

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ALIÇ SİRKEİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Gölce Buket ÖZDEMİR

**Danışman
Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ**

**II. Danışman
Doç. Dr. Nilgün BUDAK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
İSPARTA - 2019**



© 2019 [Gölce Buket ÖZDEMİR]

TEZ ONAYI

Gölce Buket ÖZDEMİR tarafından hazırlanan "**Alıç Sirkesinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ
Süleyman Demirel Üniversitesi

II. Danışman

Doç. Dr. Havva Nilgün BUDAK
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Ebru ÇUBUK DEMİRALAY
Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Onur GÜNEŞER
Uşak Üniversitesi

Jüri Üyesi

Dr. Öğretim Üyesi Alper KUŞÇU
Süleyman Demirel Üniversitesi

Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Şule Sultan UĞUR

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Gölce Buket ÖZDEMİR



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1. Hammadde.....	3
2.2. Sirke Tanımı.....	4
2.3. Sirke Üretimi.....	5
2.3.1. Yüzey Kültür Fermantasyon (Geleneksel-Yavaş) Yöntemi.....	5
2.3.2. Jeneratör-Hızlı Yöntem.....	6
2.3.3. Daldırılmış Kültür (Submers) Yöntemi.....	6
2.4. Sirkenin Sağlık Üzerine Etkileri.....	7
2.5. Antioksidan Aktivitesi.....	9
2.5.1. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC).....	9
2.5.2. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC).....	12
2.6. Toplam Fenolik Madde.....	15
2.7. Fenolik Bileşenler.....	17
2.8. Organik Asitler.....	18
2.9. Antimikrobiyal Etki.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1. Materyal.....	26
3.1.1. Hammadde.....	26
3.2. Yöntem.....	26
3.2.1. Alıç suyu üretimi.....	26
3.2.2. Alıç Suyundan Şarap Üretimi.....	26
3.2.3. Sirke Üretimi.....	26
3.2.4. Kimyasal Analizler.....	28
3.2.4.1. Titrasyon Asitliği Tayini.....	29
3.2.4.2. pH Tayini.....	29
3.2.4.3. Toplam Kuru Madde ve Briks Tayini.....	29
3.2.4.4. Alkol Tayini.....	30
3.2.5. Antioksidan Aktivite Tayini.....	30
3.2.5.1. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC).....	30
3.2.5.2. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC).....	32
3.2.6. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	34
3.2.7. Fenolik Bileşen Tayini.....	35
3.2.8. Organik Asit Tayini.....	36
3.2.9. Antimikrobiyal Analizler.....	38
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	39
4.1. Alıç sirkesi Üretim Aşamalarındaki Kimyasal Analiz Sonuçları.....	39
4.2. Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları.....	40
4.2.1. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC) Sonuçları....	40
4.2.2. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) Sonuçları.....	41

4.3. Toplam Fenolik Madde Tayini Sonuçları.....	42
4.4. Fenolik Bileşen Tayini Sonuçları	44
4.5. Organik Asit Tayini Sonuçları	46
4.6. Antimikrobiyal Analiz Sonuçları.....	48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ	69



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ALİÇ SİRKESİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Gülce Buket ÖZDEMİR

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ

II. Danışman: Doç. Dr. Havva Nilgün BUDAK

Alıç özellikle geleneksel ve tamamlayıcı tıp alanında uzun yıllardır kullanılan bir meyvedir. Tıp alanında astım, mide ağrısı, öksürük, grip, romatizmal ağrı, nefrit, hemoroid, kalp hastalıkları, kanser ve diyabet için terapötik ajan olarak kullanılmasının yanı sıra, kalp-damar hastalıklarını tedavi etmek için de kullanılmaktadır.

Ülkemizde Batı ve Güney Anadolu ağırlıkta olmak üzere; genel olarak derelere bakan yamaçlarda, kayalık, taşlık yerlerdeki çalılıkların içinde, ormanlarda veya dağlık alanlara yayılmış olan alıç meyvesinin eylül-ekim aylarında hasatı yapılmaktadır. Alıç, askorbik asit, antosiyaninler ve flavonoidler bakımından zengin bir meyvedir.

Bu tez çalışmasında Ankara ve Burdur civarından toplanmış alıçlardan yüzey kültür yöntemiyle üretilmiş sirkelerin bazı kimyasal ve fonksiyonel özellikleri belirlenmesi amaçlanmıştır. Sirke ve sirke üretim aşamalarında alınan örneklerde titrasyon asitliği, pH, toplam kuru madde, briks, alkol, toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, fenolik bileşenler, organik asitler belirlenmiştir.

Alıç sirkesinin antioksidan kapasitesi TEAC ve ORAC analizleri ile belirlenmiş olup sırası ile 13.01 ± 0.70 mM ve 34.08 ± 2.64 $\mu\text{mol/mL}$ sonuçları elde edilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği 2.4207 ± 0.02 g/L olarak tespit edilmiştir. Fenolik bileşenler gallik asit, klorojenik asit, kateşin, epikateşin, kafeik asit, HPLC yöntemiyle belirlenmiş olup, en yüksek değer gallik asitte görülmüştür.

Alıç sirkesinde gerçekleştirilen organik asit tayini HPLC yöntemiyle gerçekleştirilmiş; oksalik asit, malik asit, laktik asit, asetik asit ve sitrik asit tespit edilmiş; sitrik asit, laktik asit ve asetik asitin belirgin organik asitler olduğu görülmüştür. Alıç sirkesinin disk difüzyon yöntemi ile *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *C. jejuni* ve *L. monocytogenes* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etkisi gözlenmiştir.

Çalışmamızın sonucunda, alıç sirkesinin yüksek antioksidan kapasitesi ve fenolik bileşen içeriği ile organik asit varlığı ve antimikrobiyal etkisi göz önüne alındığında; ekonomik olan hammaddesi ve alıç sirkesinin duyusal olarak beğeni alması endüstriyel olarak değerlendirilmesi açısından ön plana çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Alıç sirkesi, antioksidan, antimikrobiyal, ORAC, TEAC, fenolik bileşen, organik asit

2019, 68 sayfa



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF PROPERTIES ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT OF HAWTHORN (CRATAEGUS) VINEGAR

Gölce Buket ÖZDEMİR

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Tuğba KÖK TAŞ

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Havva Nilgün BUDAK

Hawthorn is a fruit that has been used in traditional and complementary medicine for many years. In the field of medicine is used for asthma, stomach pain, cough, influenza, rheumatic pain, nephritis, hemorrhoids, heart diseases, cancer and diabetes as therapeutic agents. It also used for the treatment of cardiovascular diseases. In our country, Hawthorn grows mainly in Western and Southern Anatolia; especially on riversides and in the bushes on rocky lands. The hawthorn fruit, which is spread in forests or mountainous areas, is harvested in September-October. It is rich in ascorbic acid, anthocyanins and flavonoids.

In this thesis, it is aimed to determine some chemical and functional properties of vinegars produced by surface culture method. Titration acidity, pH, total dry matter, brix, alcohol, total antioxidant activity, total phenolic substance, phenolic compounds, organic acids were determined in samples taken during vinegar and vinegar production stages.

The antioxidant capacity of hawthorn vinegar was determined by TEAC and ORAC analyzes and 13.01 ± 0.70 mM and 34.08 ± 2.64 $\mu\text{mol/mL}$ respectively. Total phenolic content was determined as 2.4207 ± 0.02 g/L. Phenolic compounds were determined as gallic acid, chlorogenic acid, catechin, epicatechin, caffeic acid, and highest in gallic acid.

Oxalic acid, malic acid, lactic acid, acetic acid and citric acid were determined in organic acid determination in hawthorn vinegar. Citric acid, lactic acid and acetic acid were found to be significant organic acids. The antimicrobial effect of hawthorn vinegar on the microorganisms of *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *C. Jejuni* and *L. monocytogenes* was observed by disk diffusion method.

As a result of our study, considering the high antioxidant capacity and phenolic component content of hawthorn vinegar and presence of organic acid and its

antimicrobial effect; sensible appreciation of raw material and hawthorn vinegar is considered as an industrial evaluation.

Keywords: Hawthorn vinegar, antioxidant, antimicrobial, ORAC, TEAC, phenolic component, organic acid

2019, 68 pages



TEŞEKKÜR

Bana olan inanç ve desteklerini esirgemeyen, tez çalışmam boyunca bilgileri ile ışık tutan, motive eden değerli danışman hocalarım Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ ve Doç. Dr. Havva Nilgün BUDAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bilgi ve destekleri ile beni yönlendiren Arş. Gör. Dr. Bilge ERTEKİN FİLİZ, Arş. Gör. Dr. Ece SÖĞÜT' e teşekkür ederim.

