılında alkollü sıvılarda oluşan *Mycoderma* adını verdiği yüzeydeki pıhtının sirke üretimini gerçekleştirdiğini ileri sürmüştür. 1837 yılında Kutzing sirke yüzeyindeki bu zarı mikroskopta inceleyerek "ulvino asidi" adını verdiği tek hücreli bu canlının asetik asiti oluşturduğunu bulmuştur. Pastör 1868’de asetik asit bakterilerinin kısa çubuklu olarak tanımlandıktan sonra bu bakterilere *Mycoderma aceti* adını vermiştir. Hansen 1878 yılında *Mycoderma aceti* bakterisinin *A. Aceti* ve *A. Pasteurionum* olarak iki çeşidi olduğunu ortaya koymuştur. Tüm bu gelişmeler sirke üretiminde asetik asetik fermentasyonunun anlaşılmasına olanak sağlamıştır (Aktan ve Kalkan, 2011).

### 2.3.2. Sirke Çeşitleri

Türk Standartları Enstitüsü (1880 EN 13188) sirke standardında sirke çeşitleri, üretilen hammaddeler açısından; meyve sirkesi, şarap sirkesi, alkol sirkesi, tahıl sirkesi, aromalı sirke, meyve şarabı sirkesi, elma sirkesi, malt sirkesi vb. olarak belirtilmiştir. (Anonim, 2003).

Dünyada farklı hammaddelerden üretilmiş sirke çeşitleri vardır. Örneğin İspanya’da

sherry sirkesi (Callejón ve ark., 2012), ABD’de tarhun sirkesi (Aykın, 2013), Japonya’da mor tatlı patates ve pirinç sirkesi (Shimoji ve ark., 2002; Matsui ve ark., 2004), Filipinler’de bambu sirkesi (Tan, 2003), Kombu’da kombu sirkesi (Malbasa, 2008), Güneydoğu Asya’da hindistan cevizi sirkesi (Saeki ve ark., 1997) bulunmaktadır.

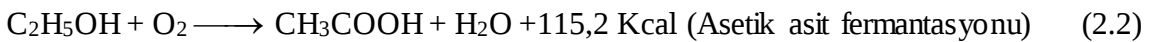
### 2.3.3. Sirkenin Kullanım Alanları

Sirke genellikle yemek ve salatalarda tatlandırıcı olarak kullanılmasının yanında asitlendirici, tat geliştirici ve koruyucu olarak başta turşu, ketçap, mayonez, salça, konserve ve soslar gibi birçok gıda üretiminde kullanılmaktadır (Yetiman, 2012; Tan, 2003). Ayrıca sirke Japonya başta olmak üzere bazı ülkelerde sirke içecekleri olarak seyreltilerek çok eski zamanlardan beri tüketilmektedir (Nandasiri, 2012). Sirkenin bir diğer kullanım alanı ise yüksek asit içeriği nedeniyle mikroorganizmaları inhibe edici özelliklerinden dolayı dezenfektan olarak kullanılmasıdır. Sirkelerde hammadde çeşitliliğine bağlı olarak antimikrobiyal özellikler değişmekte olup, üzüm sirkelerinin antimikrobiyal özelliklerinin elma sirkelerine göre daha fazla olduğunu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Kadaş, 2013; Elhan, 2014).

### 2.3.4. Sirke Üretim Mekanizması

Sirke üretimi, mayalar tarafından fermente olabilir şekerlerin anaerobik koşullarda etil alkole dönüştürülmesi ve ardından etil alkolün seyreltilmiş haliyle *Acetobacter spp.*, *Gluconobacter* ve *Gluconacetobacter* gibi asetik asit bakterileri tarafından oksidasyonu sonucu asetik aside dönüştürülmesi ile gerçekleştirilmektedir (Elgün, 2011; Aykın, 2013). Sirke üretimi birbirini takip eden iki fermantasyon prosesi sonucu üretilmektedir (Casale ve ark., 2006; Callejón ve ark., 2012).

Birinci aşamada; mayalar anaerobik yolla şekerleri etil alkole çevirirler. İkinci aşamada, üretilen alkol sirke bakterileri tarafından aerobik koşullarda asetik aside okside olurlar (Akbaş, 2008; Aktan ve Kalkan, 2011).



Sirke üretiminde etanolün asetik aside dönüşüm mekanizması iki biyokimyasal reaksiyon aracılığı ile gerçekleşmektedir. Öncelikle alkol dehidrogenaz enzimi aracılığı ile

etanol asetaldehite oksitlenir, ardından aldehit dehidrogenaz enzimi aracılığı ile asetaldehit, asetik aside dönüştürülür. Her iki reaksiyonda da elektron transferi moleküler oksijen aracılığıyla gerçekleşmektedir (Elibol, 2009).

### **2.3.5. Sirke Üretim Yöntemleri**

Sirke üretim yöntemleri yavaş, hızlı ve derin kültür yöntemi olarak 3 gruba ayrılmaktadır (Aktan ve Kalkan, 2011).

#### **2.3.5.1. Yavaş Yöntem**

Geleneksel yöntem olan ve yüzey kültür yöntemi olarak da bilinen yavaş yöntemde alkollü sıvı içerisine pastörize edilmemiş keskin sirke (%25-30) ilave edilip 6-8 hafta gibi uzun bir süre 28-30°C'de bekletilmesi ile sirke oluşumu sağlanmaktadır (Akbaş, 2008; Yetiman, 2012). Uzun süren fermantasyon ile sirke anası olarak bilinen bir zar yüzeyde oluşmaktadır (Aykın, 2013; Elibol, 2009). Sirkeleşmenin tamamlandığı, oluşan sirke anasının kendiliğinden sıvının dibine batması suretiyle yada sıvı içeriğindeki alkol ve asit miktarlarına bakılarak belirlenir (Yetiman, 2012). Sirkeleşme sürecinde aşırı oksidasyon olayının engellenmesi için alkol oranı % 0.5-1 olduğu durumda asetik asit fermantasyonu durdurulur (Akbaş, 2008).

Yavaş yöntem ile elde edilen sirkeler enzim, mineral madde, iz element, vitamin, pektin, malik ve tartarik asit gibi sağlık açısından önemli bileşiklerce daha zengin olduklarından diğer yöntemlerle elde edilen sirkelere kıyasla daha kaliteli olmaktadır (Akbaş, 2008; Kadaş, 2013).

##### **2.3.5.1.1. Sirke Anası**

Şarap, bira gibi alkol içeren sıvılar bir kapta üstü açık bir şekilde hava ile temas etmesi sağlandığında sıvının yüzeyinde asetik asit bakterilerinin oluşturduğu jelatinimsi bir zar meydana gelir. Bu zar sirke anası olarak isimlendirilmektedir (Aykın, 2013).

Sirke anası, çözünür selülozik, kalın ve sert bir tabakaya sahip asetik asit bakterileri tarafından sirke yüzeyinde oluşturulan toksik olmayan bir salgıdır. İlk olarak *Acetobacter xylinum*'da tespit edilen selülozik yapı düzgün miselli tam bir ağ yapıya ve yüksek su tutma kapasitesine sahiptir. Bakteriyel selüloz, bitkisel selülozdan farklı olarak pektin, lignin, hemiselüloz ve diğer yan ürünler bulundurmamaktadır (Klemm ve ark., 2001).

### **2.3.5.2. Hızlı Yöntem (Alman Yöntemi)**

Sirke üreten işletmelerin tercih ettiği yöntem olan hızlı yöntemde yüzey alanı bakterilerin tutunacağı malzemelerle kaplanarak 3-7 gün gibi kısa sürelerde sirke oluşumu gerçekleştirilmektedir (Akbaş, 2008; Yetiman, 2012). Böylece asetik asit bakterilerinin hava ile teması daha fazla sağlanarak sirkeleşme süresi kısaltılmaktadır. Yüzey alanını genişletmek için jenaratör adı verilen tanklarda yonga, taneleri alınmış mısır koçanı, cibre veya çalı demeti kullanılabilmektedir (Budak, 2010; Aykın, 2013).

### **2.3.5. 3. Derin Kültür Yöntemi (Submers Yöntemi)**

Günümüzde kullanılan derin kültür yönteminde sirke üretimi diğer yöntemlerin aksine mayşe içinde gerçekleştirilir. Bu yöntemde hızlı yöntemde kullanıldığı gibi dolgu materyali kullanılmaz. Sirke bakterisi ile aşılanmış alkollü sıvı içerisine hava verildiğinden bakteriler sıvı içerisinde çalışır. Derin kültür yönteminde 24-48 saat gibi kısa bir süre zarfında asetik asit cinsinden %8-9 asitlik değerine ulaşılmaktadır. Bu metotla üretilen sirkelerde %12'den yüksek miktarlarda asetik asit oluşturulması mümkündür. Bu yöntem ile sirke üretimi diğer yöntemlere göre 30 kat daha hızlı, daha yüksek verimli ve sürekli bir sistem olmasından dolayı günümüzde sirke sanayiinde tercih edilmektedir (Akbaş, 2008; Budak, 2010; Yetiman, 2012).

### **2.3.6. Sirke Üretiminde Kullanılan Mikroorganizmalar**

Sirke üretiminde mayalar, alkol fermentasyonu ile hammaddede bulunan şekeri etil alkole dönüştürürken; asetik asit bakterileri ise alkol fermentasyonunda oluşan etil alkolün asetik aside oksitlenmesinde görev alırlar (Yetiman, 2012).

#### **2.3.6.1. Mayalar**

Sirke üretim basamaklarından olan alkol fermentasyonunda alkol üretimi hammaddenin yüzeyinde bulunan doğal flora ile gerçekleşebileceği gibi seçilmiş mayalarlada gerçekleşebilir (Aykın, 2013).

Sirke üretiminde şarap starteri olarak kullanılan maya *Saccharomyces cerevisiae*'dir. Yüksek şeker ve düşük azot içeren ortamlarda gelişme yeteneğine sahip olan *Saccharomyces cerevisiae* hammaddede bulunan şekeri etil alkole dönüştürerek alkol fermentasyonunu gerçekleştirir (Cocolin ve ark., 2004; Aykın, 2013).

Şeker içeren hammaddeler *Saccharomyces cerevisiae* gibi maya ile fermentasyona uğratıldığında birincil ürün olarak etil alkol ve karbondioksit oluşur. Bu ürünlerin yanında

fermantasyon sırasında fermentasyonu gerçekleştiren maya ve fermentasyon ortamındaki koşullara bağlı olarak aroma maddeleri de oluşmaktadır. Maya tarafından oluşturulan aroma maddeleri; yüksek alkoller, esterler, organik asitler ve karbonil bileşikler'dir (Erten, 2003).

Alkol fermentasyonunda kullanılacak mayanın; yüksek şeker konsantrasyonlarında çalışabilme, şekerin tamamını fermente edebilme, yüksek etil alkole dayanıklılık, özgün aroma oluşturabilme, fermentasyondan sonra kolayca dibe çökebilme, düşük ve yüksek sıcaklığa dayanabilme, düşük seviyede uçar asit oluşturabilme, düşük seviyede köpük oluşturma, yüksek fermentasyon hızına sahip olmalıdır ( Nikolaou ve ark., 2006; Bağder, 2008; Budak, 2010).

#### **2.3.6.2. Asetik Asit Bakterileri**

Sirke üretiminde kullanılan asetik asit bakterileri; *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter hansenii*, *Acetobacter lovaniensis*, *Acetobacter liquefaciens*'dir (Budak, 2010). Genellikle sirke üretiminde *Acetobacter*, *Gluconobacter*'e kıyasla daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Yetiman, 2012).

Gram negatif veya değişken gram yapısında olan asetik asit bakterileri zorunlu aerobtur (Cleenwerck ve De Vos, 2008). Büyük çoğunluğu etil alkolden asetik asit üretimine sebep olan asetik asit bakterileri şeker içeren organik maddelerin özellikle meyvelerin üzerinde ve havada bulunurlar. Mikroskopta bakıldığında tek, çift, küme veya zincir halinde görülen, elipsoid veya silindirik hücre yapısına sahip bakterilerdir. Hücre genişlikleri 0,4-1 µm arasında, hücre uzunlukları 0,8-4,5 µm arasında değişiklik göstermektedir. Asetik asit bakterileri metabolizmalarında son elektron alıcısı olarak oksijeni kullanırlar. Oksijenin olmadığı ortamlarda quinonlar gibi diğer terminal elektron alıcılarının varlığı asetik asit bakterilerinin anaerobik koşullarda da yaşamlarını sürdürebilmelerini sağlamaktadır. Olumsuz ortam koşullarına karşı dayanıklılık için endospor oluşturmazlar. Katalaz pozitif ve oksidaz negatiftirler. Gelişimleri için optimum sıcaklık 25-30°C arasında değişiklik gösterdikleri için mezofilik mikroorganizmalardır. Optimum pH aralığı 5-6,5'dir (Budak, 2010; Yetiman, 2012; Kadaş, 2013). Asetik asit bakterileri; arabinoz, fruktoz, galaktoz, mannitol, mannoz, riboz, sorbitol ve ksiloz gibi şekerleri karbon kaynağı olarak kullanmaktadırlar ( Yetiman, 2012; Aykın, 2013).

#### **2.3.7. Sirke Üretiminde Kullanılan Hammaddeler**

Birçok botanik tür insan sağlığına olumlu etkilerinden ve içerisinde fermente

edilebilir şeker bulundurmasından dolayı sirke üretiminde kullanılmaktadır. Sirke üretiminde kullanılan botanik türler 4 gruba ayrılabilir (Solieri ve Giudici, 2009);

- a. Asidik ve kolay fermente olabilenler: pH'ı 3,5'dan düşük olanlardır (Üzüm, elma, erik, böğürtlen vb.).
- b. Orta asitlikte ve kolay fermente olabilenler: pH'ı 3,5-4,5 arasında olanlardır (İncir, hurma).
- c. Düşük asitlikte ve kolay fermente olabilenler: pH'ı 4,5 üzerinde olanlardır (Palm özsuyu).
- d. Fermente olamayanlar: fermantasyondan önce hidroliz edilmiş, parçalanmış olmaları gerekmektedir (Tohumlar vb.).

Dünyada sirke üretiminde sebze kaynaklı olarak pirinç, bambu özsuyu, malt, palm özsuyu, arpa, darı, buğday, sorgum, çay ve şeker, soğan, domates gibi hammaddeler kullanılırken; meyve kaynaklı olarak şeker kamışı, elma, üzüm, hindistan cevizi, hurma, mango, hünnap, ahududu, siyah kuş üzümü, böğürtlen, dut, erik, yaban mersini, cennet hurması gibi hammaddeler, hayvansal kaynaklı olarak ise; peynir altı suyu, bal gibi farklı bitkisel kaynaklı hammaddeler kullanılmaktadır. Ancak en çok sirke üretimi yapılan hammaddeler; elma, armut, üzüm, bal, şuruplar, tahıllar, hidrolize olmuş nişastalar, bira ve şaraptır (Budak, 2010; Yetiman, 2012).

### **2.3.8. Sirkede Kaliteyi Etkileyen Etmenler**

Sirkenin karakteristik özellikleri; hammadde, iklimsel koşullar ve mikrobiyal flora gibi etmenlere bağlı olarak değişmektedir (Yetiman, 2012). Ayrıca fermantasyonun gerçekleşmesi için optimum pH, sıcaklık, etanol ve asit konsantrasyonu, oksijen, kükürtdioksit veya inhibitörler gibi faktörler kaliteyi etkilediklerinden dolayı dikkate alınması gereken parametrelerdendir (Budak, 2010).

Tür, hava şartları, toprak yapıları gibi etkenlere bağlı olarak değişen hammadde bileşimi sirke bileşimini doğrudan etkilediğinden üretilen sirkelerin kalitesi açısından hammaddenin kimyasal bileşimi önem teşkil etmektedir (Akbaş, 2008).