Tez çalışmama başlamada beni cesaretlendiren ve yanımda olan değerli arkadaşım Sevgi ATILGAN ve yaptığım analizler süresince yardımları ile beni yalnız bırakmayan Çağlar GÖKIRMAKLI'ya teşekkür ederim.

Tez konum olan alıcın temini ve işlenmesinde desteklerini esirgemeyen ISS ailesi ve TED Ankara Koleji ISS yöneticilerine teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan ve bana her zaman inanan, öğrenim hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

GÜLCE BUKET ÖZDEMİR
ISPARTA, 2019

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Alıç meyvesi.....	3
Şekil 2.2. ORAC yönteminde toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi...	13
Şekil 3.1. Alıç meyvesinden sirke üretim akış şeması	27
Şekil 3.2. Alıç ürünlerinden numune alımı	28
Şekil 3.3. Troloks standart eğrisi	32
Şekil 3.4. Gallik asit standart eğrisi.....	34
Şekil 3.5. Toplam fenolik madde tayini için hazırlanmış denet tüpleri	35
Şekil 3.6. Fenolik bileşen standartlarına ait kromatogram	36
Şekil 3.7. Alıç sirkesi örneğine ait fenolik bileşen kromatogramı	36
Şekil 3.8. Organik asit standart karışımlarına ait örnek kromatogram.....	37
Şekil 3.9. Alıç suyu örneğine ait organik asit kromatogramı	37
Şekil 4.1. TEAC yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite değerleri.....	40
Şekil 4.2. Alıç sirkesinin <i>E. faecalis</i> üzerinde Antimikrobiyal etki zonları....	49
Şekil 4.3. Alıç sirkesinin <i>L. monocytogenes</i> üzerinde Antimikrobiyal etki zonları.....	50
Şekil 4.4. Alıç sirkesinin <i>C. jejuni</i> üzerinde Antimikrobiyal etki zonları	50
Şekil 4.5. Alıç sirkesinin <i>S. aureus</i> üzerinde Antimikrobiyal etki zonları	51
Şekil 4.6. Alıç sirkesinin <i>E. coli</i> üzerinde Antimikrobiyal etki zonları	51
Şekil 4.7. Disk difüzyon yöntemi	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Farklı gıda örneklerindeki toplam fenolik madde içerikleri.....	16
Çizelge 3.1. Örnek kodları ve gerçekleştirilen analizler	28
Çizelge 3.2. ORAC analizi örnekleri sonuçlarına örnek veri formu	32
Çizelge 3.3. Mikroorganizmalar için kullanılan besiyerleri tablosu.....	38
Çizelge 4.1. Alıç sirkesi üretim aşamaları kimyasal analiz sonuçları	39
Çizelge 4.2. Alıç sirkesi üretim aşamalarında toplam fenolik madde içerikleri	43
Çizelge 4.3. Alıç sirkesi üretim aşamaları fenolik bileşen içerikleri	44
Çizelge 4.4. Alıç sirkesi üretim aşamalarında tespit edilen organik asit içerikleri	46
Çizelge 4.5. Alıç sirkesinin mikroorganizma inhibisyon zon çapları.....	51



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAPH	2,2'-Azobis (2-amidinopropan) dihidroklorid
ABTS	2,2'-azinobis 3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
DPPH	Stabil radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FRAP	Fluorescence Recovery After Photobleaching
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MCCD	Modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate
ORAC	Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
PBS	Phosphate Buffered Saline
PTFE	Politetrafloroetilen
TEAC	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
DW	Kuru Madde



1. GİRİŞ

Sirke dünyada farklı hammaddelerden üretilen; özellikle tahıl ve meyvelerin kullanıldığı önemli bir gıda ürünüdür. Avrupa ve Amerika'da sirke üretiminde elma ve üzüm başta olmak üzere yaygın olarak meyve sirkesi üretilmektedir (Ishihara vd., 2018).

Alıç; *Crataegus* cinsi Rosaceae ailesine aittir. Kuzey Yarımküre'de yaygındır. Esas olarak Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da yaygındır (González-Jiménez vd., 2018). Ülkemizde Batı ve Güney Anadolu ağırlıkta olmak üzere; genel olarak derelere bakan yamaçlarda, kayalık, taşlık yerlerdeki çalılıkların içinde, ormanlarda veya dağlık alanlara yayılmış olan alıç meyvesinin eylül-ekim aylarında hasatı yapılmaktadır. Alıç türlerinin farklı parçaları (yaprak, çiçek, filiz, kök), geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarında tercih edilmektedir (Meriçli ve Ergezen, 1994, Yeşilada vd., 1997, Sezik vd., 2001, Kültür, 2007). Tıp alanında astım, mide ağrısı, öksürük, grip, romatizmal ağrı, nefrit, hemoroid, kalp hastalıkları için kullanılmaktadır (Meriçli ve Ergezen, 1994).

Alıç bitkisi kanser ve diyabet için terapötik ajan olarak kullanılmasının yanı sıra, kalp-damar hastalıklarının tedavisi için de kullanılmaktadır (Ljubuncic vd., 2005). Alıç, Kuzey Çin'de tıbbi bir madde olarak; sindirim rahatsızlıkları, nefes darlığı, böbrek taşı tedavisi ve kardiyovasküler bozuklukların tedavisinde kullanıldığı tespit edilmiştir (Zheng vd., 2010a). Bitkisel ilaçlar; gastrointestinal şikayetler, yüksek tansiyon, boğaz ağrısı, soğuk algınlığı, cilt hastalıkları ve diğer hastalıklar gibi sayısız hastalığın tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Sixt ve Strube, 2018). *Crataegus* (alıç) türlerine ait yaprak ve çiçeklerden elde edilen preparatlar, tıp literatüründe 1. yüzyıldan bu yana ilaç olarak ele alınmıştır (Kaul R., 1998). Alıç yaprakları ve çiçekleri içeren tıbbi ürünler 30 yılı aşkın süredir (AB içinde 15 yıl) kullanımda olduğundan, 2016 yılında, Avrupa İlaç Kurumu (EMA), Bitkisel Tıbbi Ürünler Komitesi (HMPC) aracılığıyla; geçici sinir kardiyak şikayetlerinin semptomlarının giderilmesi için alıç kullanımı (ciddi tıbbi durumlar haricinde) geleneksel olarak kabul edildi (HMPC:EMA/HMPC/159075/2014, 2016). Bu ürünün güvenlik profili ile ilgili

olarak, Avrupa İlaç Kurumu, alıç yapraklarının ve çiçeklerinin kullanımının onaylanmış endikasyonlar altında kullanıldığında güvenli olarak kabul edilebileceği sonucuna varmıştır (HMPC: EMA/HMPC/159076/2014, 2016).

Alıç'ın sağlık konusundaki yararları flavonoid, antosiyanin (oligomerik prosiyanidinler) içeriğine atfedilmiştir. Hayvan çalışmaları hipolipidemik, hipotansif, antioksidan, radikal süpürücü ve antiinflamatuvar etkileri gösterilmiştir. Kronik kalp yetmezliğinde, alıç ekstresi ek bir terapötik ajan olabilir. Hipertansiyon ve hiperlipideminin alıç kullanımı ile iyileşme gösterdiği görülmüştür. Bununla birlikte, alıç tüketimi ile kardiyovasküler hastalık kaynaklı mortalite henüz ilişkilendirilmemiş ve bazı ilaçlarla etkileşime girebildiği tespit edilmiştir (Kashyap vd.,2012; Kumar vd., 2012; Yang vd., 2012; Edwards vd., 2010; Tassell vd., 2010; Jurikova vd., 2012; Mraihi vd., 2014; Pittler vd., 2008; Dahmer vd., 2012).

Tüketiciler gıda kaynaklı patojenik mikroorganizmaları inhibe etmek için doğal koruyucu yöntemleri tercih etmektedir (Rauha vd., 2000). Oral patojenleri elimine etmek için antimikrobiyal ajanlar kullanılmaktadır. Geleneksel antimikrobiyal ajanların aşırı kullanımı, mikrobiyal direnç, oral florada dengesizlik ve sayısız ters etki ile sonuçlandığı için; bu dezavantajlar, araştırmacıları oral patojenler için güvenli ve spesifik olan alternatif yeni antimikrobiyal madde araştırması için teşvik etmiştir. Bitkilerin terapötik ajanlar olarak kullanımı, olumsuz etkilerinin az olması sebebiyle ilgi çekmektedir. Bu sebeple; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter jejuni* ve *Listeria monocytogenes* inhibisyonunda alternatif olarak alıç sirkesinin antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır.

Bu tezin amacı ülkemizde yetiştirilen alıçlardan geleneksel yöntemlerle sirke üretimi gerçekleştirmektir. Sirke üretiminin belirli aşamalarından örnek alıp antioksidan ve biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesi sağlanarak, elde edilen alıç sirkesinin sağlık üzerindeki etkileri belirtilen patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Hammadde

Alıç; *Crataegus* cinsi Rosaceae ailesine aittir. Kuzey Yarımküre'de yaygındır. Esas olarak Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da yaygındır (González-Jiménez vd., 2018). Çinde üretilen alıç bitkisinin üretimi 1700 lü yıllara dayandığı bilinmekte; 18 tür ve 6 çeşit alıç bitkisi yetiştirilmektedir (Liu vd., 2016). Olgunlaşmış meyvenin rengi sarı, yeşil, kırmızı veya koyu mor olabilir (Bown, 1995). Alıç, askorbik asit, antosiyaninler ve flavonoidler bakımından zengindir (Liu vd., 2011). Potansiyel bir pektin kaynağı olarak alıç, geniş dağılımı ve meyvede yüksek oranda pektin içeriği ile önemlilik düzeyi artmıştır. Meyvesi, yüksek miktarda pektin (yaklaşık %9.94), indirgen şeker (yaklaşık %5.50) ve antosiyaninler (yaklaşık %0.03) ve flavonoid (yaklaşık %1.93) gibi polifenoller içerir (He vd., 2013; Cuevas-Bernardino vd., 2016).

Alıç meyvesinden günümüzde farklı gıda ürünleri üretilebilmektedir. Alıç meyve şurubu, jöle, salça, pekmez, meyve suyu, alkolsüz içecekler, soslar, nektar, alıçlı yoğurt, lokum için aroma maddesi, kuru alıç üretilebilmektedir. Ayrıca üretilen alıç tozu kek, bisküvi, şekerleme ve dondurmada da kullanılabilmektedir (Zheng vd., 2010b; Batu, 2012).



Şekil 2.1. Alıç meyvesi

2.2. Sirkenin Tanımı

Sirke, etil alkol ve asetik asit fermantasyonları olmak üzere iki aşamalı fermantasyon uygulaması ile nişasta ve/veya şeker içeren hammaddelerden üretilir (Anonim, 1982). Sirke, “Üzüm ve incir gibi şekerli meyvelerin önce alkol fermantasyonuna sonra asetik asit (sirke) fermantasyonuna tabi tutulması ile elde edilen madde” olarak Gıda Maddeleri Tüzüğü’nün 627. Maddesinde tanımlanmaktadır.

TSE 1880 EN 13188 sirke standardına göre sirke; “Tarım kökenli sıvılar veya diğer maddelerden, iki aşamalı alkol ve asetik asit fermantasyonu ile, biyolojik yolla üretilen kendine özgü ürün” olarak tanımlanmaktadır. Bu standartta sirke çeşitleri, üretiminde kullanılan hammaddelere göre; şarap sirkesi, meyve sirkesi, meyve şarabı sirkesi, elma şarabı sirkesi, alkol sirkesi, tahıl sirkesi, malt sirkesi, aromalı sirke ve diğer sirkeler olarak verilmiştir. Bunlardan şarap (üzüm) sirkesi “biyolojik yolla asetik asit fermantasyonu ile sadece şaraptan (sadece taze üzümünden elde edilen şarap) elde edilen sirke” şeklinde tanımlanmıştır. TS 1880 EN 13188’e göre ülkemizde üretilen sirkelerin toplam asit içeriği (suda serbest asetik asit cinsinden) 40 g/L’den az olmamalıdır. Kalıntı alkol oranı ise, şarap sirkesi dışındaki sirkelerde hacimce %0.5, şarap sirkelerinde hacimce %1,5 ve özel sirkelerde hacimce %3’ten fazla olmamalıdır (TS 1880 EN 13188). Sirke üretiminde şarap, taze ve kuru üzüm, yaş ve kuru meyveler (elma, muz, muz kabukları, hurma, portakal, mango, şeftali, erik, kayısı, ananas, incir, kiraz, dut, armut) ve bunların cibreleri, malt, bal, domates, pirinç kullanılabilmektedir. Meyve sirkelerinin bileşimi organik asitler, fenolik bileşikler, amino asitler, vitaminler ve mineral maddeler bakımından zengindir (Liu vd., 2008; Budak, 2010).

Sirkenin en önemli kalite kriteri asetik asit içeriğidir. TS 1880’e göre şarap sirkesinin toplam asit içeriği asetik asit cinsinden en az 4 g/100 mL olmalıdır. Sirkenin pH değeri ise 2.0-3.5 arasındadır (Aktan ve Kalkan, 1998). Sirkeler yavaş yöntem (geleneksel), hızlı yöntem (jeneratör) ve daldırılmış kültür (submers) yöntemi olmak üzere başlıca üç yöntemle üretilmektedir. Sirke

Üretim yöntemleri arasından, daldırılmış kültür yöntemi daha hızlı ve ekonomik olmasına karşın, kalite açısından yavaş yöntem daha iyi sonuç vermektedir. Hızlı yöntem ve derin kültür yöntemi, ekonomik açıdan ve üretim süresi açısından, yavaş yönteme göre daha avantajlı olduklarından ticari olarak sirke üretiminde en çok bu yöntemler kullanılmaktadır (Morales vd., 2001; Tan, 2005).

2.3. Sirke retimi

Sirke retimi, alkol fermentasyonu ve asetik asit fermentasyonu olmak üzere iki aşamalı fermentasyon prosesinden oluşur. Birinci aşama alkol fermentasyonu olup fermente edilebilir şekerlerin *Saccharomyces* türlerinden oluşan mayalar tarafından anaerobik koşullar altında etanol ve karbondioksite dönüştürülmesidir. İkinci aşamada, ilk aşamada oluşan alkolün *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pastorianus* ve *Acetobacter hansenii* gibi asetik asit bakterileri tarafından aerobik koşullar altında asetik asit ve suya dönüştürüldüğü asetik asit fermentasyonu yapılır (Plessi, 2003).

Endüstriyel olarak sirke üretiminde yüksek oranda asit oluşturma yeteneğine sahip olan asetik asit bakterileri kullanılmaktadır. Sirke retiminde kullanılan başlıca bakteriler; *Acetobacter acetogenum*, *Acetobacter schutzenbachii*, *Acetobacter curum*' dur.

2.3.1. Yüzey Kültür Fermentasyon (Geleneksel- Yavaş) Yöntemi

Geleneksel sirke fermentasyonu metodunda, yüzey kültür fermentasyonu ile doğal olarak asetik asit fermentasyonu gerçekleşmektedir. Bu yöntemde sirkeleştirilecek mayşe bir fıçı içinde uzun süre bekletilir. şaraba pastörize edilmemiş eski sirke (% 25-30) aşılanır ve 28-30 °C de fermentasyona bırakılır. 7 gün içinde sıvının üzerinde zar oluşumu gözlenir ve zar zamanla kalınlaşarak "sirke anası" oluşumu gerçekleşir. Sirke oluşumunun tamamlandığı sirke anasının kendiliğinden çökmesi ile anlaşılmaktadır. Asetik asit fermentasyonu sonunda üst oksidasyonu engellemek ve aroma maddelerinin meydana gelebilmesi için % 0.5-1.0 alkolün sirkede kalması gerekmektedir. Üretim

yaklaşık 6-8 haftada tamamlanmaktadır (Türker, 1963; Aktan ve Kalkan, 1998; Nanda vd., 2001; Bamforth, 2005; Tan, 2005).

Etil alkol fermentasyonu ile mayalar anaerobik yolla şekeri etil alkole parçalamaktadır. Sonrasında gerçekleştirilecek asetik asit fermentasyonunda; etil alkol, *Acetobacter* ve *Gluconobacter* gibi sirke (asetik asit) bakterileri tarafından aerobik şartlarda asetik asite okside edilmektedir. Etil alkol fermentasyonu *Saccaromyces cerevisiae* tarafında salgılanan zymas enzim grubu yardımıyla glikoz fermentasyona uğratılır. İkinci aşamada üretilen bu alkol *Acetobacter* ve *Gluconobacter* gibi sirke (asetik asit) bakterileri tarafından aerobik şartlarda asetik aside okside edilmektedir.