Sirke üretiminde üretim yöntemi ve uygun koşulların oluşturulması sirke kalitesini etkileyen bir diğer parametredir. Sirke üretim yöntemlerinden olan yavaş yöntem ile üretilen sirkelerin diğer yöntemlerle üretilen sirkelere göre daha zengin aroma bileşenlerine sahip olması üretim yönteminin sirke kalitesi açısından önemini göstermektedir. Ayrıca sirke üretiminde kullanılan sirke bakterilerinin 15°C'nin altında ve

40°C'nin üstündeki sıcaklık değerlerinde çalışma faaliyetlerinin azalması göz önüne alındığında sıcaklığın sirke üretiminde önemli bir faktör olduğu söylenebilmektedir. Bu açıdan sirke bakterilerinin faaliyeti için optimum sıcaklık aralığının 28-30°C olarak belirlenmesi gerekmektedir (Akbaş, 2008; Elgün, 2011). Diğer taraftan sirke bakterilerinin %13 ve üzerindeki alkol ortamlarında faaliyet gösterememesi, sirke üretim sürecinde alkol konsantrasyonunun önemli olduğunu göstermektedir. Sirke bakterileri için en uygun alkol oranının %10 olduğu göz önüne alındığında sirke üretiminde yüksel alkol içeren yarımamüllerin su ile seyreltilerek alkol oranı düşürüldükten sonra sirkeleşmeye bırakılması gerekmektedir (Akbaş, 2008). Asetik asit fermantasyonu bir oksidasyon işlemi olduğundan ve oksijenin fazlalığı sirke bakterilerinin çalışmasını hızlandırdığı göz önüne alındığından sirke üretim sürecinde oksijen gerekli ve önemli olan bir diğer parametredir (Akbaş, 2008; Elgün, 2011).

### **2.3.9. Sirke ve Sağlık**

Sirkenin sağlık üzerine olumlu etkisi, kimyasal bileşiminde bulunan organik asit, fenolik bileşik, alkol, amino asit, tat ve uçucu bileşenlerin kompozisyonu ve miktarına bağlıdır (Yetiman, 2012).

Yapılan araştırmalarla sirkenin sağlığa faydalı olduğu ve antibakteriyal aktivitesinin yanı sıra kan basıncını düşürücü, antioksidan, şeker hastalığı etkilerini azaltıcı, kardiyovasküler hastalıkları önleyici, karaciğerde yağlanmayı azaltıcı ve egzersiz sonrası enerji sağlayıcı gibi birçok biyolojik fonksiyonu belirlenmiştir (Nishidai ve ark.,2000; Ogawa ve ark., 2000; Fusihimi ve ark., 2001; Kondo ve ark., 2001; Shimaji ve ark., 2002; Budak ve ark., 2014).

Asetik asit, gallik asit, kateşin, epikateşin, klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit gibi biyoaktif bileşikler yapılarında doğal olarak bulunduran sirkenin tüketiminden kaynaklanan iyileştirici, anti-oksidatif, antidiyabetik, antimikrobiyal, antitümör, anti-obezite, antihipertansif ve kolesterol düşürücü etkileri açığa çıkmaktadır (Budak ve ark., 2014).

Budak (2010), yaptığı çalışmada sirke kullanımının trigliserid düzeyini düşürdüğünü belirlemiştir. Aynı çalışma sirkenin HDL-kolesterol düzeyini arttırdığı ve buna bağlı olarak kalp krizi, felç, damar tıkanması gibi hastalıkların ortaya çıkma olasılığını azaltabileceğini göstermiştir.

Ebihara ve Nakajima (1988), sirke tüketimi ile glukoz ve insulin artışlarının inhibe edildiği gastrointestinal sistemden etanol emiliminin geciktirilerek sağlandığı ortaya

konulmuştur.

Kadaş (2013), yaptığı çalışmada alıç sirkesinin yüksek miktarda fenolik madde içerdiği, antioksidan kapasitesinin yüksek olduğunu, buna bağlı olarakta kan şekerini düşürmede, kolesterolün azaltılmasında, trigliserid seviyesinin düşürülmesinde ve kilo kaybında etkin olduğunu söylemektedir.

Xu ve arkadaşları (2007), sirke üretiminde maillard reaksiyonu ile meydana gelen kahverengi polimer melanoidlerin antioksidan özelliklerinden dolayı sağlığı koruduklarını göstermişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada 2 yıllık bir yıllandırma işlemi ile sirkelerde antioksidan ativitenin taze sirkelere göre arttığı belirlenmiştir.

Shimoji ve ark. (2002), pirinç sirkesi olan Kurosu'da bulunan dihidroferulik asit ve dihidrosinapsik asidin antioksidan aktivite gösteren en önemli bileşenler olduğunu ayrıca ferulik ve sinapik aside göre bu bileşenlerin yüksek antioksidan özelliklere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Kondo ve ark. (2009), günlük sirke alımının obez bireylerde olumsuz bir etkiye neden olmaksızın kilo kaybına, bel çevresinin incelmesine neden olduğu, böylece obesiteyi azaltarak metabolik sendromu önlemede yararlı olabileceğini ifade etmektedirler.

Johston ve ark., (2004) tarafından yapılan çalışmada, sirke kullanımına bağlı olarak insülin hassasiyetinin tip-2 diyabetli bireylerde %19, prediyabetik bireylerde ise %39'a kadar gelişim gösterdiği bildirilmiştir.

Laranjinha ve ark., (1994)'a göre ise, klorojenik asit gibi polifenollerce zengin elma sirkesinin LDL oksidasyonunu inhibe ettiği ve kardiyovasküler hastalıkları önleyerek sağlığı iyileştirdiği ifade edilmektedir.

## **BÖLÜM 3**

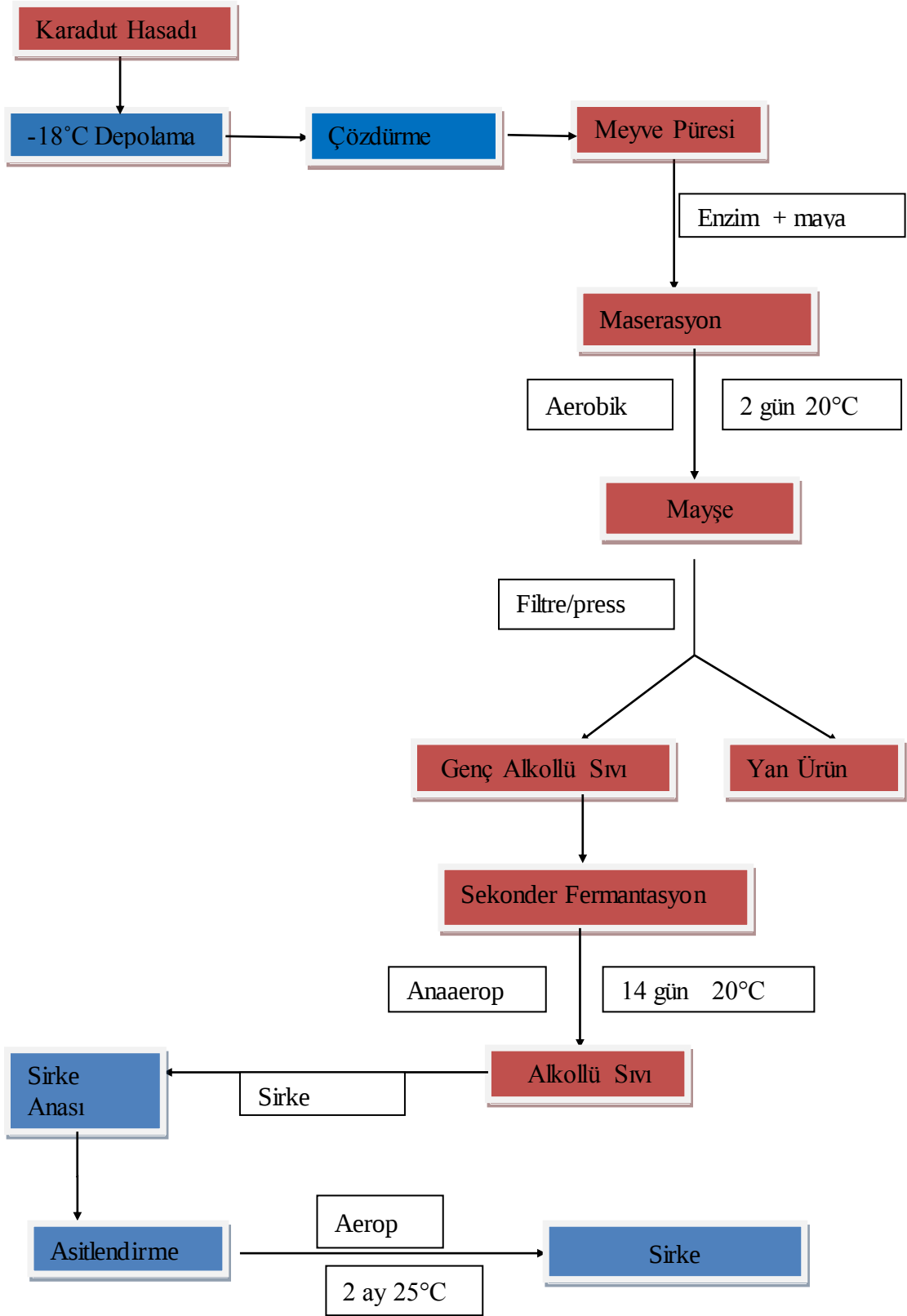
### **MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Materyal**

Çalışma kapsamında sirke üretimi amacıyla karadut meyveleri, Çanakkale ilinin merkeze bağlı Kumkale Köyü, Batakovası denilen bölgesinde belirlenen iki ağaçtan, 2014 yılı Haziran-Temmuz aylarında tam olgunlaşmaya ulaşmış olanları seçilerek toplanmıştır. Çalışma başlayıncaya kadar karadut meyveleri -18°C’de depolanmıştır. Sirke üretiminin gerçekleştirilmesi amacıyla gerekli yardımcı maddeler: pektolitik enzim (10C extrazim) ve maya (*Sacharomyces cerevisiae*, BO213 laffort) Suvla Şarap firmasından temin edilmiştir.

#### **3.2. Deneme Planı**

Çalışma kapsamında ilk olarak sirke anası üretimi gerçekleştirilmiştir. Sirke anası kullanılarak karadut meyvesinden sirke üretimi 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş olup, sirke üretim sürecinin çeşitli aşamalarından (Meyve suyu (1), Alkol fermantasyonu sonrası (2), Asetik asit fermantasyonu sonrası (3)) örnekleme yapılmıştır. Sirke üretim sürecinde biyoaktif bileşenler ve bazı fizikokimyasal parametrelerdeki değişimi izlemek amacıyla, bu örneklerde fenolik bileşen profil analizi, toplam fenol, monomerik antosiyanin, antioksidan aktivite analizleri (TEAC; DPPH; FRAP; CUPRAC), renk, pH, brix, titrasyon asitliği analizleri yapılmıştır. Son ürün karadut sirkesinin duyuşal açıdan beğeni durumu yapılan tüketici testi ile ortaya konmuştur.



Şekil 3.1. Karadut sirkesi üretim akım şeması

### 3.2.1. Sirke Anası ve Sirke Üretim Süreci

Sirke üretim süreci birbirini takipeden alkol fermantasyonu ve asetikasyon (asetik asit fermantasyon) aşamalarını içermektedir:

**(i) Alkol Fermantasyonu:** Çözündürme işlemi +4°C’de gerçekleştirilen karadut meyveleri, bir el blendırı (Vestel, Türkiye) yardımıyla parçalandıktan sonra, behere aktarılarak üzerine 0.2 g/L olacak şekilde *Sacharomyces cerevisiae*, BO213 laffort ve 0.03 g/L olacak şekilde pektolitik enzim (10C extrazim) ilave edilmiştir. Beherin ağzı, steril bir tülbentle kapatılıp 2 gün boyunca 20°C’de tutulmuştur. 2 günde yüzeyde kek şeklinde toplanan kaba partiküller filtre edilmiştir. Elde edilen filtrat kontrollü bir gaz çıkışı sağlanarak anaerobik koşullar altında (Şekil 3.1) 20°C’de, 15 gün alkol fermantasyonuna bırakılmıştır.



Şekil 3.2. Alkol fermantasyonu düzeneği

Yüksek miktarda alkol içeriği sirke üretimini negatif olarak etkilediği göz önüne alınarak karadut meyvesinden alkol fermantasyonu sonucu elde edilecek alkolün alkol derecesi denemelerle yaklaşık %7 olarak belirlenmiştir. Bu açıdan karadut meyvesinden 15 günlük alkol fermantasyonu ile yaklaşık %7 alkol üretilmiş ve bu süre sonunda alkol fermantasyonuna son verilmiştir.

**(ii) Asetik Asit fermantasyonu (Asetifikasyon):** Alkol fermantasyonu sonrası elde edilen %7 alkollü karadut meyve suyu, Tariş firmasından temin edilen aktif sirke kültürü ile 2:1 oranında karıştırılarak, aerobik koşullarda asetik asit fermantasyonuna tabi tutulmuştur. Bu aşamada amaç, alkol fermantasyonu ile oluşan alkolün asetik asit bakterileri ile asetik aside dönüşümünü sağlayarak, esas denemelerin yapılması amacıyla sirke anası oluşumudur. Bu çerçevede asetik asit fermantasyonu için gerekli koşullar hazırlanmıştır. Ayrıca sirke anası oluşumu için başlangıç asit ve sıcaklık değerleri denemelerle belirlenerek optimize edilmiştir. Başlangıç asitlik değeri %1,5 ve ortam sıcaklığı 25°C olarak belirlenmiştir.

Steril beher içerisine aktarılan %7'lik karadut alkolü üzerine aktif sirke kültürü başlangıç asitliği %1,5 olacak şekilde ilave edilmiştir. Steril bir tülbent ile kapatılan ve 2 ay 25°C'de bekletilen sıvının yüzeyinde sirke anasının üretimi gerçekleştirilmiştir. Daha sonraki aşamada karadut sirke anası, 10:1 oranlarında üretilmiş olan karadut alkolüne ilave edilerek karadut sirkesi üretimine geçilmiştir. 25°C'de 2 ayda %4,5-4,8 asitlikte karadut sirkesi elde edilmiştir.

### **3.2.2. Fizikokimyasal Analiz Yöntemleri**

#### **3.2.2.1. Titrasyon Asitliği Analizi**

Titrasyon asitliği, potansiyometrik olarak belirlenmiştir. Bu amaçla belli miktar örnek (meyve suyu 5mL, sirke 2 mL), 0,1 N NaOH çözeltisi kullanılarak pH metre (Ohaus Starter 3100, Amerika) ile, pH 8,1'e oluncaya kadar titrasyon yapılmıştır. Örneklerin titrasyon asitliği değerleri hem sitrik asit hem de asetik asit cinsinden "g/100 mL" olarak hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2007).

#### **3.2.2.2. Suda Çözünür Kuru Madde**

Oda sıcaklığında Atago PAL1 (Pocet Refractometer, Japonya) digital refraktometre ile belirlenmiştir. Değerler %briks° olarak ifade edilmiştir (Cemeroğlu, 2007).

### 3.2.2.3. pH Analizi

Örneklerin pH değerleri oda sıcaklığında pH metre cihazı (Ohaus Starter 3100, Amerika) ile belirlenmiştir.

### 3.2.2.4. Renk Ölçümü

Örneklerin renk değerleri (L, a, b ve  $\Delta E$ ), renk ölçüm cihazı (Minolta CR 400/ CR 410) ile belirlenmiş ve sonuçlar CIE Lab sistemi ile ifade edilmiştir. Renk okuması, cihaz kalibre edildikten sonra 20 ml örnek beyaz zemin üzerinde cam hazne içine konularak yapılmıştır.

L; 0=siyah, 100=beyaz (koyuluk /açıklık), (Y) ekseninde

a; +a kırmızı, -a yeşil, (X) ekseninde

b; +b sarı, -b mavi (Z) ekseninde renk yoğunluklarını göstermektedir.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (3.1)$$

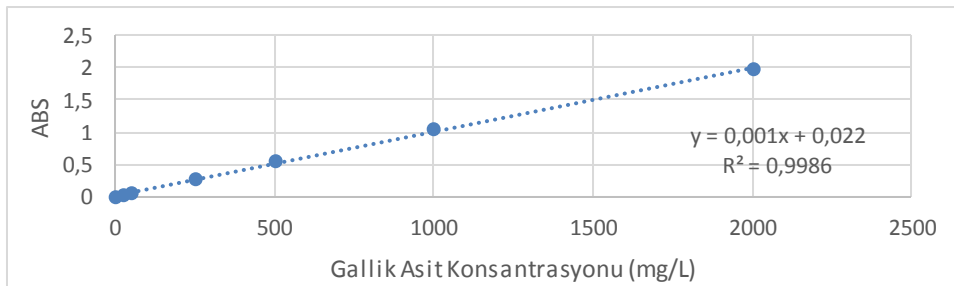
$$\Delta L = L_{örn.} - L_{std}$$

$$\Delta a = a_{örn} - a_{std}$$

$$\Delta b = b_{örn} - b_{std}$$

### 3.2.2.5. Toplam Fenol Miktarı

Singleton ve Rossi, (1965)'nin önerilmiş olduğu Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. 100  $\mu$ L örnek, 900  $\mu$ L distile su, 5 mL 0,2 Normal Folin-Ciocalteu (Merck, Germany) çözeltisi, 4 mL %7,5'lik sodyum karbonat (Merck, Germany) çözeltisi ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiş ve spektrofotometrede 765 nm'de sahade karşı absorbansı okunmuştur. Gallik asit (Sigma Aldrich, Germany) ile hazırlanan standart grafiğinden faydalanılarak örnekteki toplam fenol miktarı "mg gallik asit/ L" cinsinden verilmiştir.