2.3.2. Jeneratör-Hızlı Yöntem

Sirke bakterilerine geniş yüzey alan sağlamak amacıyla büyük fiçılar içine yerleştirilmiş yonga, taneleri alınmış mısır koçanı, cibre, çalı demeti kullanılabilir. Sirke üretilecek şarap geniş yüzey alan üzerinden yayılıp yavaş yavaş akarken bu geniş yüzeye yerleşmiş olan asetik asit bakterileri tarafından asetik asit fermentasyonu gerçekleştirilir. Gerekli olan oksijen fiçı veya tank kenarlarından açılan deliklerden sağlanır. Çabuk yöntemle sirke üretim tanklarına jeneratör denildiği için yöntem “Jeneratör Yöntemi” olarak da bilinmektedir (Aktan and Kalkan, 1998; Tesfaye vd., 2002). Üretim yaklaşık 3-7 gün sürmektedir. Çabuk yöntemle sirke üretimi Frings çalışmalarıyla yaygınlaştığından yönteme “Frings Jeneratör Yöntemi” de denilmektedir (Türker 1974; Plessi, 2006; Tan 2005).

2.3.3. Daldırılmış Kültür (Submers) Yöntemi

Dolgu materyali olmaksızın çalışan ve yüzeyde değil mayşe içindeki bakterilerin gelişimiyle sirke üretimi yapılmaktadır. Bu fermentasyonda amaç substratın her yerinde ince hava kabarcıkları ile sürekli havalandırılması ve böylece yüksek oranda asetik asitle sirke üretilmesidir. Kullanılacak sistem, paslanmaz çelik tanklarda hızlı asetifikasyon uygulamasıyla yüksek üretim kapasitesine sahiptir.

Derin kültür yöntemiyle sirke üretiminin yapıldığı asetatörde %12 den daha yüksek miktarda asetik asit içeren sirke üretimi mümkün olmuştur. Frings firması tarafından geliştirilen derin kültür yöntemi sektörde “Frings Yöntemi” olarak bilinmektedir (Tesfaye vd., 2002). Asetik asit fermantasyonunun daha hızlı, daha yüksek verimli (%90) olması ve uygulamanın sürekli üretim yapabilmesi gibi avantajlarından dolayı (Fregapane vd., 1999) günümüzde sirke üretiminde yaygın olarak derin kültür yöntemi tercih edilmektedir. Jeneratör yöntemi derin kültür yöntemine göre nispeten yavaş ve pahalı bir sistemdir (De Ory vd., 2004).

2.4. Sirkenin Sağlık Üzerindeki Etkileri

Sirke, dünyada en çok kullanılan çeşnilerden biridir (Mazza ve Murooka, 2009). Ayrıca, sirke, kan şekeri ve kan basıncını geri kazanmada, düzenlemede etki edebilir (Chou vd., 2015), sindirime yardımcı olur, iştah açar, kalsiyum emilimini ve diğer fizyolojik etkileri teşvik eder (Xu vd., 2011).

Sirke, gıda çeşnisi ve geleneksel Çin tıbbında yaygın şekilde kullanılmaktadır (Li vd., 2014). Antidiyabetik, antihipertansiyon, antimikrop, karaciğer koruma ve antitümör etkileri dahil olmak üzere çeşitli biyoaktivite özellikleri bildirilmiştir (Mohamad vd., 2015). Günümüzde sirkenin, antienfektif özellikler, antitümör aktivite ve kan şekeri kontrolü de dahil olmak üzere çeşitli terapötik etkilere sahip olduğu iyi bilinmektedir (Johnston ve Gaas 2006).

Budak vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada sirkenin fonksiyonel özellikleri belirlenmiş; özellikle asetik asit, galik asit, kateşin, epikateşin, klorojenik asit, kafeik asit ve ferulik asitin; antidiyabetik, antimikrobiyal, antitümör, antiobesite antihipertansif ve kolesterol düşürücü sağlık etkileri olduğu belirtilmiştir. Ayrıca sirkenin fonksiyonel terapötik özelliklerinin antibakteriyel aktivite, kan basıncını düşürme, antioksidan aktivite, diyabetin etkilerinde azalma ve kardiyovasküler hastalığın önlendiğini bildirilmiştir.

Hastalıklara karşı koruyucu etki sadece besin elementleri ile değil aynı zamanda fonksiyonel gıdalardaki biyoaktif bileşiklerle de sağlanır (Scirins, 2008). Çeşitli sirke çeşitlerinde baskın biyoaktif bileşikler, melanidinler, fruktooligosakkaritler, fenolik bileşikler, mineraller, vitaminler ve α -glukandır (Horiuchi vd., 2004, Budak vd., 2011, Ojansivua vd., 2011)

Sirke tırnak mantarlarını, baş biti, siğilleri ve kulak enfeksiyonlarını temizlemek ve tedavi etmek için kullanılan antimikrobiyal özelliklere sahiptir (Rutala vd., 2000; Dohar, 2003). Tüketiciler; tipik olarak gıdada, gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaların büyümesini inhibe etmek için doğal koruyucu yöntemleri tercih eder (Rauha vd., 2000). Sirke içerisindeki organik asitler ve asetik asit, mikroorganizmaların hücre zarlarına geçer ve bakteriyel hücre ölümüne yol açar (Booth ve Kroll, 1989; Brul ve Coote, 1999; Bjornsdottir vd., 2006; Chang ve Fang 2007). Bakteriyel suşlar, sıcaklık, pH, asit konsantrasyonu ve iyonik kuvvet, organik asitlerin antimikrobiyal aktivitesini etkiler (Buchanan ve Edelson, 1996; Entani vd., 1998; Cheng vd., 2002).

Birçok organik asit doğal olarak çeşitli meyvelerde ve fermente edilmiş gıdalarda bulunur. Bunlar arasında; asetik, laktik, askorbik, sitrik, malik, propiyonik, süksinik ve tartarik asitler ve aşırı olmayan seviyelerde, bu asitlerin hiçbiri insan sağlığı için tehlikeli değildir (Escudero vd., 1999; Brennan vd., 2000; Fang ve Hsueh, 2000; Şengün ve Karapınar, 2004). Organik asitlerin gıda kaynaklı patojen bakterilerin öldürülmesi üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında, asetik asidin *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiş ve diğer organik asitler olan laktik, sitrik ve malik asit'in etki düzeyi de asetik asit kadar yüksek olduğu belirtilmiştir (Entani vd., 1998; Ryu vd., 1999).

Farklı araştırmalar sirkenin taze meyve ve sebzelerde patojen bakterileri inhibe etmek için kullanılabileceğini bildirmiştir. Sengun ve Karapınar (2004), farklı maruz kalma sürelerinde % 4.03 asetik asit içeren sirke, limon suyu ve 1:1 (h/h) limon suyu ve sirke karışımının havuçlara uygulandığında, *Salmonella typhimurium* üzerindeki etkilerini bildirmişlerdir (15, 30 ve 60 dk

uygulamalarla). Hem sirke hem de limon suyu her zaman *S. typhimurium* üzerinde antimikrobiyal etki gösterse de, *S. typhimurium* popülasyonunda maksimum azalma, 60 dakikalık uygulamada meydana gelmiştir.

Chang ve Fang (2007), pirinç sirkesinin *E. coli* O157: H7 aşılınmış marul üzerindeki antimikrobiyal etkisini değerlendirmiş ve %5 asetik asit içeren ticari sirkenin 25 ° C sıcaklıkta 5 dakika süreyle marula uygulanmasıyla 3log azalmanın meydana geldiği belirtilmiştir. Bununla birlikte, 5 dakika boyunca % 0.5 asetik asit muamelesi kullanılarak 1log'dan az azalma kaydedilmiştir.

2.5. Gıdaların Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Gıdalardaki antioksidanların belirlenmesi için farklı antioksidan kapasitesi analiz yöntemleri bulunmaktadır. Gıdalardaki antioksidan kapasitesinin tahmini farklı reaksiyon mekanizmalarına dayalı değişik metotlarla yapılabilmektedir (Roginsky ve Lissi, 2005). DPPH, ABTS, FRAP yöntemleri gıdalardaki antioksidan kapasitenin belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemlerdir (De Beer vd., 2003; Lee vd., 2003; Pellegrini vd., 2000; Moreira vd., 2005). Son zamanlarda suda çözünen E vitamini analogu Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2karboksilikasit), antioksidan aktivite analizlerinde yaygın olarak yerini almıştır. Bu bileşenin tercih edilmesinin başlıca nedeni hem lipofilik hem de hidrofilik sistemlerde etkin olarak kullanılabilmesidir (Frankel vd., 1994; Schlesier, 2002).