Şekil 3.3. Toplam fenol miktarı analizi için hazırlanmış gallik asit standart eğrisi

### 3.2.2.6. Monomerik Antosiyanin Analizi

Giusti ve Wrolstad, (2001) tarafından geliştirilmiş olan pH diferansiyel yöntemine göre analiz yapılmıştır. 1' er mL örnek pH 1 ve pH 4,5 buffer çözeltileri ile 10 mL'ye tamamlanmış 30 dakika oda sıcaklığındaki inkübasyon sonunda 520 nm ve 700 nm saf suya karşı absorbens değerleri belirlenmiştir. Sonuçlar "mg siyanidin 3-glikozit/L örnek" olarak verilmiştir.

$$A = (A_{\lambda_{VIS-max}} - A_{700})_{pH1} - (A_{\lambda_{VIS-max}} - A_{700})_{pH4,5}$$
$$ACN(mg / L) = \frac{A \times MW \times S_F \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (3.2)$$

A= Düzeltilerek hesaplanmış absorbens farkı

MW=Baz alınacak antosiyanin molekül ağırlığı

S<sub>F</sub>=Seyreltme Faktörü

€=Molar absorpsiyon Katsayısı

l= Spektrofotometrede kuvvet katmanı l=1 olarak alınmıştır.

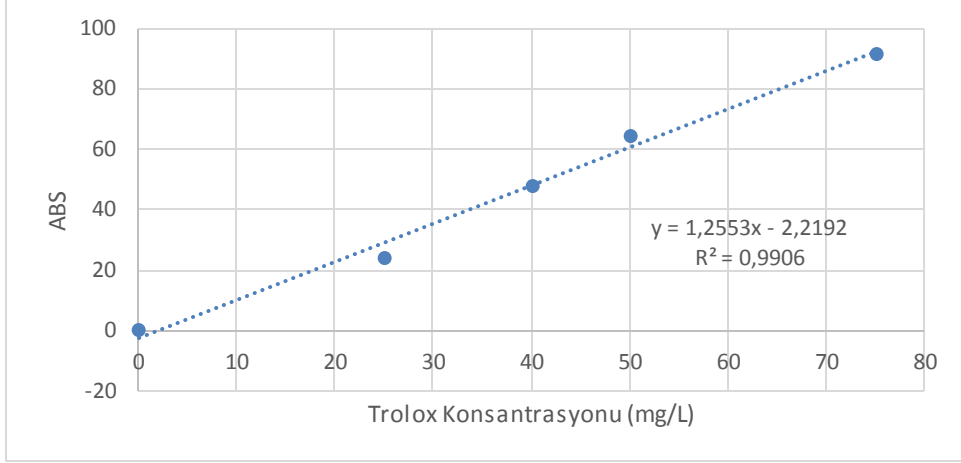
### 3.2.3. Antioksidan Kapasite Analiz Yöntemleri

#### 3.2.3.1. TEAC (Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) Yöntemi

Re ve ark., (1999) ile Arts ve ark., (2001) tarafından önerilmiş olan Trolox eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC) yöntemi uygulanmıştır.

PBS çözeltisi ile 734 nm'de 0,7 (±0,2) absorbens okunacak biçimde seyreltilen ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisinden mikro küvete 1 mL alınmıştır. Spektrofotometrede ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisinin ilk absorbens değeri kaydedilmiştir. Mikro küvet içindeki radikal çözeltiye örnek eklenerek 6 dakika boyunca 1 er dakika arayla absorbens değerleri okunarak kaydedilmiştir. 3 farklı örnek hacminde çalışılarak 6 dakika sonunda saptanmış ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek miktarlarına (hacimlerine) karşı bir grafiğe aktarılıp örneğe ilişkin eğriye ve regresyon eşitliği hesaplanmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanarak örneğin TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değeri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon Değeri} = \frac{(\text{Başlangıç Absorbans Değeri} - 6 \text{ dakika sonundaki Absorbans Değeri})}{\text{Başlangıç Absorbans Değeri}} \times 100 \quad (3.3)$$

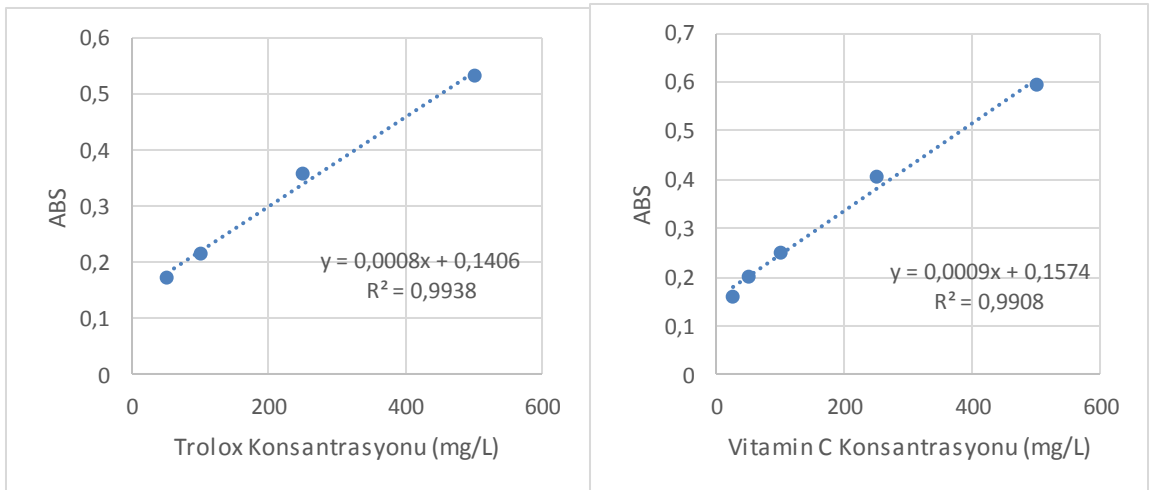


Şekil 3.4. TEAC yöntemi için hazırlanan trolox standart eğrisi

### 3.2.3.2. CUPRAC (Bakır İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi

Apak ve ark., (2004) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Yöntem, Neokuproin-Nc'in bakır(II) ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan bakır (II)-neokuproin bileşiğinin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de absorbans veren Cu(I)-neokuproin kelatına dönüştürme yeteneğine dayanmaktadır.

30 µL örnek, 1 mL 0,01M bakır klorür, 1 mL  $7,5 \times 10^{-3}$  Neocuprin (Sigma Aldrich, Germany), 1 mL 1 M pH 7 amonyum asetat çözeltisi ve 1080 µL saf su eklenerek 20°C'de yarım saat inkübasyona bırakılmıştır. 450 nm'de şahide karşı absorbans değerleri okunmuştur. Trolox (Merck, Germany) ve C vitamini (Sigma Aldrich, Germany) ile hazırlanan standart kalibrasyon eğrisinden yararlanarak hesaplamalar yapılmıştır.



Şekil 3.5. CUPRAC yöntemi için hazırlanan Trolox ve Vitamin C standart eğrileri

### 3.2.3.3. DPPH Yöntemi

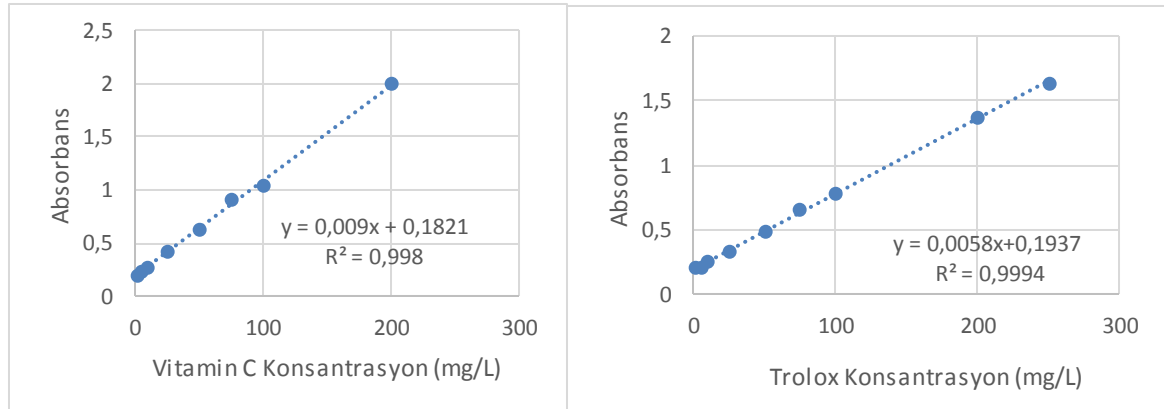
Benvenuti ve ark., (2004) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Yöntem, pembe renkli DPPH radikalının inhibisyonu neticesinde renkte oluşan azalmaların 517 nm'de ölçülmesine dayanır.

20, 40, 60, 80, 100 µL örnek alınmış üzerine 300 µL 1 mM DPPH radikali ilave edilmiş ve 3 mL'ye metanol ile tamamlanmıştır. 15 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübasyona bırakılan örnekler 517 nm'de okuma yapılmıştır. Sonuçlar EC<sub>50</sub> değeri yani radikalın %50'sinin inhibisyonunu sağlayan konsantrasyon olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.3.4. FRAP Yöntemi

Benzie ve Strain, (1996) tarafından önerilen yöntem, asidik koşullar altında Fe(III)-2,4,6-tripirydyl-s-triazine bileşiğinin indirgenmesi sonucu meydana gelen Fe(II)-TPTZ bileşiğinin 593 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır.

3mL FRAP çözeltisi ile 100 µL örnek ile karıştırılmış ve 30 dakika inkübasyon süresinin ardından 593 nm'de absorbansı okunmuştur. Trolox (Merck, Germany) ve C vitamini (Sigma Aldrich, Germany) ile hazırlanan standart kalibrasyon eğrisinden yararlanarak hesaplamalar yapılmıştır.



Şekil 3.6. FRAP yöntemi için hazırlanan Trolox ve Vitamin C standart eğrileri

### 3.2.4. Fenolik Bileşen Profilinin Belirlenmesi

Fenolik bileşenlerin belirlenmesi amacıyla Kamiloglu ve ark., (2013) tarafından önerilen HPLC (Shimadzu, Japonya) yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. 10 kat Triflora asetik asitli su ile seyreltilen örnekler, 0,45 µm teflon filtreden geçirilerek HPLC

cihazına enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir. HPLC sisteminde Çizelge 3.1’de verilen gradient akış kullanılmıştır. Çalışma koşulları aşağıda verilmiştir:

HPLC Kolonu: Phenomenex Gemini C<sub>18</sub> (250×4,6mm ID, 5µ)

Mobil faz A: %0,1 TFA’lı Ultra saf su

Mobil faz B: %0,1 TFA’lı Asetonitril

Akış hızı: 1mL/dakika

Kolon fırın sıcaklığı: 30 °C

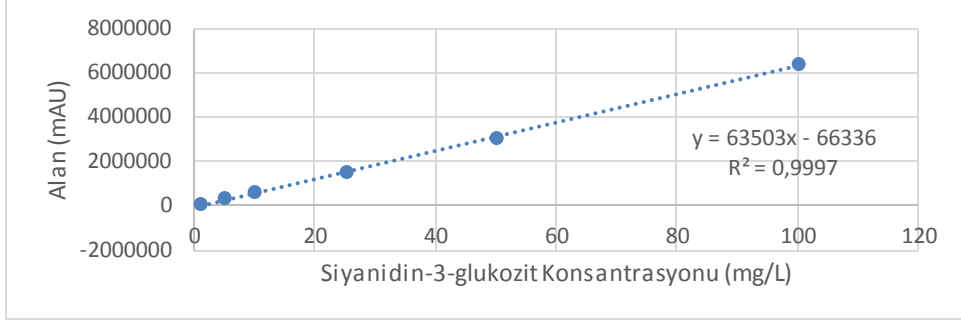
Enjeksiyon Hacmi: 20 µL

DAD dedektör: 200-600 nm

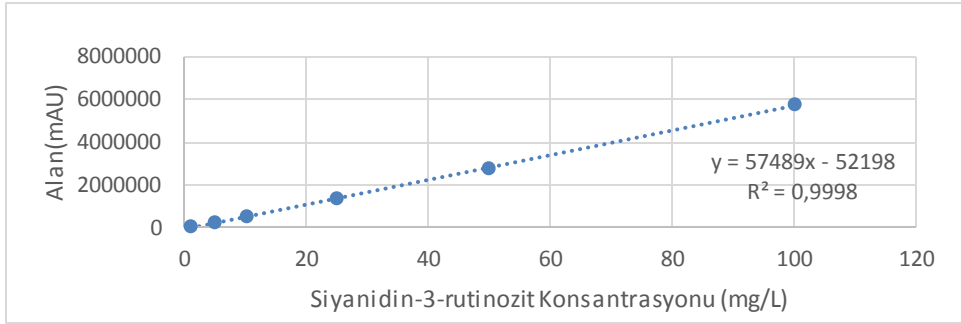
Çizelge 3.1. Fenolik bileşiklerin belirlenmesinde kullanılan gradient programı

| Süre(dk) | %A | %B |
|----------|----|----|
| 0,01     | 95 | 5  |
| 45       | 82 | 18 |
| 47       | 20 | 80 |
| 55       | 95 | 5  |

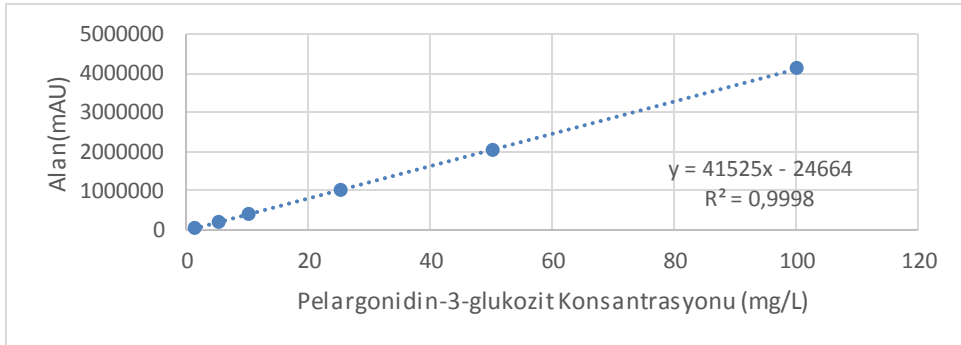
Fenolik bileşenlere ilişkin piklerin tanımlanması amacıyla siyanidin-3O-glukozit, siyanidin-3O-rutinozit, pelargonidin-3O-glukozit, epigallokateşin, gallik asit, kateşin, klorojenik asit, rutin, şirinjik asit, transferulik asit, epikateşin, kumarik, quercetin, kafeik asit standartlarının da enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu standartların alıkonma zamanı, spektrumları ile örnek komotogramlarındaki piklerin saflığı dikkate alınarak örneklerde siyanidin-3O-glukozit, siyanidin-3O-rutinozit, pelargonidin-3O-glukozit, klorojenik asit, kafeik asit ve kateşin kimyasal maddeleri tanımlanmıştır. Bu tanımlanan standartlara ilişkin Şekil 7, 8, 9, 10, 11, 12’de verilen standart eğrileri kullanılarak örneklerdeki miktarı ppm (mg/L) düzeyinde hesaplanmıştır.