2.5.1. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC)

Antioksidanlar ile katyonik ABTS•⁺ radikalinin absorbansının engellenmesi, 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikasit) analizi (ABTS) prensibidir. 660, 734 ve 820 nm'de en yüksek absorpsiyon oluşurken, ilk absorpsiyon piki 415 nm'de gösterir. TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi); Troloks'un standart olarak kullanıldığı metottur. H₂O₂ ve peroksidaz ile metmyoglobinin reaksiyona girmesiyle oluşan ferrilmyoglobin radikalinin ABTS'i oksitlemesiyle; Orijinal ABTS radikal katyonu oluşur (Singh and Singh, 2008). Modifiye edilmiş

TEAC yönteminde ABTS radikal katyonu, potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) ile doğrudan reaksiyona girerek karanlık ortamda ve oda sıcaklığında 12-16 saat süresince oluşur. Bu yöntemde örnek spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda elde edilen absorbans standart troloks (10-100µm/L) inhibisyon grafiğinde µm/Troloks eş değeri olarak değerlendirilir. Analizde dalga boyu ayarlaması, pH'ı sabit tutmak için sodyum asetat (pH 4,5) tamponu hazırlanan radikal çözeltisine eklenerek gerçekleştirilir(Re vd., 1999).

ABTS•⁺ radikal katyonu suda eriyebilir ve etanol bulunan ortamda asitleşebildiği için hem hidrofilik hem hidrofobik özelliğinden dolayı DPPH yöntemine göre üstünlük gösterir. Metotta pH stabildir, bu yüzden pH etkisi kullanılabilir. Ayrıca kolay, ucuz ve hızlıdır. Ancak yöntemin dezavantajlarından biri; serbest radikallerin oluşumu için gerekli reaksiyonun aşamalarla gerçekleşmesidir. Çünkü uzun zaman periyodunda serbest radikaller stabil değildir. Bir diğeri de laboratuvar koşullarından etkilenmesidir (Zulueta vd., 2009).

Gıda örneklerinin antioksidan aktivitesinin tayininde TEAC yöntemi yaygın kullanılmaktadır (Re vd., 1999). TEAC yönteminin en önemli güçlüğü farklı antioksidanlar kullanılarak toplam antioksidan kapasitesi değeri verilmesi ve farklı antioksidan için farklı konsantrasyon kullanılmasıdır. Konsantrasyon aralığı kuersetin için 0.2-0.5 µM; rutin için 0.5-1.5 µM; kirisin için 1-5 µM; kateşol için 5-10 µM; resorsinol için 1-5 µM dır. Bu konsantrasyonlardan, TEAC değeri bağımsızdır. Bu sebeple kullanılan farklı konsantrasyonlar ve prosedürler vardır (Arts vd., 2004). Sonuçlar troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) olarak ifade edilir ve test edilen bileşiğin 1 mM konsantrasyona sahip olan çözeltisinin gösterdiği aktivite ile aynı aktiviteyi gösteren troloks konsantrasyonunu ifade eder. Sonuçlar; mg VCEAC/ 100mL (vitamin C eşdeğeri antioksidan kapasite), mM TE, mmol troloks/kg, mmol TE/L olarak ifade edilebilmektedir (Budak, 2010).

Farklı gıda örneklerinde TEAC yöntemine göre antioksidan aktivite değerleri tespit edilmiştir. Seeram vd. (2008) tarafından, farklı ticari sularda

gerçekleştirilen TEAC analizi sonuçları; üzüm suları 14.9-21.7 mmol TE/L, portakal suları 4.4-5.0 mmol TE/L ve kiraz suları 11.4 ila 17.8 mmol TE/L aralığındadır. Álvarez vd. (2014) tarafından elde edilen portakal suyu örneklerinde TEAC değerleri, 4.45 ve 10.8 mmol TE/L'dir. Saura Calixto ve Goñi (2006), portakal suyu örneğinde 5.15 mmol TE/L TEAC değerleri belirlenmiş olup; buna ek olarak, Moreno-Montoro vd. (2015), üzüm suyunda bir TEAC değerini 9.16 mmol TE/L bildirmiştir. Vişnenin TEAC değerleri 9.60 mM, Konsantre vişne TEAC değerleri için 26.93 mM olarak belirlenmiştir (Özen, 2018). Nar suyu için, Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) olarak ifade edilen toplam antioksidan kapasitesi, ABTS yöntemiyle 36.3 ± 2.1 mM olarak Wan vd. (2018) tarafından tespit edilmiştir.

Budak (2017) tarafından yapılan çalışmada; kiraz (*Prunus avium* L.) suyu, kiraz şarabının ve sirkelerin; TEAC analizi sonuçları, 1.5-5.5 mmol/mL TEAC olduğu belirtilmiştir. Aykın vd. (2015) tarafından; elma sirke anasının TEAC değeri 3.58 mmol Trolox/L olduğu; nar sirke anasının ise TEAC değeri 113.18 mmol Trolox/L olduğu belirlenmiştir. Pellegrini vd. (2003) kırmızı şarap sirkesinde yaptığı TEAC analiz sonucu 3.12 mmol Trolox/L; Masino ve arkadaşlarının (2008) geleneksel balsamik sirkesinde yapmış olduğu TEAC analizi sonucu ise 14.5- 58.2 mM TE'dir. Budak (2015-a), beyaz duttan üretilmiş sirkede yapmış olduğu TEAC analizinde, dut sirkesi antioksidan değerini 7.72 mM olarak belirlemiştir.

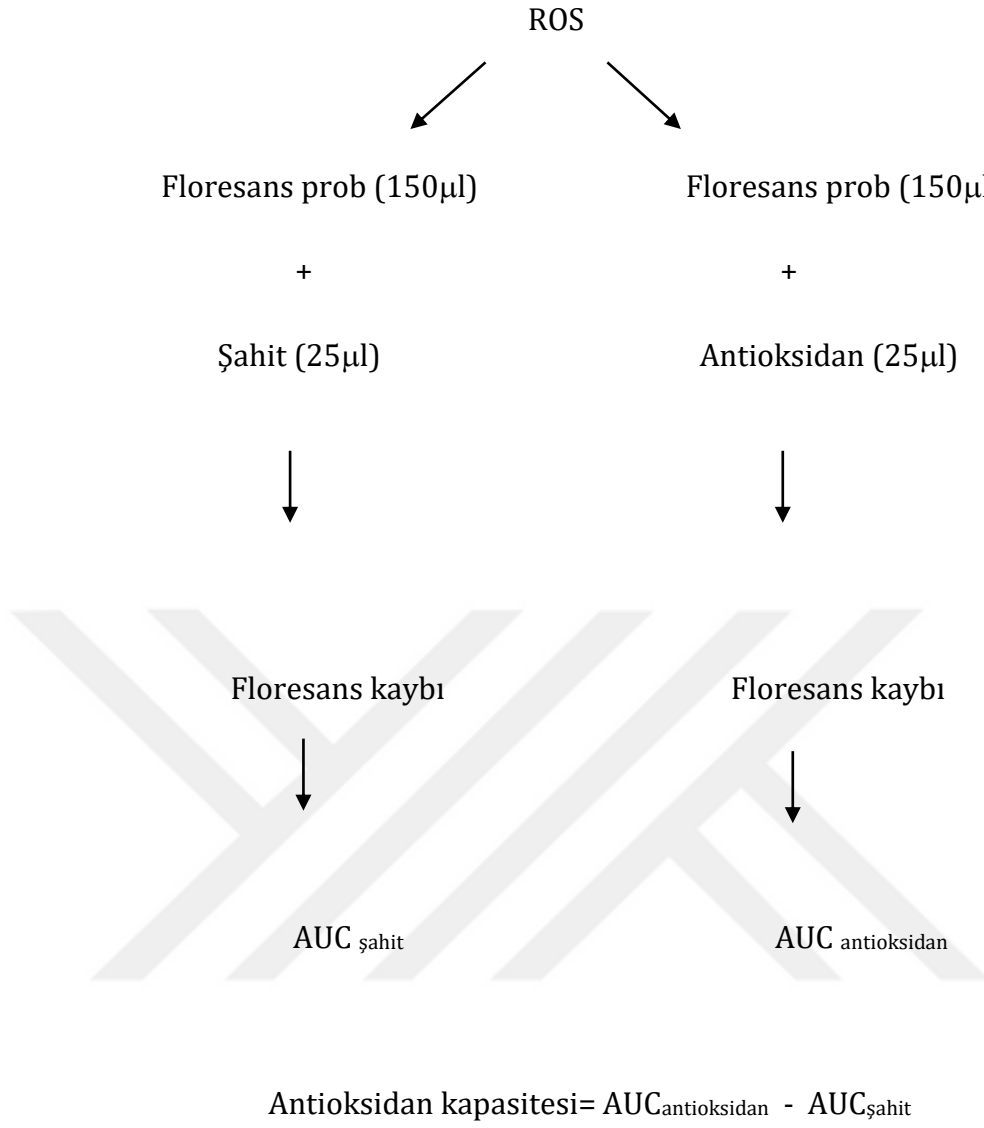
Seydim vd. (2016)'nin elma sirkesinin yüksek kolesterole sahip ratlardaki oksidatif ve antioksidan etkisini gözlemek adına yaptıkları çalışmada farklı üretim yöntemleri ile yapılan elma ve üzüm sirkeleri kullanmışlardır. Antioksidan aktivite tayininde TEAC ve ORAC yöntemleri kullanılmıştır. TEAC yöntemi ile antioksidan belirlemede elde edilen veriler 4.1-11.82 mM aralığında bulunmuştur. Budak ve Güzel-Seydim (2010) tarafından geleneksel ve endüstriyel sirkede TEAC yöntemi ile belirlenen, antioksidan aktivite değerleri sırasıyla 13.50 mmol/L ve 10.37 mmol/L olarak belirlenmiştir.