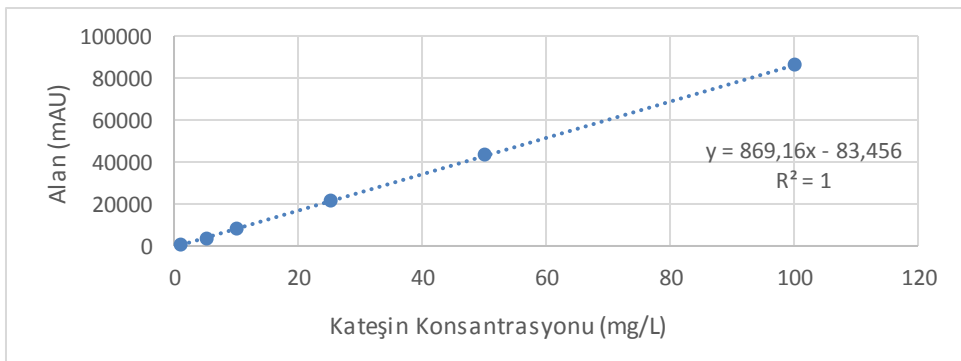
Şekil 3.7. Siyanidin-3O-glukozit standart eğrisi ve regresyon eşitliği



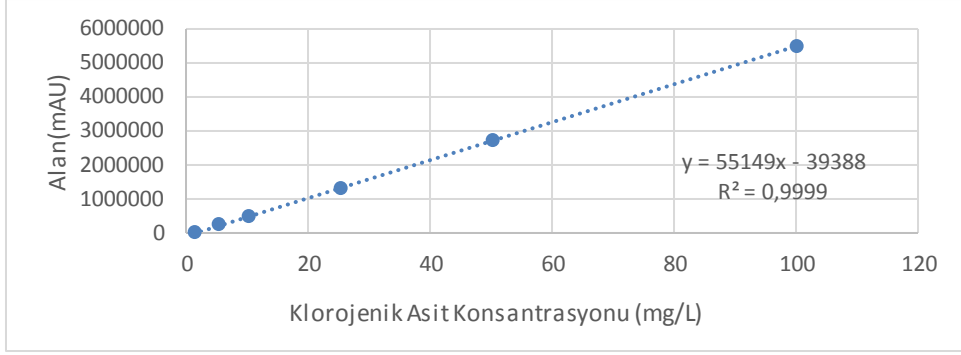
Şekil 3.8. Siyanidin-3O-rutinozit standart eğrisi ve regresyon eşitliği



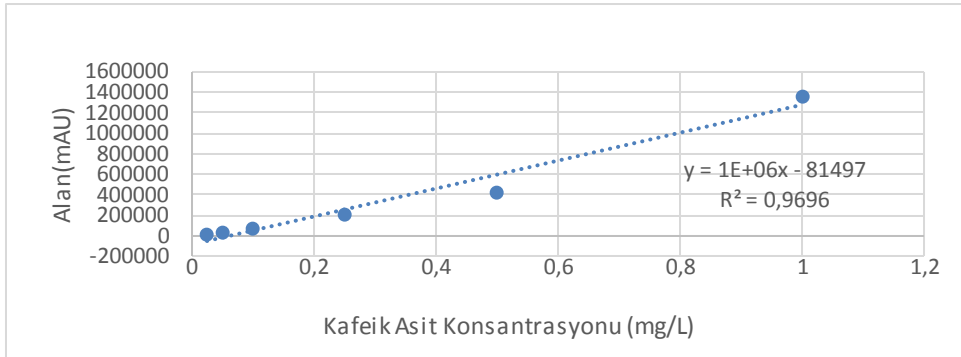
Şekil 3.9. Pelargonidin-3O-glukozit standart eğrisi ve regresyon eşitliği



Şekil 3.10. Kateşin standart eğrisi ve regresyon eşitliği



Şekil 3.11. Klorojenik asit standart eğrisi ve regresyon eşitliği



Şekil 3.12. Kafeik asit standart eğrisi ve regresyon eşitliği

### 3.2.5. Duyusal Analiz

Karadut sirkesi örneklerinin genel, görünüş, tat ve koku bakımından beğeni durumu 7 puanlı hedonik skala kullanılarak belirlenmiştir (Meilgaard ve ark., 1999). Ticari üzüm sirkesi ile karşılaştırılarak 50 kişiye tüketici testi uygulanmıştır.

Lütfen size verilen sirke örneklerini tadınız ve skalaya göre işaretleme yapınız.

| Örnek No.....             | Koku  | Lezzet | Görünüş | Genel |
|---------------------------|-------|--------|---------|-------|
| Çok fazla Beğendim        | ..... | .....  | .....   | ..... |
| Çok Beğendim              | ..... | .....  | .....   | ..... |
| Beğendim                  | ..... | .....  | .....   | ..... |
| Ne Beğendim Ne Beğenmedim | ..... | .....  | .....   | ..... |
| Beğenmedim                | ..... | .....  | .....   | ..... |
| Çok Beğenmedim            | ..... | .....  | .....   | ..... |
| Hiç Beğenmedim            | ..... | .....  | .....   | ..... |

Şekil 3.13. Tüketici testi değerlendirme formu örneği

### **3.2.6. İstatistiksel Analiz**

Araştırmadan elde edilen veriler, varyans analizi ile incelenmiş ve ortalamaların farkının önemli ( $p < 0,05$ ) olup olmadığı LSD testi ile belirlenmiştir. Bu amaçla SAS V9 (SAS 1999) istatistik paket programının MIXED prosedürü ve repeated opsiyonu kullanılmıştır.

## BÖLÜM 4

### ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

#### 4.1. Sirke Üretim Sürecinde Fizikokimyasal Değişimler

Yüzey kültür yöntemi ile karadut meyvesinden sirke üretim sürecinde incelenen KMS, AF ve AS örneklerine ilişkin suda çözünür kuru madde (SÇKM), pH ve titrasyon asitliği değerlerindeki değişim Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Karadut suyunun (KMS) başlangıç SÇKM değeri, %15,68 Brx° olarak belirlenmiştir. Çam ve Türkoğlu (2004), %16,62 Brx°; Koyuncu (2004), %13,91-18,36 Brx° ve Tokbaş (2009), %15,95 Brx° olarak karadut meyvesinde SÇKM değerini bildirmiş olup bu değerlerin yapılan çalışmada belirlenen SÇKM değerleriyle benzerlik gösterdiği görülmüştür. Alkol fermentasyon sonrası ve asetifikasyon sonrası, beklendiği üzere, AF ve AS örneklerinin SÇKM değerleri sırasıyla %2,65 Brx° ve %1,8 Brx° değerlerine istatistiksel olarak önemli bir azalış göstermiştir ( $P<0,05$ ).

SÇKM değeri, sıvı bir örnek içindeki suda çözünür şeker, tuz ve proteinin yüzde konsantrasyonunu gösterirken, sirke örneklerinde SÇKM değeri şeker eşdeğeri olarak tanımlanır (Sáiz-Abajo ve ark., 2004). Fermentasyon sırasında mikroorganizmaların aktiviteleriyle hammaddede bulunan şeker parçalanmakta ve bu nedenle fermentasyon ile SÇKM değerleri arasında yakın bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir (Masino ve ark., 2008; Ozturk ve ark., 2015). Bu durum göz önüne alındığında, söz konusu çalışmada karadut sirkesi üretim sürecinde SÇKM değerlerinin giderek azalmasının nedeni fermentasyonun başlamasıyla birlikte meyvenin bünyesinde bulunan şekerlerin, etil alkol ve sonrasında asetik aside dönüşmesidir.

Yaptığımız araştırma sonuçlarında belirlenen SÇKM değerlerine bakıldığında sirke üretim sürecindeki değişim de literatür ile uyumluluk göstermektedir. Nitekim, Budak (2015) SÇKM değerini beyaz dut suyunda %13,5°bx, beyaz dut şarabında %5,9°bx, beyaz dut sirkesinde %3,1°bx olarak ortaya koymuştur. Ayrıca Budak (2010), üzüm suyu, üzüm şarabı ve üzüm sirkesinde SÇKM değerlerini sırasıyla %22,5 8,17 ve 6,5°bx olarak belirlemiştir. Yapılan çalışmalara bakıldığında karadut meyvesinin SÇKM değerinin beyaz dut meyvesinden yüksek, üzüm meyvesinden düşük olduğu görülmektedir.

KMS, AF ve AS örneklerinin sırasıyla pH değerleri 3,60, 3,72 ve 3,43 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Bu değerler incelendiğinde, sirke üretim sürecinde pH değerleri arasında önemli bir farklılığın olmadığı görülmektedir ( $P>0,05$ ).

KMS örneğinin pH değeri literatür ile benzer sonuçlar göstermiştir. Nitekim, karadut meyvesinin pH değerini Elmacı ve Altuğ (2002), 3,60-3,80; Ercisli ve Orhan (2007), 4,04 olarak belirlemiştir.

Alkol fermentasyonu sonrası karadut alkolü ve asetifikasyon sonrası karadut sirkesiyle ilgili pH'nı belirlendiği daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak Budak (2015), pH değerlerini beyaz dut suyunda 6,04, beyaz dut şarabında 5,9 ve beyaz dut sirkesinde ise 3,08 olarak tespit etmiştir. Bu çalışmaya göre karadut meyvesinin beyaz dut meyvesine göre pH değerinin daha düşük olduğu söylenebilir.

KMS örneğinde titrasyon asitliği değeri asetik asit cinsinden %1,31 olarak belirlenmiştir. Alkol fermentasyonu sonrası, AF örneğinde %1,19 olarak belirlenen titrasyon asitliği değeri istatistiksel olarak KMS örneğinden farklı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Ancak, asetifikasyon sonrası asetik asit oluşumuna bağlı olarak AS örneğinde titrasyon asitliği değerinin hem asetik asit cinsinden (%4,64) hem de sitrik asit cinsinden (%14,85) önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir ( $P<0,05$ ) (Çizelge 1.4). Çalışmamızda sirke üretim sürecinde belirlenen titrasyon asitliği değerindeki değişim literatür ile uyumludur. Budak (2015), titrasyon asitliği değerini beyaz dut suyu, beyaz dut şarabı ve beyaz dut sirkesinde sırasıyla %0,83, 0,78, 5,72 olarak gözlemlemiştir.

Fermentasyon sürecinde organik asitlerin bireysel konsatrasyonlarının değişimi ve asetik asit gibi yan ürünlerin oluşumuna bağlı olarak titrasyon asitliğinin artması pH değerini etkilememektedir (Ordoudi ve ark., 2014). Nitekim, yaptığımız çalışmada da karadut sirkesi üretimi sürecinde titrasyon asitliği değerinin artması pH değerini etkilemediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Sirke üretim sürecinde KMS, AF, AS örneklerinin pH, SÇKM, TAS ve TAA değerlerindeki değişim

| Örnek | pH         | SÇKM (%)    | TAS (%)     | TAA (%)    |
|-------|------------|-------------|-------------|------------|
| KMS   | 3,60±0,07a | 15,68±0,84a | 4,20±0,39a  | 1,31±0,12a |
| AF    | 3,72±0,17a | 2,65±0,26b  | 3,79±0,50a  | 1,19±0,16a |
| AS    | 3,43±0,08a | 1,80±1,18b  | 14,85±0,45b | 4,64±0,14b |

Sonuçlar "Ortalama±Standart hata" olarak verilmiştir ( $n=3$ ). TAS, TAA sitrik asit ve asetik asit cinsinden titrasyon asitliği. Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ( $P<0,05$ ).

Ercişli (2008)'e göre karadut meyvesinde hakim organik asit sitrik asittir. Yaptığımız çalışmada KMS örneğinin sitrik asit cinsinden titrasyon asitliği değeri %4,2 olarak tespit edilmiştir. Aynı değer, AF örneğinde %3,79, AS örneğinde ise %14,85 olarak belirlenmiştir. KMS ve AF örneklerinde sitrik asit cinsinden titrasyon asitliği değerinde önemli değişim olmazken ( $P>0,05$ ), AS örneğinde, KMS ve AF örneklerine göre göre önemli bir artış gözlenmiştir ( $P>0,05$ ). Duyen ve ark. (2013) sitrik asit cinsinden titrasyon asitliğini karadut suyunda 25,20g/L, karadut alkolünde 19,62g/L olarak belirtmektedir. Bu değerler karşılaştırıldığında yaptığımız çalışmadaki KMS örneklerinin sitrik asit değerlerinin Duyen ve ark. (2013) yaptığı çalışmadaki karadut örneklerinin sitrik asit değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür. Bu yüksek sitrik asit miktarı karadut çeşidinden kaynaklanabileceği gibi karadut meyvesinin olgunluk derecesinden de kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.2'de KMS, AF ve AS örneklerinin renk değerlerindeki değişim gösterilmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde KMS, AF ve AS örneklerinde ışık geçirgenliğini temsil eden  $L^*$  ve sarı/mavi eksenini temsil eden  $b^*$  değerleri arasında önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Ancak kırmızı/yeşil eksenini temsil eden  $a^*$  değerinde AS örneğinin KMS ve AF örneklerine göre yaklaşık %40 azalma ile farklı olduğu gözlenmiştir. Özgen ve ark. (2009), karadut meyvesinin CIE lab sistemi ile ifade edilen renk değerlerinden  $L^*$  değerini 18,4,  $a^*$  değerini 18,3,  $b^*$  değerini 5,5 olarak belirtmektedir. Ercişli ve Orhan (2008), 5 farklı genotipteki karadut meyvesinin ortalama  $L^*$  değerini 16,4,  $a^*$  değerini 13,53,  $b^*$  değerini 3,80 olarak ifade etmiştir. Tokbaş (2009) ise  $L^*$  değerini 17,29,  $a^*$  değeri 15,8,  $b^*$  değeri 5,25 olarak belirtirken, Özen ve Akbulut (2008),  $L^*$  değerini 3,5,  $a^*$  değerini 22,22,  $b^*$  değerini 5,89 olarak belirtmektedir. Tiwari ve ark., (2008), meyve sularında toplam renk farkı ( $\Delta E$ ) değerlerini, az farkedilir ( $\Delta E < 1,5$ ), farkedilir ( $1,5 < \Delta E < 3$ ) ve görünür ( $\Delta E > 3$ ) olarak ifade etmektedir. Bu tez çalışmasında,  $\Delta E$  değerinin  $>3$  olarak belirlenmesi, renk değerlerindeki toplam farklılığın görünür olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.2. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin renk değerlerindeki değişim

| Örnek | $L^*$       | $a^*$      | $b^*$      | deltaE ( $\Delta E$ ) |
|-------|-------------|------------|------------|-----------------------|
| KMS   | 12,23±0,51a | 9,91±0,45a | 1,22±0,24a | 0                     |
| AF    | 15,91±0,55a | 9,82±0,47a | 1,94±0,13a | 3,79±0,72             |
| AS    | 10,64±1,36a | 5,9±0,10b  | 1,62±0,58a | 4,43±0,30             |

*Sonuçlar “Ortalama±Standart hata”olarak verilmiştir (n=3).Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır (P< 0,05).*

#### 4.2. Sirke Üretim Sürecinde Toplam Fenol Miktarındaki Değişim

Günümüzde gıda bileşeni olarak yada spesifik önleyici ilaçlar olarak antioksidan özellik gösteren bileşiklere ilgi günden güne artmaktadır (Gülçin, 2012). Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler potansiyel antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleriyle gıda bilimi ve beslenmesi araştırmalarında dikkat çeken konular arasındadır (Gülçin ve ark., 2010). Söz konusu tez çalışmasında, KMS örneğinde toplam fenol içeriği 1064,65 mg GAE(gallik asit eşdeğeri)/L olarak tespit edilmiştir. AF ve AS örneklerinde ise toplam fenol içeriği sırasıyla 988,84 ve 855,55 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Çizelge 4.3’te görüldüğü gibi sirke üretim sürecinde örneklerin toplam fenol içeriğinde önemli bir değişim olmamıştır (P>0,05). Sirke üretim sürecinde toplam fenol miktarındaki değişimin önemli olmadığını gösteren literatür çalışmaları da bulunmaktadır. Nitekim, Trabzon hurması üzerine yapılan çalışmada, toplam fenol içeriği trabzon hurması püresinde 277-424,1µmol GAE/kg, Trabzon hurması şarabında 245- 320,6 µmol GAE /kg, Trabzon hurması sirkesinde ise 268- 397,5 µmol GAE/kg olarak bildirilmiştir (Ubeda ve ark., 2011). Benzer şekilde, Ünal (2007) tarafından Dimrit üzüm sirkesi üzerine yapılan çalışmada, Dimrit üzümünden elde edilen şıranın, şarabın ve sirkenin toplam fenol miktarı sırasıyla 505,81 mg/L, 334,68 mg/L, 494,18 mg/L olarak ifade edilmiştir. Ayrıca nar suyu, nar şarabı ve nar sirkesinde toplam fenol içeriği sırasıyla 1387, 1395, 1254 mg GAE/L olarak belirlenmiştir (Ordoudi ve ark., 2014). İncelenen çalışmalarda elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde sirke üretim sürecinde toplam fenol miktarındaki değişimin önemli olmadığı görülmektedir.