2.5.2. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC)

Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) analizi, β -fitoeritrinin özelliklerine dayanan bir testtir ve Cao vd. (1993) tarafından geliştirilmiştir. Serbest radikallere karşı, β -fitoeritrin kullanılır ve antioksidan varlığında β -fitoeritrinin floresans şiddetini zayıflatma miktarının tespiti ile ölçülür. β -fitoeritrinin seçilme sebebi; farklı dalga boylarında uyarma ve yayılma yapmasıdır. Metotta; peroksil radikali (ORACROO•) üreticisi olarak 2,2-azobis-(2-amidinopropan hidroklorür'ü (AAPH), hidroksil radikal (ORACHO•) üreticisi olarak Cu (II)-H₂O₂, bir metal oksidanı olarak Cu (I)'ı kullanır (Cao vd. 1993).

ORAC yönteminde, troloks eşdeğeri olarak ifade edilen sonuçlarda; antioksidanların serbest radikallerin faaliyetlerini engelleme oranını ve engelleme zamanını birlikte değerlendirilir. Antioksidan reaksiyonlarında; zamanla reaksiyon düzeyinin beraber değerlendirilmesi ORAC yönteminin avantajıdır (Wu vd., 2008). İlk geliştirilen ORAC yönteminin dezavantajı stabil olmayan β -fitoeritrin'in kullanılmasıdır. β -fitoeritrin, uzun süreli ışıktan etkilenir (Singh and Singh, 2008). Bu sebeple, ORAC yönteminde β -fitoeritrin yerine çok daha stabil olan fluorescein çözeltisi kullanılmaya başlanmıştır (Huang vd., 2002). Yöntemin bazı dezavantajları ise pH hassasiyeti, pahalı ekipman gerektirmesi, sistem analize başladığında analizin başından sonuna kadar data değişkenliği olmasıdır (Zulueta vd., 2009).

ORAC yönteminde; değerlendirme zamana karşı floresans şiddetinde bir inhibisyon grafiği oluşturularak yapılır. Troloks denklemi ve grafiği; troloks'un farklı konsantrasyonlarda oluşturduğu eğri altında kalan alan ile oluşturulur. Aktivite; test örneğinin oluşturduğu inhibisyon eğrisi altında kalan alandan (AUC), örnek konulmadan oluşturulan eğri altındaki alanın çıkarılmasıyla NET AUC (antioksidan aktivite) otomatik olarak hesaplanır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. ORAC yönteminde toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi

ORAC yöntemi, son yıllarda yaygın olarak bitki ve biyolojik örneklerin antioksidan kapasitesinin hesaplanmasında kullanılmaktadır (Prior ve Cao, 2000; Wu vd., 2004).

López-Froilán vd. (2018)'nin gerçekleştirdiği ORAC analizinde; mor üzüm suyu; 33.20 mmol TE/L, kırmızı üzüm suyu 26.50 mmol TE/L olarak belirlenmiştir. Yine çeşitli oranlarda gerçekleştirilen meyve suyu ve püresi karışımlarında ise; portakal ve mango suyu karışımının ORAC değeri 9.64 ± 1.22 mmol TE/L; kırmızı üzüm, frenk üzümü, vişne suları ile böğürtlen, çilek, kiraz ve frambuaz püreleri

karışımının ORAC değeri 21.92 mmol TE/L olarak belirlenmiştir. Concord cinsi üzüm suyunda yapılan analizde ORAC değeri, 25.90 mmol TE/L olarak belirlenmiştir (Borges vd. 2010). Özen (2018)'in gerçekleştirmiş olduğu çalışmada ORAC değerleri; vişne suyu için 4.57 $\mu\text{mol/mL}$, konsantre vişne suyu için 9.69 $\mu\text{mol/mL}$ olarak belirlenmiştir. Portakal suyunda gerçekleştirilen ORAC analizinde sonucun 7.40 mmol TE/L olduğu görülmüştür (Seeram vd., 2008). Nar suyunda antioksidan kapasitesi, ORAC yöntemiyle 33.4 ± 0.5 mM olarak Wan vd. (2018) tarafından tespit edilmiştir. Kurutma sonrası metanol ile ekstrakte edilen İspanya'nın farklı bölgelerinden toplanan alıçlarda yapılan ORAC analizinde, değerlerin 1.32 $\mu\text{mol TE}$ ile 2.79 $\mu\text{mol TE /mg}$ bitkisel materyal arasında değiştiği görülmüştür (Abuashwashi vd. 2016).

Budak (2015b) tarafından nar şarabında ORAC yönetmi ile yapılan antioksidan kapasitesi tayini sonuçları; 15.93-28.58 $\mu\text{mol/mL}$ aralığında belirlenmiştir.

Budak (2017) tarafından kiraz suyunda 2 farklı örnekte ORAC antioksidan aktivitesi sırasıyla 17.97 ve 15.14 $\mu\text{mol/mL}$ olarak değerlendirilmiştir.

Aykın vd. (2015) tarafından; elma sirke anasının ORAC değeri 15.07 $\mu\text{mol TE/mL}$ olduğu; nar sirke anasının ise ORAC değeri 78.30 $\mu\text{mol TE/mL}$ olduğu belirlenmiştir. Budak (2010) tarafından elma suyu, elma posa fermentasyonu sonu, elma şarabı, yüzey kültür elma sirkesi ve derin kültür elma sirkesi örneklerinde yapılan ORAC analizlerinde; en düşük değer elma suyunda, en yüksek değer elma şarabında belirlenmiştir. Elma şarabının ORAC değeri 11.01 $\mu\text{mol TE/mL}$ bulunmuştur. Budak (2015a) tarafından yapılan bir başka çalışmada dut sirkesinde ORAC analizinde sonuç 1.068 $\mu\text{mol/mL}$ olarak değerlendirilmiştir.

Seydim vd. (2016) elma sirkesinin yüksek kolesterole sahip ratlardaki oksidatif ve antioksidan etkisini gözlemek adına yaptıkları çalışmada farklı üretim yöntemleri ile yapılan elma ve üzüm sirkeleri kullanmışlardır. Antioksidan aktivite tayininde TEAC ve ORAC yöntemleri kullanılmıştır. ORAC sonuçlarına göre sirkelerdeki değerler 2.74-10.5 $\mu\text{mol TE/mL}$ aralığındadır

Budak ve Güzel-Seydim tarafından yapılan antioksidan tayininde; geleneksel ve endüstriyel sirke örneklerinin ORAC değerleri sırasıyla 10.50 $\mu\text{mol/mL}$ ve 8.84 $\mu\text{mol/mL TE}$ dir.

2.6. Toplam Fenolik Madde

Üzüm şarabı örneğinin toplam fenolik madde değerinin yükselmesi üzümdeki şekere bağlı olan fenolik maddelerin ortama çıkması ve alkol çözeltilerinde fenolik bileşenlerin çözünerek şaraba geçmesinden kaynaklanmaktadır (Singleton ve Esau, 1969). Orak (2007) tarafından yapılan çalışmada; farklı üzüm çeşitlerinin toplam fenolik madde içeriklerinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Tekirdağ Bağcılık ve Araştırma Merkezi tarafından yetiştirilen kırmızı üzüm çeşitlerinde toplam fenolik madde değeri; 1535 $\mu\text{g GAE/mL}$ Md. Jean Matthias, 2429 $\mu\text{g GAE/mL}$ Öküzgözü, 1297 $\mu\text{g GAE/mL}$ Muscat Hamburg, 2348 $\mu\text{g GAE/mL}$ Cabernet Sauvignon, 965 $\mu\text{g GAE/mL}$ Tekirdağ Çekirdeksizi, 2083 $\mu\text{g GAE/mL}$ Gewürztraminer, 2036 $\mu\text{g GAE/mL}$ Kalecik karası, 2057 $\mu\text{g GAE/mL}$ Carignan, 2038 $\mu\text{g GAE/mL}$ Kokulu Siyah, 1728 $\mu\text{g GAE/mL}$ Alfonse Lavallee, 2649 $\mu\text{g GAE/mL}$ Boğazkere, 2695 $\mu\text{g GAE/mL}$ Adakarası, 1697 $\mu\text{g GAE/mL}$ Papazkarası, 3062 $\mu\text{g GAE/mL}$ Mourvedre ve 1597 $\mu\text{g GAE/mL}$ Cinsaut olarak bulunmuştur.