Çizelge 4.3. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin toplam fenol miktarı

| Örnek | Toplam Fenol (mg GAE/L) |
|-------|-------------------------|
| KMS   | 1064,65±64,70a          |
| AF    | 988,84±40a              |
| AS    | 855,55±74,71a           |

*Sonuçlar "Ortalama±Standart hata" olarak verilmiştir (n=3).*

*Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır (P< 0,05).*

Karadut meyvesinin toplam fenol içeriği Kostik ve ark. (2013) tarafından 90,26 mg GAE/100 g, Memon ve ark. (2012) 3,89 mmol GAE/100 g, Arfan ve ark. (2012) 164 mg GAE/g, Tokbaş (2009) 2274,99 µg GAE/g, Issa ve ark.(2013) 20,19 mg GAE/g, Özgen ve ark (2009) 2737 µg GAE/g, Ercişli ve ark. (2008) 1943-2237 mg GAE/100g, Kafkas ve ark. (2015) 340,6 mg/100g, Imran ve ark. (2010) 880,7 mg/100g olarak bildirilmiş olup çok geniş aralıklarda değiştiği görülmektedir. Söz konusu çalışmada, KMS örneğinin toplam fenol miktarı bazı literatür değerleriyle benzer olduğu, bazılarıyla ise farklılıkların olduğu görülmektedir.

Celep ve ark. (2015), toplam fenol içeriğini karadut şarabında 64,1 mg GAE/g, yaban mersini şarabında 52,73 mg GAE/g ve vişne şarabında 27,66 mg GAE/g olarak tespit etmiştir.

Karadut sirkenin toplam fenol içeriğiyle ilgili yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak kırmızı şarap sirkesinin toplam fenol içeriği 851,4 - 1594 mg/L olarak ortaya konulmuştur (Cerezo ve ark., 2010). Bu değer göz önüne alındığında karadut sirkesini toplam fenol miktarının kırmızı şarap sirkesi ile benzer sonuçlar verdiği söylenebilir.

Fenolik bileşikler genellikle şeker ve organik asitlere bağlı olarak bulunurlar (Crozier ve ark., 2009). Fermantasyon sonucu oluşan sirkede toplam fenol içeriğinin ham madde ile benzer veya hammaddeden yüksek olabileceği ifade edilmektedir (Andlauer ve ark., 2000). Fermantasyon işlemleri ile karadut meyvesinde bulunan şekerin etanol ve asetik aside dönüşmesi sonucu bazı fenolik bileşikler parçalanırken, şekere bağlı bulunan bazı fenolik bileşiklerin ortaya çıktığı ve bunun sonucu olarakta toplam fenol miktarındaki değişim önemli olmadığını söylenebilir.

#### 4.3. Sirke Üretim Sürecinde Monomerik Antosiyanin Miktarındaki Değişim

Çeşitli renkli meyve ve sebzelerde bulunan antosiyaninler en önemli görülen pigment grubudur. Karadut meyvesinin de yüksek miktarda antosiyanin içerdiği bilinmektedir (Jiang vd., 2013). Ancak, literatür incelendiğinde, karadut meyvesinin monomerik antosiyanin miktarı geniş aralıkta değişim gösterdiği belirlenmiştir. Nitekim, Kara ve ark. (2013) 2233 mg/L, Tsai ve ark. (2004) %97,31, Özgen ve ark. (2009) 571 µg cy-3-glu/g fw., Tokbaş (2009) 628,75 µg cy-3glu/g fw, Kafkas ve ark. (2015) 311,9 mg cy-3glu /100 g, Doboğlu (2012) 342 mg/L, Kostic ve ark.(2013) 125,84 mg cy-3glu/100 g olarak belirtmektedir.

Bu çalışmada, monomerik antosiyanin miktarı karadut suyunda (KMS) 190,37 mg cy-3glu /L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Literatür taraması ve yapılan çalışmadaki monomerik antosiyanin miktarları arasındaki farklılığa hammaddenin çeşidi, hasat zamanı, yetiştirme koşulları (iklim, toprak) ve yetiştirme teknikleri gibi etkenlerin neden olduğu düşünülmektedir.

Monomerik antosiyanin miktarı AF ve AS örneklerinde ise sırasıyla 95,94 ve 22,13 mg cy-3glu /mL olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi sirke üretim sürecinde, karadut suyunun kendine özgü renginden sorumlu önemli bir kalite kriteri olan monomerik antosiyanin miktarında önemli bir azalış meydana gelmiştir. (P<0,05). Diğer bir ifadeyle, KMS örneğinin başlangıç monomerik antosiyanin içeriği, sirke üretimi sürecinde yaklaşık %88,4 düzeyinde önemli bir kayba uğramıştır.

Meyvelerde bulunan antosiyaninler fermantasyon ile daha stabil olan polimerik formlara dönüşmektedir (Yıldırım ve Hasan, 2010). Fermantasyona bağlı olarak antosiyanin kümelerinin kararsızlıkları ve az stabil olan monoglikozitlerin degradasyonu sonucu monomerik antosiyanin miktarı azalmaktadır (Ordoudi ve ark., 2014).

Söz konusu tez çalışmasında, sirke üretimi sürecinde antosiyaninlerin parçalanmasına bağlı olarak antosiyanin miktarlarında önemli düzeyde parçalanma olduğu ortaya konulmuştur. Sirke üretim sürecinde monomerik antosiyanin miktarı değişimi literatür ile de benzerlik göstermektedir. Ubeda (2013) monomerik antosiyanin miktarını çilekte 26,3 – 69 mg pl-3-glu/kg, çilek şarabında 21,2-18 mg pl-3-glu/kg, çilek sirkelerinde 0,4-1,3 mg pl-3-glu/ kg olarak önemli bir azalma gösteriğini ifade etmektedir.

Çizelge 4.4. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin monomerik antosiyanin miktarları

| Örnek | Monomerik Antosiyanin<br>(mg/L) <sup>1</sup> |
|-------|----------------------------------------------|
| KMS   | 190,37±22,04a                                |
| AF    | 95,94±3,76b                                  |
| AS    | 22,13±2,75c                                  |

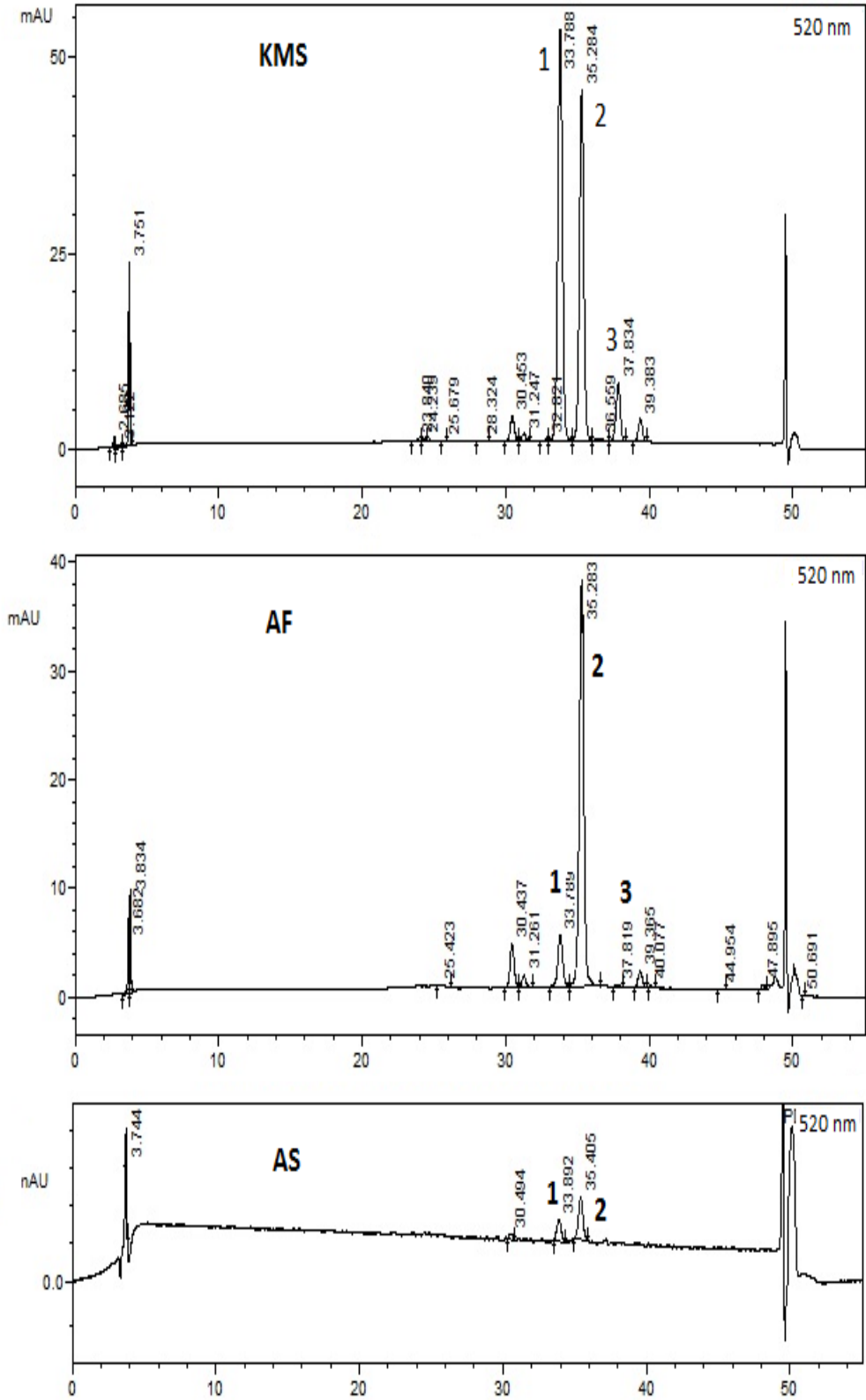
*Sonuçlar "Ortalama±Standart hata" olarak verilmiştir (n=3).<sup>1</sup>Sonuçlar cy-3glu cinsinden verilmiştir.Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır (P< 0,05).*

Tsai ve ark. (2004), karadut şarabının monomerik antosiyanin miktarını %97,31 olarak belirlemiştir. Jagtap (2015) yaptığı çalışmada yaban mersini şarabında toplam antosiyanin miktarını 20,82 mg cy-3-glu/L,Su (2007) ise yaban mersini şarabında toplam antosiyanin miktarını 5,6- 9,96 mg/100mL olarak bildirmektedir.

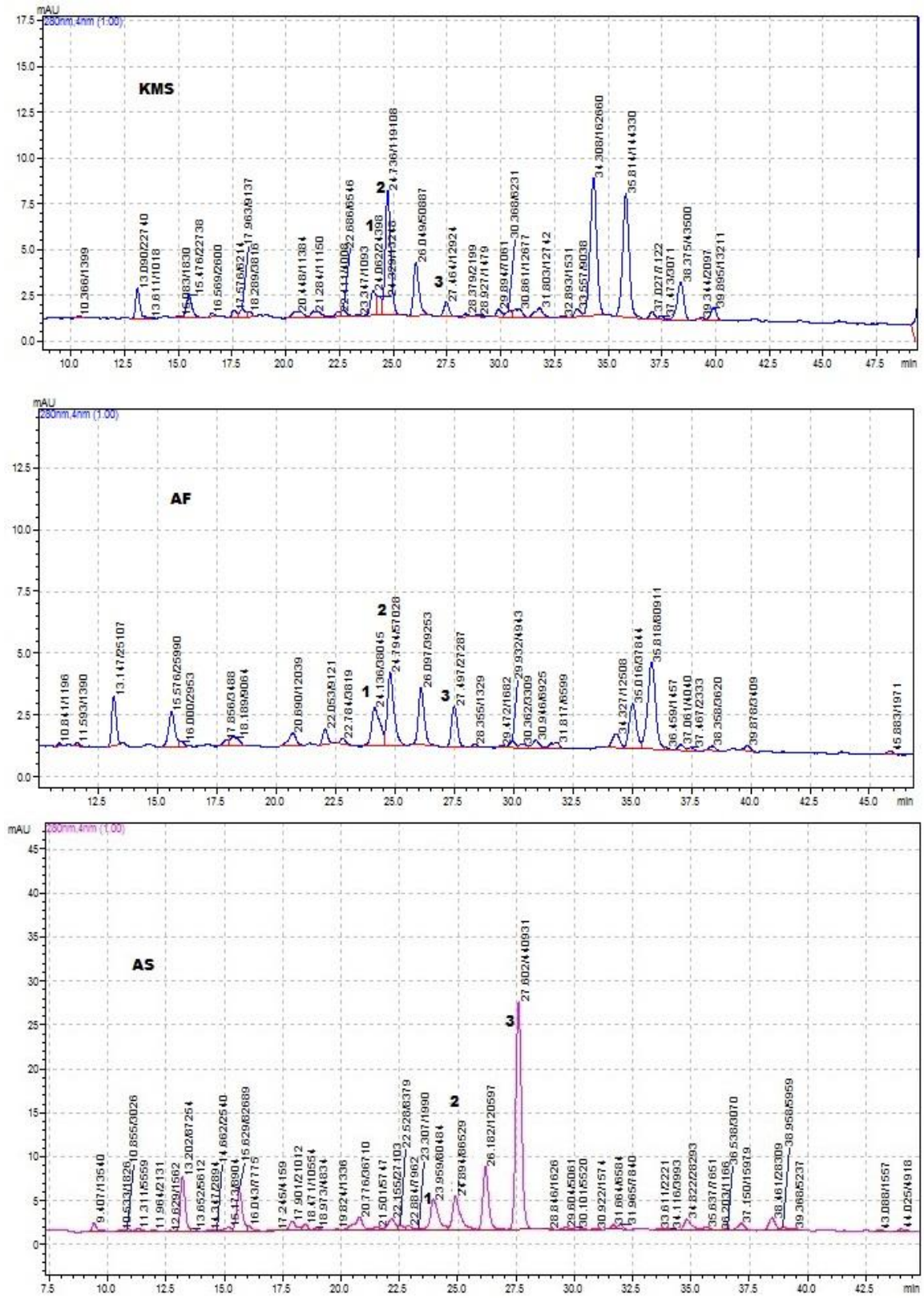
Literatürde karadut sirkesi ile ilgili monomerik antosiyaninin belirlendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, Su (2007), yaban mersini sirkesinin toplam antosiyanin miktarını 3,22 mg/mL olarak belirtmektedir.

#### 4.4. Sirke Üretim Sürecinde Fenolik Bileşen Profillindeki Değişim

Sirke üretim sürecinin karadut suyundaki bireysel fenolik bileşenler üzerine etkisini belirlemek amacıyla, HPLC yöntemi ile KMS, AF ve AS örneklerinin fenolik bileşen profili belirlenmiş ve bireysel değişim düzeyleri incelenmiştir. KMS örneğinin fenolik bileşen profilinde antosiyanin grubu bileşenlerden siyanidin-3O-glukozit, siyanidin-3O-rutinozit ve pelargonidin-3O-glukozit, flavanol grubu bir bileşen olan kateşin, hidroksisinamik asit grubu bir bileşen olan kafeik asit ve yine hidroksisinamik asit esterlerinden klorojenik asit tanımlanmıştır (Şekil 4.1 ve 4.2).



Şekil 4.1. KMS, AF ve AS örneklerinin antosiyanin profilindeki değişim: (1) Siyanidin-3O-glukozit, (2) Siyanidin-3O-rutinozit, (3) Pelargonidin-3O-glukozit



Şekil 4.2. KMS, AF ve AS örneklerinin fenolik bileşen profilindeki değişim: (1) Katesin, (2) Klorojenik asit, (3) Kafeik asit

KMS, AF ve AS örneklerinde belirlenen antosiyanin pigmentlerinin miktarları Çizelge 4.5’de gösterilmiştir. Karadut suyunda (KMS) hakim antosiyaninlerin siyanidin-3O-glukozit ve siyanidin-3O-rutinozit olduğu görülmektedir. Bunların dışında, KMS örneğinde daha düşük seviyede de pelargonidin-3O-glukozit (12,13 mg/L) antosiyanini bulunmaktadır. Yine, Çizelge 4.5 incelendiğinde, sirke üretim sürecinin ilk aşaması olan alkol fermantasyonu sırasında siyanidin-3O-glukozit’in siyanidin-3O-rutinozit’e göre daha fazla parçalandığı belirlenmiştir. Alkol fermantasyonu sonrası, karadut suyunun başat antosiyaninleri olan siyanidin-3O-glukozit ve siyanidin-3O-rutinozit miktarında sırasıyla %89,04 ve %58,75 düzeyinde azalış meydana gelmiştir. Asetifikasyon sonrasında ise en fazla kayba uğrayan bileşen % 84,5 ile siyanidin-3O-rutinozit olmuştur.

Çizelge 4.5. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin antosiyanin miktarları

| mg/L  |              |              |             |
|-------|--------------|--------------|-------------|
| Örnek | Cy-3glu      | Cy-3rut      | Pel-3glu    |
| KMS   | 130,09±6,69a | 112,04±2,67a | 12,13±1,37a |
| AF    | 14,26±2,19b  | 46,22±3,37b  | 3,29±0,21b  |
| AS    | 12,10±0,18b  | 7,15±0,02c   | 1,05±0,25c  |

*Sonuçlar “Ortalama±Standart hata”olarak verilmiştir (n=3). Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır (P<0,05).*

Tomas ve ark., (2015), karadut meyvesinde siyanidin-3O-glukozit miktarını 669mg/100g dw, siyanidin-3O-rutinozit miktarını 371mg/100g dw olarak belirlemiştir. Karadut sirke üretim sürecinde antosiyanin miktarındaki değişim ile ilgili bir literatür araştırmasına rastlanmamıştır. Ancak, Su ve Silva (2006), toplam antosiyanin miktarını yaban mersini suyu, şarabı ve sirkesinde sırasıyla 11,9,10,9, 2,3 mg/g olarak belirlemiştir.

KMS, AF ve AS örneklerinde belirlenen kateşin, kafeik ve klorojenik asit miktarları ise Çizelge 4.6’da verilmiştir. KMS örneklerinde bulunan bu fenolik bileşiklerin başlangıç değerlerinde, özellikle asetifikasyon sonrası önemli düzeyde artışlar belirlenmiştir (P<0,05). Bu artışlar, kafeik asit (yaklaşık 28 kat artış)> kateşin (yaklaşık 11 kat artış) > klorojenik asit (yaklaşık 2 kat artış) olarak sıralanabilir.

Çizelge 4.6. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin klorojenik asit, kateşin ve kafeik asit miktarları

| mg/L  |                |                 |             |
|-------|----------------|-----------------|-------------|
| Örnek | Kateşin        | Klorojenik Asit | Kafeik Asit |
| KMS   | 1050,00±40,56a | 109,45±12,99a   | 0,14±0,01a  |
| AF    | 1030,02±16,20a | 45,95±8,82b     | 0,53±0,30a  |
| AS    | 11645±13,13b   | 216,35±8,43c    | 3,92±0,13b  |

*Sonuçlar "Ortalama±Standart hata" olarak verilmiştir (n=3). Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır (P< 0,05).*

Karadut meyvesinde klorojenik asit miktarını Arfan ve ark., (2012), 10,8-23,3 mg/g, Memon ve ark., (2010) 4,41 mg/100g olarak belirlemiştir. Budak (2015) klorojenik asit miktarını ise beyaz dut suyunda 5,78 mg/L, beyaz dut şarabında 21,18 mg/L ve dut sirkesinde 14,83 mg/L olarak belirlemiştir. Beyaz dut meyvesinde ise klorojenik asit miktarı 24,72 µg/g fw. olarak belirlenmiştir (Zhang ve ark., 2008).

Budak (2010), kateşin miktarını üzüm suyunda 6,27 mg/L, üzüm şarabında 57,87 mg/L, üzüm sirkesinde 13,77 mg/L belirtilmektedir. Ayrıca üzüm suyunda bulunmayan kafeik ve şirinjik asit miktarlarını üzüm şarabı ve üzüm sirkesinde sırasıyla 8,16, 9,63; 0,46, 0,7 mg/L olarak belirlemiştir.

#### 4.5. Sirke Üretim Sürecinde Antioksidan Aktivite Değerlerindeki Değişim

Karadut meyvesi yüksek miktarda içerdiği fenolik bileşikler nedeniyle antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir (Arfan ve ark., 2012). Sirke üretim sürecinin karadut suyunun antioksidan özellikleri üzerine etkisi, 4 farklı antioksidan aktivite yöntemi (TEAC, DPPH, CUPRAC ve FRAP) kullanılarak tespit edilmeye çalışılmıştır. KMS, AF ve AS örneklerinde antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.7’de görülmektedir. CUPRAC ve FRAP değerleri hem trolox eşdeğeri olarak hem de doğal bir antioksidan olan C vitamini eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.7 incelendiğinde genel olarak, sirke üretim sürecinde 4 yöntemin sonuçları da benzer şekilde değişim gösterdiği söylenebilir. Asetifikasyon sonrası örneklerin toplam antioksidan aktivite değerlerinin önemli ölçüde yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Antioksidan aktivite değerindeki artış KMS örneği ile karşılaştırıldığında AS örneğinde en fazla yaklaşık %48 değeriyle TEAC yönteminde belirlenmiştir. Bu artışı sırasıyla %32 ile DPPH, %36 ile CUPRAC ve %21 ile FRAP takip etmektedir. Bu durum, fermantasyonla birlikte karadut meyvesinin bünyesinde

bulunan şekerin asetik aside dönüşmesi sonucu şekere bağlı fenolik bileşiklerin açığa çıkmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Meyve ve sebzelerin mayhoş tadından sorumlu olan klorojenik asit polifenol oksidaz varlığında kolaylıkla okside olurlar ve kahverengi bileşiklere dönüşürler (Szajdek ve Borowska, 2008). Klorojenik asit varlığı meyvenin antioksidan aktivite göstermesini sağlamaktadır (Issa ve Abld-Aljabar, 2013). Sirke üretim sürecinde klorojenik asit miktarının artması antioksidan kapasite miktarını arttırdığı söylenebilir.

Çizelge 4.7. Sirke üretim sürecinde KMS, AF ve AS örneklerinin TEAC, DPPH, CUPRAC ve FRAP yöntemlerine göre antioksidan kapasite değerleri

| Örnekler            | KMS            | AF              | AS             |
|---------------------|----------------|-----------------|----------------|
| TEAC (mg/L)         | 6,78±0,50a     | 6,67±0,51a      | 10±0,71b       |
| DPPH(μL/mL)         | 17,14±0,41a    | 11,93±2,92a     | 11,66±0,58b    |
| CUPRAC <sup>1</sup> | 296,22±7,99a   | 295,30±3,39a    | 404±11,30b     |
| CUPRAC <sup>2</sup> | 354,25±8,99a   | 353,21±3,81a    | 475,50±12,71b  |
| FRAP <sup>3</sup>   | 716,28±28,75a  | 820,03±45,20ab  | 869,06±40,66b  |
| FRAP <sup>4</sup>   | 1091,47±44,61a | 1252,46±70,13ab | 1328,53±63,09b |

Sonuçlar “Ortalama±Standart hata”olarak verilmiştir (n=3).<sup>1</sup> Vitamin C cinsinden CUPRAC değeri (mg/L),

<sup>2</sup> Trolox eşdeğeri cinsinden CUPRAC değeri (mg/L), <sup>3</sup> Vitamin C cinsinden FRAP değeri(mg/L), <sup>4</sup> trolox eşdeğeri cinsinden FRAP değeri (mg/L), Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sıra değerleri birbirinden farklıdır (P< 0,05).

Elektron transferine dayanan TEAC yöntemine göre antioksidan aktivite en fazla AS örneğinde gözlenmiştir. Karadut meyvesinde toplam antioksidan aktivite değeri Özgen ve ark., (2009) tarafından 10-14,4 μmol Trolox/g fw olarak belirlenmiştir. Fang ve ark., (2009) tarafından ise ticari böğürtlen sularının antioksidan aktivitesinin TEAC yöntemine göre 769 – 2174 TEAC mg/L arasında olduğu tespit edilmiştir.

ET temelli bir diğer analiz olan DPPH yöntemine göre radikalın %50’sinin inhibisyonunu sağlayan konsantrasyon değeri olarak bilinen EC<sub>50</sub> değeri en düşük olarak AS örneğinde 11,66 μL/mL olarak belirlenmiştir. Bu durum AS örneğinin KMS ve AF örneklerine göre antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Trolox standardı ve Vitamin C kullanılarak belirlenen EC<sub>50</sub> değeri ise sırasıyla 18,42 ve 22,59 μL/mL olarak bulunmuş olup bu değerler AS örneğinin EC<sub>50</sub> değerinden daha yüksek

bulunmuştur. Bu durum ise AS örneğinin Trolox ve Vitamin C'den daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Karadut meyvesinin antioksidan aktivite değeri DPPH yöntemine göre Tomas ve ark. (2015) tarafından 946 mg Trolox/100g dw, Budak (2015) tarafından 16,22-21,17  $\mu\text{mol/g}$  olarak belirlemiştir. Arfan ve ark. (2012) karadut meyvesinde antioksidan aktivite değerini DPPH yöntemine göre 1,25mmol TE/g,  $\text{EC}_{50}$  değeri 48  $\mu\text{g/mL}$  olarak tespit etmişlerdir. Bae ve Suh (2007) farklı dut örneklerinde antioksidan kapasiteyi DPPH yöntemi ile 225,9-537,6 $\mu\text{g}$  ve  $\text{EC}_{50}$  değerini 0,094-0,119 mg olarak belirlemiştir. Trabzon hurması püresi, şarabı ve sirkesinde DPPH yöntemine göre toplam antioksidan aktivite değerleri sırasıyla 1289-1540, 1649-1870, 1457-1731  $\mu\text{molTE/kg}$  olarak belirlenmiş olup sirke üretim sürecinde antioksidan aktivite değerlerinin önemli değişim göstermediği ortaya konulmuştur (Ubeda ve ark., 2011). Diğer yandan farklı bir çalışmada ise nar suyu, nar şarabı ve nar sirkesinin DPPH değerleri sırasıyla 11,4, 8,3, 5 mM Trolox olup sirke üretim sürecinde önemli azalma gösterdiği söylenmiştir (Ordoudi ve ark., 2014).

Çizelge 4.7 incelendiğinde CUPRAC yöntemine göre hem trolox hem de vitamin C standartlarına göre hesaplanan antioksidan aktivite değeri en fazla AS örneğinde belirlenmiştir. Tomas ve ark. (2015), karadut meyvesinde toplam antioksidan aktivite değerini CUPRAC yöntemine göre 4046 mg TE/100g dw olarak belirtirken, karadut meyve suyu üretimi sonucunda 5232mg TE/100g dw olarak önemli yükselme gösterdiğini ifade etmektedir. Diğer taraftan Ordoudi ve ark. (2014) nar suyu, nar alkolü ve nar sirkesinin CUPRAC yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivite değerlerini sırasıyla 21,2, 13,4, 7,8 mM trolox olarak ifade ederken sirke üretim sürecinde antioksidan aktivitede önemli bir azalmanın olduğunu belirlemiştir (Ordoudi ve ark., 2014).

Söz konusu tezde bulunan sonuçlar göz önüne alındığında trolox eşdeğeri cinsinden FRAP değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Karadut suyunun FRAP değeri Khalid ve ark. (2011) 14  $\mu\text{mol/g}$ , Tomas ve ark. (2015) 1836 mg TE/100g, Budak (2015) 12,26-14,11  $\mu\text{mol/g}$ , Özgen ve ark. (2009) 7,3-16,9  $\mu\text{molTE/g}$  olarak belirlenmiştir. Karadut şarabının FRAP değeri Tsai ve ark. (2004) 5717,20  $\mu\text{mol/L}$  olarak belirlenmiş olmasına rağmen karadut sirkesinin FRAP değeri ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

#### 4.6. Duyusal Analiz

Ticari üzüm sirkesi ile karşılaştırılan karadut sirkesinin beğeni durumu tüketici testi yapılarak belirlenmiştir. Tüketici testi için, 7 puanlı hedonik skala kullanılarak 50 kişi tarafından sirke örneklerinin tercih edilme dereceleri belirlenmiştir. Tüketici testi sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Tüketici testi sonucuna göre karadut sirkesi lezzet bakımından “4,72” puanla hedonik skalanın “beğendim” kısmında yer alırken, ticari üzüm sirkesi “3,66” puanla skalanın “ne beğendim ne beğenmedim” kısmında yer almıştır. Görünüş bakımından üzüm sirkesi “3,68” puanla hedonik skalanın “ne beğendim ne beğenmedim” kısmında bulunurken karadut sirkesi “3,22” puanla hedonik skalanın “beğenmedim” kısmında yer almıştır. Koku bakımından ise üzüm sirkesi “3,45” puanla “beğenmedim” kısmında bulunurken karadut sirkesi “4,29” puanla “ ne beğendim ne beğenmedim” kısmında yer almıştır. Genel olarak bakıldığında ise üzüm sirkesi “3,44” puanla “beğenmedim” kısmında yer alırken, karadut sirkesi “4,48” puanla “ne beğendim ne beğenmedim” kısmında yer alarak koku ile benzer sonuçlar göstermiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında karadut sirkesi hem lezzet hemde genel olarak üzüm sirkesine göre daha çok beğenilmiştir ( $P<0,05$ ). Ancak karadut sirkesi görünüş ve koku bakımından istatistiksel olarak üzüm sirkesi ile benzer beğeni sergilemiştir ( $P>0,05$ ). Ayrıca sirkelerin lezzet, görünüş, koku ve genel bakımdan değerlendirilmesinde cinsiyetin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Tüketici testi sonuçları

| Örnek           | Lezzet     | Görünüş    | Koku       | Genel      |
|-----------------|------------|------------|------------|------------|
| Üzüm Sirkesi    | 3,69±0,35a | 3,68±0,30a | 3,45±0,36a | 3,44±0,26a |
| Karadut Sirkesi | 4,72±0,35b | 3,22±0,30a | 4,29±0,36a | 4,48±0,26b |
|                 | Lezzet     | Görünüş    | Koku       | Genel      |
| Erkek           | 4,31±0,37a | 3,52±0,32a | 3,94±0,38a | 4,08±0,28a |
| Kız             | 4,08±0,26a | 3,38±0,22a | 3,79±0,27a | 3,85±0,20a |

## BÖLÜM 5

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Sirke, sağlık üzerine olumlu etkileriyle her geçen gün kullanımı ve gıda sanayisinde üretimi artan bir fermente üründür. Genellikle, gıda sektöründe hammadde olarak elma ve üzüm tercih edilse bile, içerisinde şeker içeren tüm meyve, sebze ve hatta tahıllar gibi her türlü hammaddeden sirke üretilmektedir. Bu araştırmada, zengin biyoaktif bileşenlere sahip karadut meyvesinden yüzey kültür yöntemi kullanılarak sirke üretimi gerçekleştirilmiştir. Hammaddeden başlayarak sirke üretimi sürecinde belli aşamalarda alınan örneklerin (1) Biyoaktif bileşenleri (fenolik bileşen profili, toplam fenol ve monomerik antosiyanin içeriği); (2) Antioksidan özellikleri (TEAC, CUPRAC, DPPH ve FRAP); (3) Fizikokimyasal özellikleri (pH, suda çözünür kurumadde ve titrasyon asitliği) belirlenmiş ayrıca son ürün karadut sirkesinin duyuşal açıdan tüketici beğenisi değerlendirilmiştir.

Zengin fenolik bileşiklere sahip meyve ve sebzeler insan tüketiminde son derece önemli besin kaynaklarıdır. Çeşitli meyve ve sebzelerden üretilen sirkenin de içerdği polifenoller ile insan sağlığına olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir. Yapılan tez çalışmasıyla, karadut sirkesinin bazı fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla toplam fenol, monomerik antosiyanin ve toplam antioksidan aktivite analizleri yapılmış ve sirke üretim sürecinde bu değerlerde önemli değişimler tespit edilmiştir. Bu değişimlerden önemli bir tanesi, karadut meyvesinin kendine özgü renginden sorumlu olan antosiyanin içeriğinde gerçekleşmiştir. Sirke üretim sürecinde antosiyaninler yaklaşık % 90 düzeyinde önemli bir kayba uğramıştır. Renk değerlerinden kırmızı rengin göstergesi olan a değerinde sirke üretimi sonucunda meydana gelen önemli azalış ve  $\Delta E$  değerlerindeki artış antosiyaninlerdeki parçalanmayı doğrulamaktadır. Bu parçalanma düzeyinin görünür düzeyde olduğu  $\Delta E$  değeriyle de ortaya konmuştur. Hali hazırdaki bu sirke üretim prosesi, özellikle antosiyanince zengin ürünlerdeki renkli bileşenlerin korunması açısından uygun olmayıp, bu bileşenlerin daha fazla korunabileceği alternatif üretim yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu açıdan, renkli meyvelerden infüzyon sirke üretim yöntemi ile renkli bileşenlerin daha fazla sirke sıvısına geçebileceği ve korunacağı düşünülmektedir. Yine ikinci olarak, sirke üretim sürecinde karadut meyvesinde bulunan antosiyanin dışındaki diğer fenolik bileşenlerde, toplamda önemli bir azalma meydana gelmezken, bireysel bazı bileşenlerde (kateşin, klorojenik asit ve kafeik asit) artışlar da gözlenmiştir.