Farklı meyvelerden ve bu meyvelerden elde edilen şarap ve sirke örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri kaynakları ile birlikte Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Farklı gıda örneklerindeki toplam fenolik madde içerikleri

Gıda	Toplam Fenolik Madde Miktarı	Kaynak
Kırmızı üzüm suyu	705-1177 mg GAE/L	Davalos vd., 2005
Elma sirkesi	400-1000 mg/L	Budak vd., 2011
Pirinç sirkesi	216 mg/L	Liu vd., 2018
Beyaz üzüm şarabı	191-306 mg/L	Sanchez-Moreno vd., 2003
Üzüm suyu	1483.66 mg/L	Budak- Güzel-Seydim, 2010
Nar suyu	1080 - 9449 mg/L	Caliskan and Bayazit, 2012
Çilek suyu	68.18- 95.76 mg/100mL	Wang vd., 2019
Kivi suyu	421±12 mg GAE/g	Zhu vd., 2019
Elma kabuğu	2228.49 ± 66.78 mg/L	Du vd., 2019
Elma pulpu	208.75 ± 9.28 mg/L	Du vd., 2019
Çeşitli elma sirkeleri	33.197- 284.73 mg/L	Du vd., 2019
Nar sirkesi (Hicaznar and Beynar)	2471.77 ve 1765.11 mg/L	Budak, 2015b
Alıç meyvesi (<i>Crataegus microphylla</i>)	1136.0±29.5 mg GAE/ g	Ebrahimzadeh vd., 2018
Alıç meyvesi (<i>Crataegus pentaegyn</i>)	721.1±14.7 mg GAE/ g	Ebrahimzadeh vd., 2018
Alıç sirkesi	502 mg GAE/L	Kadaş, 2011
Taze alıç meyveleri	13.36 mg/g DW	Çoklar vd., 2018
Farklı olgunluk dönemlerinde Alıç (<i>Crataegus orientalis</i>)	818.3-1957.4 mg/g GAE 100 DW	Çoklar ve Akbulut, 2016
Alıç meyvesi	5.45–11.27 g GAE / kg	Natic vd., 2019
Kurutma sonrası metanol ile ekstrakte edilen, İspanya'nın farklı bölgelerinden toplanan alıç meyveleri	117.729±0.011- 204.286±0.015 mg / g	Abuashwashi vd., 2016
Üzüm suyu	1483.66 mg/L	Budak, 2010
Üzüm şarabında	3192.33 mg/L	Budak, 2010
Yüzey kültür üzüm sirkesi	2690.66 mg GAE/L	Budak, 2010
Derin kültür üzüm sirkesi	2461.66 mg GAE/L	Budak, 2010
Vişne meyvesi	188-221 mg GAE / 100 g i	Yoo vd., 2010
Vişne şarabı	79.4-149 mg GAE / 100 mL	Yoo vd., 2010
Geleneksel sirke	2690 mg/L GAE	Budak ve Güzel-Seydim, 2010
Endüstriyel sirke	2461 mg/L GAE	Budak ve Güzel-Seydim, 2010
Sirke anası kullanılarak yüzey kültür yöntemi ile üretilen karadut sirkesi	855,55 mg GAE/L	Marangoz, 2016
Beyaz üzüm suyu	151-474 mg GAE/L	Davalos vd., 2005
Şarap sirkesi	306-867 mg GAE/L	Davalos vd., 2005

2.7. Fenolik bileşenler

Alıç; klorojenik asit, epikateşin, rutin, gallik, hiperosid ve viteksin gibi farklı fenolik ve flavonoid bileşikleri içerir (Zhang vd., 2001). Culum vd. (2018) tarafından 3 farklı alıç türünün meyvelerinden (*Crataegus rhipidophylla* Gand., *Crataegus x subsphaericea* Gand., and *Crataegus x macrocarpa* Hegetschw) yapılan HPLC analizinde; gallik, klorojenik asit ve rutin tespit edilmiştir. Test edilen numunelerdeki rutin içeriği, 0.03-13.49 mg/g DW; gallik asit 0.001-0.082 mg/g DW; ve klorojenik asit 0.19- 8.70 mg/g DW aralığında belirlenmiştir.

Ebrahimzadeh vd. (2018)'nin yapmış olduğu HPLC analizinde; (*C. pentaegyna* Sub sp. *Elburensis* (CP) ve *C. microphylla* (CM)) 2 alıç meyvesi kullanılmıştır. *C. pentaegyna* meyvesi ekstraktında, klorojenik asit ve rutin içerikleri sırasıyla 91.66 and 15.99 mg/g olarak belirlenmiştir. Aynı içerikler *C. microphylla* meyvesi ekstraktında sırasıyla 119.31 and 84.65 mg/g olarak belirlenmiştir. Budak (2015a), dut sirkesinde bazı fenolik bileşenlerin tayini gerçekleştirmiş; gallik asiti 16.65 mg/L ve klorojenik asiti 14.83 mg/L olarak dut sirkesinin içerdiği en yüksek fenolik bileşenler olduğunu belirlemiştir.

Çoklar vd. (2018) tarafından dondurulmuş, mikrodalga fırın ve fırınlama işlemleri sonucunda analizleri yapılmış olan alıç meyvelerinin fenolik bileşen içerikleri belirlenmiştir. Dört fenolik asit (gallik, protokateşik, klorojenik ve kafeik asit), üç monomerik ((+) - kateşin, (-) - epikateşin ve (-) - epigallokateşin gallat), ve iki dimerik (prosiyanidin B1 ve prosiyanidin B2) flavan-3-ols, rutin ve kaempferol-3-glukozit tespit edilmiştir. En yüksek (-)-epikateşin miktarı 994.10 mg/kg DW ile taze meyvelerde bulunmuştur. Dondurulmuş ve mikrodalga işlem görmüş fırında kurutulmuş meyveler, sırasıyla 946.80 ve 745.40 mg/kg DW ile taze numuneyi takip etmiş ve fırında kurutulmuş numunede 88.8 mg/kg DW ile en düşük değer belirlenmiştir.

Alıç şarabının antioksidan işlevi genel olarak fenolik bileşiklerle ilgilidir, bu bileşiklerin yüksek miktarda olmasından dolayı güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir(Cui vd., 2006). Budak ve Güzel-Seydim (2010), HPLC-DAD ile fenolik

içerik belirlemişlerdir. Geleneksel ve endüstriyel yöntemle üretilen üzüm şarabı sirkelerinde; Geleneksel yöntemle üretilen üzüm şarabı sirkelerinde en düşük (0.06 mg/L) ferulik asit belirlenirken, en yüksek (16.36 mg/L) gallik asit olduğu görülmüştür. Endüstriyel üretimle elde edilen üzüm şarabı sirkesinde en yüksek kateşin (27.50 mg/L), en düşük sirinjik asit (0.33 mg/L) bulunmuştur.

Sirke anası kullanılarak yüzey kültür yöntemi ile karadut sirkesi üretilmiş ve en yüksek fenolik bileşen kateşin (11.645 mg/L) olarak belirlenmiştir (Marangoz, 2016). Budak (2015a), dut sirkesinde fenolik bileşenlerin belirlenmesine yönelik yapmış olduğu çalışmada; gallik asit 16.65 mg/L ve klorojenik asit 14.83 mg/L olarak en yüksek değerler olduğunu bildirmiştir.

Du vd. (2019)'nin elma suyu ve soğuk sıkım elma suyunda yapmış oldukları fenolik bileşen tayininde; elma sularında tanımlanabilen ve ölçülebilen temel fenolikler, gallik asit (0.08 mg/L), vanilik asit (0.09 mg/L), klorojenik asit (0.46 mg/L), kafeik asit (0.21 mg/L), p-kumarik asit (0.08 mg/L), ferulik asit (0.26 mg/L), rutin (4.54 mg/L) ve florizin (0.86 mg/L) olarak belirlenmiştir. Soğuk presleme elma suyunda beş çeşit bireysel fenolik bileşik tespit edilmiş olup bunlar; gallik asit (0.06 mg/L), klorojenik asit (0.43 mg/L), kafeik asit (0.11 mg/L), rutin (2.23 mg/L) ve florizin (0.34 mg/L) iken; vanilik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit bulunmadığı tespit edilmiştir.