Sirke üretim sürecinde, 4 farklı yöntem ile izlenen antioksidan aktivite değerlerindeki değişim benzerlik göstermiştir. Son ürün sirke antioksidan özellik bakımından, hem karadut hem de meyveden oluşturulan karadut alkolüne göre daha yüksek sonuç vermiştir. Hem E vitamininin sentetik bir analogu olan trolox ve hem de doğal bir antioksidan olan C vitamini ile karşılaştırıldığında, karadut sirkesinin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde, karadut sirkesi antioksidan özellik bakımından fonksiyonel bir gıda olarak değerlendirilme potansiyeli yüksektir. Karadut sirkesinin fonksiyonel bir gıda olarak beyan edilebilmesi için, sağlık üzerine olumlu etkilerinin araştırılacağı bir çalışmanın yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Tüketici tercihi bakımından, karadut sirkesi her ne kadar renk açısından meyvenin kendine özgü özelliğini kaybetmiş olsa da, lezzet bakımından üzüm sirkesine göre daha çok beğeniye sahip olduğu ortaya konmuştur.

Sonuç olarak, karadut sirkesinin ülkemizde yöresel üretimden çıkıp sektörel pazarda yer alması gerektiği ve karadut sirkesi veya diğer meyve sirkelerinin sadece salata ve soslarda çeşni olarak değil, Uzak doğu ülkelerinde olduğu gibi çeşitli meyve sularıyla seyretilerek ülkemizin içecek sektörüne alternatif fonksiyonel bir ürün olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abe K., Kushibiki T., Matsue H., Furukawa K.I., Motomura S., 2007. Generation of Antitumor Active Neutral Medium-Sized  $\alpha$ -Glycan in Apple Vinegar Fermentation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71 (9): 2124–2129.
- Akbaş M., 2008. Ülkemizde Üretilen Üzüm Sirkelerinin Bileşimleri ve Gıda Mevzuatına Uygunlukları Üzerine Bir Araştırma. (Yüksek Lisans Tezi) Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Akpoyraz M., Durak İ., 1995. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri. *Ankara Tıp Mecmuası*, 48: 253–262.
- Aktan N., Aktan H., 2011. *Sirke Teknolojisi*. Sidaş Medya Yayınları. 83s.
- Albayrak S., Sağdıç O., Aksoy A., 2010. Bitkisel Ürünlerin ve Gıdaların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26 (4): 401–409.
- Andlauer W., Stumpf C., Fürst P., 2000. Influence of the Acetification Process on Phenolic Compounds. *Journ. of Agric. and Food Chem.*, 48 (8): 3533–3536.
- Andrés V., Villanueva M.J., Tenorio M.D., 2016. The Effect of High-Pressure Processing on Colour, Bioactive Compounds, and Antioxidant Activity in Smoothies During Refrigerated Storage. *Food Chemistry*, 192: 328–335.
- Anonim, 2000. Proposed Draft Revised Regional Standard for Vinegar. CL 2000/18-EURO. Joint FAO/WHO Food Standards Programme – FAO Viale delle Terme di Caracalla 00100 Rome, Italy.
- Anonim, 2003. Sirke-Tarım Kökenli Sıvılardan Elde Edilen Ürün-Tarifler, Özellikler ve İşaretleme, TSE, Türk Standardı TS 1880 EN 13188, Türk Standartları Enstitüsü Ankara.
- Apak R., Güçlü K., Ozyürek M., Karademir S.E., 2004. Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in The Presence of Neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26): 7970–7981.
- Aramwit P., Bang N., Srichana T., 2010. The Properties and Stability of Anthocyanins in

- Mulberry Fruits. *Food Research International*, 43 (4): 1093–1097.
- Arfan M., Khan R., Rybarczyk A., Amarowicz R., 2012. Antioxidant Activity of Mulberry Fruit Extracts. *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 2472–2480.
- Aykin E., 2013. Farklı Sirkelerden Üretilen Sirke Analarının Biyoaktif Bileşenlerinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi) Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye.
- Bae S., Hyung-Joo S., 2007. Antioxidant Activities of Five Different Mulberry Cultivars in Korea. *Food Sci. and Tech.*, 40 (6): 955–62.
- Bağder S., 2008. Türkiye’de Değişik Şarap Bölgelerinden İzole Edilmiş Şarap Mayalarının Teknolojik Özellikleri. (Yüksek Lisans Tezi) Ankara Üniversitesi Ankara, Türkiye.
- Benzie I.F.F., 1996. An Automated, Specific, Spectrophotometric Method for Measuring Ascorbic Acid in Plasma (EFTSA). *Clinical Biochemistry*, 29 (2): 111–116.
- Benzie I.F., Strain J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma As a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1): 70–76.
- Benvenuti S., Pellati F., Melegari M., Bertelli D., (2004). Polyphenols, Anthocyanins, Ascorbic Acid and Radical Scavenging Activity of Rubus, Ribes and Aronia. *J Food Sci* 69: 164–169.
- Biesalski H.K., Dragsted L.O., Elmadfa I., Grossklaus R., Müller M., Schrenk D., Weber P., 2009. Bioactive Compounds: Definition and Assessment of Activity. *Nutrition Journal*, 25 (11-12): 1202–5.
- Budak N.H., 2010. Elma ve Üzümünden Üretilen Sirkelerin Bileşenleri ve Fonksiyonel Özellikleri Üzerine Araştırma. (Doktora Tezi) Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye.
- Budak N.H., 2015. Dut Sirkesi Oluşum Sürecinde İleri Analitik Tekniklerle Toplam Antioksidan Aktivitesi ve Fenolik Bileşenleri. *Meyve Bilimi*, 2 (2): 27–31.
- Budak N.H., Aykin E., Seydim A.C., Greene A.K., Guzel Seydim Z.B., 2014. Functional Properties of Vinegar. *Journal of Food Science*, 79 (5): 757–764.
- Butkhuip L., Samappito W., Samappito S., 2013. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of White Mulberry Fruits. *International Journal of Food Science &*

*Technology*, 48: 934–940.

- Büyüktuncel E., 2013. Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17: 93–103.
- Callejón R.M., Amigo J.M., Pairo E., Garmón S., Ocaña J.A., Morales M.L., 2012. Classification of Sherry Vinegars by Combining Multidimensional Fluorescence, Parafac and Different Classification Approaches. *Talanta*, 88: 456–462.
- Casale M., Sáiz Abajo M.J., González Sáiz J.M., Pizarro C., Forina M., 2006. Study of the Aging and Oxidation Processes of Vinegar Samples from Different Origins During Storage by Near-infrared Spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 557: 360–366.
- Celep E., Charehsaz M., Akyüz S., Türköz Acar E., Yeşilada E., 2015. Effect of in Vitro Gastrointestinal Digestion on the Bioavailability of Phenolic Components and The Antioxidant Potentials of Some Turkish Fruit Wines. *Food Research International* 78: 209–15.
- Cerezo A.B., Tesfaye W., Soria-Díaz M.E., Torija M.J., Mateo E., Garcia-Parrilla M.C., Troncoso A.M., 2010. Effect of Wood on The Phenolic Profile and Sensory Properties of Wine Vinegars During Ageing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (2): 175–184.
- Chang H.C., Huang G.J., Agrawal D.C., Kuo C.L., Wu C.R., Tsay H.S., 2007. Antioxidant Activities and Polyphenol Contents of Six Folk Medicinal Ferns Used as “Gusuibu”. *Botanical Studies*, 48 (4): 397–406.
- Charoenkiatkul S., Thiyajai P., Judprasong K., 2015. Nutrients and Bioactive Compounds in Popular and Indigenous Durian (*Durio zibethinus murr.*). *Food Chemistry*, 193: 181–186.
- Cemeroğlu B. 2007. *Gıda Analizlerinde Genel Yöntemler*. Gıda Analizleri, Bizim Büro Basımevi, Ankara, 327-406s.
- Cleenwerck I., De Vos P., 2008. Polyphasic Taxonomy of Acetic Acid Bacteria: an Overview of the Currently Applied Methodology. *International Journal of Food Microbiology*, 125: 2–14.

- Cocolin L., Pepe V., Comitini F., Comi G., Ciani M., 2004. Enological and Genetic Traits of *Saccharomyces Cerevisiae* Isolated from Former and Modern Wineries. *FEMS Yeast Research*, 5: 237–245.
- Crozier A., Jaganath I.B., Clifford M.N., 2009. Dietary Phenolics: Chemistry, Bioavailability and Effects on Health. *Natural Product Reports*, 26 (8): 1001.
- Çam İ., Türkoğlu N., 2004. Studies on Some Phenological and Pomological Traits of Mulberries Grown in Edremit and Gevaş Region. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 14 (2): 127–131.
- Da Silva R.P.F.F., Rocha-Santos T.A.P., Duarte A.C., 2016. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds. *TRAC Trends in Analytical Chemistry*, 76: 40–51.
- Datta R.K., 2002. Mulberry Cultivation and Utilization in India. *FAO Electronic Conference on Mulberry For Animal Production (Morus-L)*, 1–24.
- Demir A. 2011. Siyah ve Yeşil Çay ile Atıklarının Antioksidan Özelliklerinin Karşılaştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). Rize Üniversitesi, Rize, Türkiye.
- Doboğlu H., 2012. Liyofilizasyonun Karadut (*Morus nigra*) Kurutmadaki Potansiyalinin Konvoksiyonel ve Vakumlu Kurutma Teknikleriyle Kıyaslıyarak Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi) Kahramanmaraş Üniversitesi, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Duda S.C., Mărghițaș L.A., Dezmirean D., Duda M., Mărgăoan R., Bobiș O., 2015. Changes in Major Bioactive Compounds with Antioxidant Activity of *Agastache Foeniculum*, *Lavandula Angustifolia*, *Melissa Officinalis* and *Nepeta Cataria*: Effect of Harvest Time and Plant Species. *Industrial Crops and Products*, 77: 499–507.
- Duyen N.T., Hai L.T., Minh N.P., Thi D., Dao A., 2013. Application of Natural Fermentation To Ferment Mulberry Juice Into Alcoholic Beverage. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 2 (11): 339–346.
- Ebihara K., Nakajima A., 1988. Effect of Acetic Acid and Vinegar on Blood Glucose and Insulin Responses to Orally Administered Sucrose and Starch. *Agriculture Biol. Chem.*, 52 (5): 1310–1311.
- Ekici L., Sağdıç O., 2008. Serbest Radikaller ve Antioksidan Gıdalarla İnhibisyonu. *Gıda Dergisi*, 33 (5): 251–260.

- Elgün A., 2011. Şarabın Sirkeye Dönüşümü. *1.Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi*, 50–58.
- Elhan S., 2014. Farklı Sirke Çeşitleri Ve Konsantrasyonlarının Salata Bileşenlerinin Dezenfeksiyonunda Kullanım İmkanlarının Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi ) Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye.
- Elibol L., 2009. Determination of Metal Contents of Honey, Grape Syrup, Vinegar and Fruit Juices Produced in Turkey By ICP-MS Method. (Yüksek Lisans Tezi) Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye.
- Elmaci Y., Altug T., 2002. Flavour Evaluation of Three Black Mulberry Cultivars Using GC/MS, Chem. and Sens. Data. *J. Sci. Food Agric.*, 82 (6): 632–635.
- Ercisli S. 2004., A Short Review of The Fruit Germplasm Resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51 (4): 419–435.
- Ercisli S., Orhan E., 2007. Chemical Composition of White, Red and Black Mulberry Fruits. *Food Chem.*, 103: 1380–1384.
- Ercisli S., Orhan E., 2008. Some Physicochemical Characteristics of Black Mulberry Genotypes from Northeast Anatolia Region of Turkey. *Sci. Horticult.*, 116: 41–46.
- Erdoğan Ü., 2005. Ülkemizde Dut (*Morus spp.*) Üretimi ve Değerlendirilmesi, 4 (2): 38–43.
- Erdoğan Ü., Pırlak L., 2005. Ülkemizde Dut (*Morus spp.*) Üretimi ve Değerlendirilmesi. *Alatarım*, 4 (2): 38–43.
- Erten C., 2003. Alkol Fermantasyonu Sırasında Oluşan Aroma Maddeleri. *Gıda*.
- Fang Z., Zhang Lü, Ma G., Chen J. Liu D., Ye X., 2009. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacities of Bayberry Juices. *Food Chem.*, 113: 884–888.
- Fushimi T., Tayama K., Fukaya M., Kitakoshi K., Nakai N., Tsukamoto Y., 2001. Acetic Acid Feeding Enhances Glycogen Repletion in Liver and Skeletal Muscle of Rats. *Journ. of Nutr.*, 131: 1973–1977.
- Giusti M.M., Wrolstad R.E., 2001. Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV–visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 121-129

- Gökpınar Ş., Koray T., Akçiçek E., Göksan T., Durmaz Y., 2006. Algal Antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 23 (1/1): 85–89.
- Gülçin İ., 2012. Antioxidant Activity of Food Constituents: An Overview. *Archives of Toxicology*, 86: 345–391.
- Gülçin İ., Kireççi E., Akkemik E., Topal F., Hisar O., 2010. Antioxidant , Antibacterial , and Anticandidal Activities of an Aquatic Plant : Duckweed (*Lemna minor L . Lemnaceae*). *Turk J. Biol.*, 34: 175–188.
- Halliwell B., 1989. Current Status Review : Free Radicals , Reactive Oxygen Species and Human Disease: A Critical Evaluation with Special Reference to Atherosclerosis. *Br. J. Exp. Path.*, 70: 737–757.
- Hamzaloğlu A., Gökmen V., 2016. Interaction between Bioactive Carbonyl Compounds and Asparagine and Impact on Acrylamide. *Acrylamide in Food*, 355–376.
- Hepsağ F., Hayoğlu İ., Hepsağ B., 2012. Karadut Meyvesinin Antosiyanin İçeriği ve Antosiyaninlerin Gıda Sanayinde Renk Maddesi Olarak Kullanım Olanakları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7 (1): 9–19.
- Huang D., Boxin O.U., Prior R.L., 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journ. of Agric. and Food Chem.*, 53 (6): 1841–1856.
- Huo Y., 2002. Mulberry Cultivation and Utilization in China. *FAO Eletronic Conference on Mulberry for Animal Production*, 1 – 34.
- Imran M., Khan H., Shah M., Khan R., Khan F., 2010. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Certain Morus Species. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 11 (12): 973–980.
- Issa N.K., Abld-Aljabar R.S., 2013. Evaluation of Antioxidant Properties of *Morus nigra* L. *Fruit Extracts[II]*, 6 (4): 258–265.
- Jagtap Umesh B., Vishwas A. Bapat., 2015. Wines From Fuits Other Than Grapes: Current Status and Future Prospectus. *Food Bioscience* 9: 80–96.
- Jiang D.Q., Guo Y., Xu D.H., Huang Y.S., Yuan K., Lv Z.Q., 2013. Antioxidant and Anti-fatigue Effects of Anthocyanins of Mulberry Juice Purification and Mulberry Marc Purification from Different Varieties Mulberry Fruit in China. *Food and Chem.*

*Toxic.*, 59: 1–7.

- Kadaş Z., 2013. Alç Sirkesinin Biyoaktif Özelliklerinin ve Metabolik Etkilerinin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi) Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu, Türkiye.
- Kafkas E., Bozdoğan A., Burgut A., Türemiş N., Kargı S., Cabaroğlu Turgut, 2016. Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri. *ResearchGate*.
- Kamiloglu S., Serali O., Unal N., Capanoglu E., 2013. Antioxidant Activity and Polyphenol Composition of Black Mulberry products. *Jour. of Berry Research*, 3 (1): 41-51.
- Kang T.H., Hur J.Y., Kim H.B., Ryu J.H., Kim S.Y., 2006. Neuroprotective Effects of the Cyanidin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside Isolated From Mulberry Fruit Against Cerebral Ischemia. *Neurosci. Letters*, 391: 168–172.
- Kara Ş., Alben Ercelebi E.. 2013. Thermal Degradation Kinetics of Anthocyanins and Visual Colour of Urmu Mulberry. *Journ. of Food Engineering* 116: 541–47.
- Khalid N., Fawad S.A., Ahmed I., 2011. Antimicrobial Activity, Phytochemical Profile and Trace Minerals of Black Mulberry (*Morus Nigra L.*) Fresh Juice. *Pak. J. Bot*, 43: 91–96.
- Kahraman A., Serteser M., Köken T., 2002. Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3: 1–8.
- Kishi M., Fukaya M., Tsukamoto Y., Nagasawa T., Takehana K., Nishizawa N., 1999. Enhancing Effect of Dietary Vinegar on The İntestinal Absorption of Calcium in Ovariectomized Rats. *Biosci., Biotech. and Biochem.*, 63 (5): 905-910.
- Klemm D., Schumann D., Udhardt U., Marsch S., 2001. Bacterial Synthesized Cellulose - Artificial Blood Vessels for Microsurgery. *Progress in Polymer Science*, 26: 1561–1603.
- Kobus-Cisowska J., Gramza-Michalowska A., Kmiecik D., Flaczyk E., Korczak J., 2013. Mulberry Fruit as An Antioxidant Component in Muesli. *Agricultural Sciences*, 04 (05): 130–135.
- Kondo S., Tayama K., Tsukamoto Y., Ikeda K., Yanori Y., 2001. Antihypertensive Effects of Acetic Acid and Vinegar on Spontaneously Hypertensive Rats. *Biosci., Biotech. and Biochem.*, 65 (12): 2690–2694.

- Kostić D.A., Dimitrijević D.S., Mitić S.S., Mitić M.N., Stojanović G.S., Živanović A.V., 2013. Phenolic Content and Antioxidant Activities of Fruit Extracts of *Morus nigra* L (Moraceae) From Southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (1): 105–110.
- Koyuncu F., Çetinbaş, M., Ibrahim E., 2014. Nutritional Constituents of Wild-Grown Black Mulberry. *Journ. of Applied Botany and Food Quality*, 87: 93–96.
- Kris-Etherton P.M., Hecker K.D., Bonanome A., Coval S.M., Binkoski A.E., Hilpert K.F., Etherton T.D., 2002. Bioactive Compounds in Foods: Their Role in the Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *The American Journal of Medicine*, 113 (01): 71–88.
- Kutlu T., Durmaz G., Ateş B., Yılmaz İ., Çetin M.Ş., 2011. Antioxidant Properties of Different Extracts of Black Mulberry. *Turk J Biol*, 35: 103–110.
- Lee J., Kim Y., Park J., Ha S.J., Kim Y., Baek N., Hong E., 2014. Mulberry Fruit Extract Protects Pancreatic  $\beta$ -Cells against Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis via Antioxidative Activity. *Molecules*, 19: 8904–8915.
- Lemańska K., Szymusiak H., Tyrakowska B., Zieliński R., Soffers A.E.M.F., Rietjens I.M.C.M., 2001. The Influence of pH on Antioxidant Properties and The Mechanism of Antioxidant Action of Hydroxyflavones. *Free Radical Biology and Medicine*, 31 (7): 869–881.
- Liu X., Xiao G., Chen W., Xu Y., Wu J., 2004. Quantification and Purification of Mulberry Anthocyanins with Macroporous Resins. *Journ. of Biomedic. and Biotec.*, 5: 326–331.
- Lo Scalzo R., 2008. Organic Acids Influence on DPPH Scavenging by Ascorbic Acid. *Food Chemistry*, 107 (1): 40–43.
- MacDonald-Wicks L., Wood L., Garg M., 2006. Review Methodology for the Determination of Biological Antioxidant Capacity in Vitro: A Review. *Journ. of the Sci. of Food and Agric.*, 86: 2046–2056.
- Machii H., Koyama A.Y.H., 2002. Mulberry Breeding, Cultivation and Utilization in Japan. *FAO Electronic Conference on Mulberry For Animal Production*, 8: 63–72.

- Machlin, L.J., Bendich A., 1987. Free Radical Tissue Damage: Protective Role of Antioxidant Nutrients. *Journ. Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1 (6): 441–45.
- Magalhães L.M., Segundo M.A., Reis S., Lima J.L.F.C., 2008. Methodological Aspects About in Vitro Evaluation of Antioxidant Properties. *Analy. Chim. Acta*, 613 (1): 1–19.
- Malbaša R., Lončar E., Djurić M., 2008. Comparison of Products of Kombucha Fermentation on Sucrose and Molasses. *Food Chemistry*, 106: 1039–45.
- Marsanasco M., Márquez A.L., Wagner J.R., Chiaramoni N.S., Alonso S., 2015. Bioactive Compounds As Functional Food Ingredients: Characterization in Model System and Sensory Evaluation in Chocolate Milk. *Journ. of Food Engineering*, 166: 55–63.
- Martín G., García F., Reyes F., Hernández I., González T., Milera M., 1997. Agronomic Studies with Mulberry in Cuba. *FAO Electronic Conference on Mulberry For Animal Production*.
- Martin G., Reyes F., Hernández I., Milera M., 2002. Agronomic Studies with Mulberry in Cuba. Mulberry for Animal Production, *FAO Animal Production and Health Paper*, 147: 103-114.
- Masino F., Chinnici F., Bendini A., Montevecchi G., Antonelli A., 2008. A study on Relationships Among Chemical, Physical, and Qualitative Assessment in Traditional Balsamic Vinegar. *Food Chemistry*, 106 (1): 90–95.
- Matsui T., Ebuchi S., Fukui K., Matsugano K., Terahana N., Matsumoto K., 2004. Caffeoxyphorose, a New Natural  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitor, from Red Vinegar by Fermented Purple-Fleshed Sweet Potato. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68 (11): 2239–2246.
- Meilgaard M., Civille G.V., Carr T.B., 1999. *Sensory Evaluation Techniques*, third ed. CRC Press, Florida.
- Memon A.A., Memon N., Luthria D.L., Bhanger M.I., Pitafi A.A., 2010. Phenolic Acids Profiling and Antioxidant Potential of Mulberry ( *Morus Laevigata* W., *Morus n. L.*, *Morus a. L.* ) Leaves and Fruits Grown. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 60 (1): 25–32.

- Nandasiri H.M.A.R., 2012. Antioxidant, Antihypertensive and Lipid Lowering Properties of Fruit Vinegar Beverages. (Yüksek Lisans Tezi), Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia.
- Nikolaou E., Soufleros E.H., Bouloumpasi E., Tzanetakis N., 2006. Selection of Indigenous *Saccharomyces C.* Strains According to Their Oenological Characteristics and Vinification Results. *Food Micro.*, 23: 205–211.
- Nishidai S., Nakamura Y., Torikai K., Yamamoto M., Ishihara N., Mori H., Ohigashi H., 2000. Kurosu, a Traditional Vinegar Produced From Unpolished Rice, Suppresses Lipid Peroxidation in Vitro and in Mouse Skin. *Biosci., Biotech. and Biochem.*, 64 (9): 1909–14.
- Nizamlioğlu N.M., Nas S., 2010. Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknojileri Elektronik Dergisi*, 5 (1): 20–35.
- Ogawa N., Satsu H., Watanabe H., Fukaya M., Tsukamoto Y., Miyamoto Y., 2000. Acetic Acid Suppresses the Increase in Disaccharidase Activity That Occurs During Culture of caco-2 cells. *Journ of Nutr.*, 130: 507–513.
- Ordoudi S.A., Mantzouridou F., Daftsiou E., Malo C., Hatzidimitriou E., Nenadis N., Tsimidou M. Z., 2014. Pomegranate Juice Functional Constituents After Alcoholic and Acetic Acid Fermentation. *Journal of Functional Foods*, 8: 161–168.
- Orhan E., Ercisli S., 2010. Pomological Characteristics of Selected Promising Mulberry Genotypes (*Morus sp.*) From Northeast Anatolia. *WFL Publisher Science and Technology*, 8: 3–6.
- Osman A.M., Wong K.K.Y., Hill S.J., Fernyhough A., 2006. Isolation and The Characterization of The Degradation Products of The Mediator ABTS-derived Radicals Formed Upon Reaction with Polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 340 (2): 597–603.
- Ozturk I., Caliskan O., Tornuk F., Ozcan N., Yalcin H., Baslar M., Sagdic O., 2015. Antioxidant, Antimicrobial, Mineral, Volatile, Physicochemical and Microbiological Characteristics of Traditional Home-made Turkish Vinegars. *LWT - Food Science and Technology*, 63 (1): 144–151.
- Özen G., Akbulut M., 2008. *Dut Suyu Antosiyanin İçeriğinin Belirlenmesi*. Türkiye 10.

- Gıda Kongresi , Erzurum. 279–82.
- Özgen M., Serçe S., Kaya C., 2009. Phytochemical and Antioxidant Properties of Anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* Fruits. *Scie. Horticult.*, 119 (3): 275–279.
- Perez-Vizcaino F., Duarte J., 2010. Flavonols and Cardiovascular Disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 31 (6): 478–494.
- Pham-Huy L. ve Pham-Huy C., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4 (2): 89–96.
- Polat İ., 2013. Parmak Dutların (*Morus Laevigata*) Fenolojik, Pomolojik Özellikleri ve Olgunlaşma Esnasındaki Fitokimyasal Değişimleri. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye.
- Polat A.A., 2004. Hatay’ın Antakya İlçesinde Yetiştirilen Bazı Dut Tiplerinin Meyve Özelliklerinin Belirlenmesi, *Bahçe*, 33 (1-2): 67–73.
- Prior R.L., Cao G., 1999. In Vivo Total Antioxidant Capacity: Comparison of Different Analytical Methods. *Free Radic Biol Medicine*, 27 (11-12): 1173–1181.
- Re K.D., 2002. Mulberry Cultivation and Utilization in India. *FAO Electronic Conference on Mulberry for Animal Production*, 1 – 34.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radic. Biol. and Medic.*, 26 (9-10): 1231–1237.
- Saeki A., Taniguchi M., Matsushita K., Toyama H., Theeragool G., Lotong N., Adachi O., 1997. Microbiological Aspects of Acetate Oxidation by Acetic Acid Bacteria, Unfavorable Phenomena in Vinegar Fermentation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 61 (2): 317–323.
- Sáiz-Abajo M.J., González-Sáiz J.M., Pizarro C., 2004. Classification of Wine and Alcohol Vinegar Samples Based on Near-Infrared Spectroscopy. Feasibility Study on the Detection of Adulterated Vinegar Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7711–7719.
- Samanidou V.F., Antoniou C.V., Papadoyannis I.N., 2001. Gradient RF-HPLC

- Determination of Free Phenolic Acids in Wines and Wine Vinegar Samples After Spe, With Photodiode Array Identification. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 24 (14): 2161–2176.
- Lo Scalzo, R., 2008. Organic Acids Influence on DPPH Scavenging by Ascorbic Acid. *Food Chemistry*, 107 (1): 40–43.
- Shimoji Y., Tamura Y., Nakamura Y., Nanda K., Nishidai S., Nishikawa Y., Ohigashi H., 2002. Isolation and Identification of DPPH Radical Scavenging Compounds in Kurosu (Japanese Unpolished Rice Vinegar). *Journ. of Agricul. and Food Chem.*, 50: 6501–6503.
- Singleton V.L., Rossi J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journ. of Enology and Vitic.*, 16: 144–158.
- Solieri L., Giudici P., 2009. *Vinegars of the World*.
- Su M, Po-Jung C., 2007. Antioxidant Activity, Anthocyanins, and Phenolics of Rabbiteye Blueberry Fluid Products as Affected by Fermentation. *Food Chem.*, 104 (1): 182–87.
- Su M, Silva J., 2006. Antioxidant Activity, Anthocyanins, and Phenolics of Rabbiteye Blueberry by-products as Affected by Fermentation. *Food Chem.*, 97 (3): 447–51.
- Szajdek A., Borowska E.J., 2008. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits: A Review. *Plant Foods for Human Nutr.*, 63 (4): 147–153.
- Tan S.C., 2003. Vinegar Fermentation. (Yüksek Lisans Tezi) Louisiana State University, Lafayette, ABD.
- Tiwari B.K., Muthukumarappan K., O'Donnell C.P., Cullen P.J., 2008. Colour Degradation and quality Parameters of Sonicated Orange Juice Using Response Surface Methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 41: 1876–1883.
- Tokbaş H., 2009. Karadut Meyvesinin (*Morus nigra* L.) Reçel ile Marmalata İşlenmesi ve Ürünlerin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye.
- Tomas M., Toydemir G., Boyacioglu D., Hall R., Beekwilder J., Capanoglu E., 2015. The

- Effects of Juice Processing on Black Mulberry Antioxidants. *Food Chemistry*, 186: 277–284.
- Tosun İ., Yüksel S., 2003. Üzümsü Meyvelerin Antioksidan Kapasitesi. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 28 (3): 305–311.
- Trujillo F.U., 2008. Mulberry for Rearing Dairy Heifers. *FAO Electronic Conference on Mulberry For Animal Production (Morus-L)*, 1–5.
- Tsai P.J., Huang H.P., Huang T.C., 2004. Relationship Between Anthocyanin Patterns and Antioxidant Capacity in Mulberry Wine During Storage. *Journal of Food Quality*, 27 (6): 497–505.
- Ubeda C., Hidalgo C., Torija M.J., Mas. A., Troncoso A.M., Morales M.L., 2011. Evaluation of Antioxidant Activity and Total Phenols Index in Persimmon Vinegars Produced by Different Processes. *Food Sci. and Tech.*, 44 (7): 1591–1596.
- Ubeda C., Calejon R.M., Hidalgo C., Torija M.J., Troncoso A.M., Morales M.L., 2013. Employment of Different Processes for The Production of Strawberry Vinegars: Effects on Antioxidant Activity, Total Phenols and Monomeric Anthocyanins. *LWT - Food Science and Technology* 52 (2): 139–45.
- Ünal E., 2007. Dimrit Üzümünden Değişik Yöntemlerle Sirke Üretimi Üzerinde Bir Araştırma. (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Ünlüer A., 2011. Beyaz Dut (*Morus alba*) ve Karadut (*Morus nigra*) Yaprak Özütləri Üzerine Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları. (Yüksek Lisans Tezi). Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, Türkiye.
- Xu Q, Tao W., Za O., 2007. Antioxidant Activity of Vinegar Melanoidins. *Food Chemistry* 102: 841–49.
- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2006. Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160 (1): 1–40.
- Yetiman A.E., 2012. Sirke Mikroflorasındaki Asetik Asit Bakterilerinin Moleküler Teknikler ile Tanımlanması. (Yüksek Lisans Tezi) Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Türkiye.

- Yiğit N., Yiğit D., Özgen U., Aktaş A.E., 2007. Kara Dut (*Morus nigra L.*)'un Antikandidal Aktivitesi. *Türk Mikrobiyol Cem. Derg.*, 37 (3): 169–173.
- Yıldırım H.K., Hasan Ş., 2010. Farklı Mayşe Fermantasyon Sıcaklığı ve Süresinin Kırmızı Şarabın (Cabernet Sauvignon ) Kimyasal ve Fiziksel Özelliklerine Etkisi. *Akademik Gıda*, 8 (5): 12–19.
- Yılmaz K.U., Zengin Y., Ercisli S., Demirtas M.N., Kan T., Nazli A.R., 2012. Morphological Diversity on Fruit Characteristics Among Some Selected Mulberry Genotypes From Turkey. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22 (1): 211–214.
- Zhang W., Han F., He J., Duan C., 2008. HPLC-DAD-ESI-MS/MS Analysis and Antioxidant Activities of Nonanthocyanin Phenolics in Mulberry. *Journ. of Food Science*, 73 (6): C512–8.

## **ÖZGEÇMİŞ**

### **KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı : Fatma İpek MARANGOZ

Doğum Yeri : Ezine

Doğum Tarihi : 01.01.1987

### **EĞİTİM DURUMU**

Lisans Öğrenimi : Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü 2011

Yandal : İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, İşletme

Bölümü Üretim ve Yönetimi Yandal Program 2011

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### **İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Barış Çeliker Gıda Tarım Hay. San. ve Tic. Ltd Şti

Üretim ve Kalite Sorumlusu (1,5 yıl)

### **İLETİŞİM**

E-posta Adresi : fipekmarangoz@gmail.com