2.8. Organik asit bileşenleri

Meyve sirkeleri organik asitler, fenolik bileşikler, amino asitler, vitaminler ve mineral maddeler bakımından zengindir (Liu vd., 2008; Budak, 2010). Organik asitler meyve, sebze içecek ve sularının üretiminde flavor, renk ve aroma gibi organoleptik özelliklerini de olumlu etkilerken; pH'yı dengelemek, uzun süreli mikrobiyal kontrolü ve kararlılığı sağlamak için koruyucu olarak kullanılırlar (Peynaud, 1999). Farklı sirke çeşitlerinde organik asit içeriği belirlenerek; asetik asit, laktik asit, malik asit, sitrik asit, süksinik asit, formik asit ve tartarik asit tespit etmişlerdir. Şarap sirkesinde ise organik asitlerde sırası ile asetik, laktik ve malik asit en yüksek seviyede bulunmuştur (Caligiani vd., 2007).

Natic vd. (2019) tarafından yabancı sırp meyveleri üzerine yapılan çalışmada (alıç, karaçalı, kızılıcık ve mürver meyveleri) alıç meyvesinde; prokateşik asit, p-hidroksibenzoik asit, kafeik asit, vanilik asit, sirinjik asit, p-kumarik asit, ellajik asit, ferulik asit tespit edilmiştir.

Gerbi vd. (1998) tarafından farklı ülkelerin marketlerinden toplanan elma, şarap ve alkolden üretilen sirkelerin organik asit içerikleri belirlenmiştir. Şarap sirkesinin 1.53 g/L ile tartarik asit bakımından, elma sirkesinin malik (0.94 g/L) ve laktik asit (0.72 g/L) bakımından ve alkol sirkesinin ise (0.31 g/L) sitrik asit bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. Elma sirkesinde yapılan organik asit tayininde asetik, sitrik, formik, laktik, malik ve süksinik asit tespit edilmiştir (Caligiani vd., 2007, Budak 2010).

Morales vd. (1998) tarafından, İtalya'nın Modena bölgesinde üretilen geleneksel ve endüstriyel üzüm sirkelerinde yapılan organik asit analizi gerçekleştirilmiştir. Endüstriyel üzüm sirkesi örneklerinde 57.1-59.05 g/L asetik asit, 0.035-0.288 g/L sitrik asit, 0.271-0.363 g/L tartarik asit; 0.059-0.109 g/L malik asit, 0.120-0.42 g/L laktik asit tespit edilirken geleneksel üzüm sirkesi örneklerinde 69.4-86.3 g/L asetik asit, 0.062-0.073 g/L sitrik asit, 1.65-2.9 g/L tartarik asit, 0.23-0.25 g/L malik asit, 0.21-0.32 g/L laktik asit tespit edilmiştir.

Çin'de üretilen tahıl kaynaklı sirkede yapılan aroma analizi çalışmasına göre, HPLC ile yapılan organik asit analizinde fermantasyon günlerine göre ölçüm yapılmıştır. Asetik asit, süksinik asit, malik asit ve laktik asit baskın organik bileşenler olarak belirlenmiştir (Qi vd., 2013). Lui ve He (2009)'nin yapmış olduğu çalışmada; erik sirkesinin organik asit tayini yapılmış; asetik asit, tartarik asit ve laktik asit varlığı tespit edilmiştir.

Caligiani vd. (2007), farklı sirke çeşitlerinde organik asitlerden; asetik asit, laktik asit, malik asit, sitrik asit, süksinik asit, formik asit ve tartarik asit tespit etmişlerdir. Şarap sirkesinde organik asitlerde sırası ile asetik, laktik ve malik

asetik en yüksek seviyede bulunmuştur. Elma sirkesinde ise en yüksek oranda asetik, malik ve laktik asit olarak belirlenmiştir.

Budak vd. (2010) farklı üretim teknikleri kullanılarak gerçekleştirilen üzüm sirkesi üretiminde organik asit tayini gerçekleştirmiştir. Yüzey kültür yöntemi (geleneksel) ve derin kültür yöntemi (endüstriyel) ile üretilen üzüm sirkelerinde asetik asit konsantrasyonu sırası ile 143.6 g/L ve 82.81 g/L şeklinde tespit edilmiştir. Tartarik asit konsantrasyonu; elma suyu, elma posa fermantasyon sonu ve elma şarabı örnek sonuçları sırası ile 208.96 mg/L; 365.63 mg/L; 280.33 mg/L olarak tespit edilmiştir ($p>0,05$). Yüzey kültür elma sirkesinde, tartarik asit içeriği 245.76 mg/L iken, derin kültür elme sirkesi örneğinde 1272.03 mg/L belirlenmiştir ($p<0,05$). Malik asit konsantrasyonu; elma suyu, elma posa fermantasyon sonu ve elma şarabı örnek sonuçları sırasıyla; 1838.66 mg/L; 2262.86 mg/L; 2365.90 mg/L olarak bulunmuştur ($p>0,05$).

Aykın vd. (2015)'nin, nar ve elma sirkeleri ve sirke analarının bileşenleri üzerine yapmış oldukları çalışmada; elma sirkesinde; gallik asit 61.24 ± 2.21 mg/L, klorojenik asit 347.70 ± 31.94 mg/L, kateşin 68.20 ± 4.55 mg/L, kafeik asit 17.21 ± 0.33 mg/L olarak; elma sirke anasında; gallik asit 558.61 ± 41.16 mg/L, klorojenik 186.66 ± 7.97 mg/L, kateşin 25.38 ± 2.37 mg/L, kafeik asit 8.15 ± 0.06 mg/L olarak tespit edilmiştir. Nar sirkesinde; gallik asit 67.80 ± 2.88 mg/L, kateşin 47.00 ± 1.10 mg/L, kafeik asit 13.41 ± 0.60 mg/L olduğu; nar sirke anasında; gallik asit 570.48 ± 40.04 mg/L, kateşin 14.20 ± 0.66 mg/L, kafeik asit 4.68 ± 0.19 mg/L olduğu belirlenmiştir.

2.9. Antimikrobiyal etki

Disk difüzyon yönteminde; analizi yapılan mikroorganizma ile inokule edilmiş katı agar üzerinde yer alan disk ya da oluşturulan havuzcuk/kuyuya antimikrobiyal özelliği test edilecek örnek ilave edilmektedir. Agar bünyesinde antimikrobiyalin tekdüze bir şekilde difüzlenme yeteneğine dayanarak inhibisyon zonları oluşmaktadır. Zonların çaplarıyla antimikrobiyal etki

hakkında bilgi edinilmektedir (Davidson and Parish, 1989; Kim vd., 2004; Mann ve Markham, 1998).

Oral patojenleri elimine etmek için antimikrobiyal ajanlar kullanılmaktadır. Geleneksel antimikrobiyal ajanların aşırı kullanımı, mikrobiyal direnç, oral florada dengesizlik ve sayısız ters etki ile sonuçlandığı için; bu dezavantajlar, araştırmacıları oral patojenler için güvenli ve spesifik olan alternatif bir yeni antimikrobiyal madde araştırması için teşvik etmiştir. Bitkilerin terapötik ajanlar olarak kullanımı, olumsuz etkilerinin az olması sebebiyle ilgi çekmektedir. Gram negatif bir mikroorganizma olan *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), insan sağlığı için büyük bir tehdit olmakla birlikte; tüm dünyada yaygın akut bakteriyel gıda kaynaklı gastroenterit hastalıklarının ana nedeni olarak kabul edilir (Poonlapdecha vd., 2018).

Campylobacter jejuni, birçok ülkede insan bakteriyel gıda kaynaklı hastalığın önde gelen nedenidir ve bazı kanatlı hayvanlarının refahı ve üretimi üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (Macdonald vd., 2018) *C. jejuni*'nin kuşların gastrointestinal (GI) kanalının normal florasının bir parçası olduğu ve az pişmiş kuş eti, özellikle tavuk ve hindi gibi kümes hayvanı türlerinin tüketiminin bir parçası olduğu düşünülmektedir (Zendehbad vd., 2015).

Listeria sebebi ile oluşan Listeriyoz; diğer gıda kaynaklı hastalıklardan daha az yaygın olmasına rağmen; yaşlılar, yenidoğanlar, hamile kadınlar ve immün sistemi baskılanmış popülasyonlar gibi yüksek riskli gruplarda yüksek ölüm oranları ile karakterizedir (de Noordhout vd., 2014). Listeriyoz belirtileri, grip benzeri hastalıklardan menenjit, sepsis ve spontan kürtaj dahil olmak üzere ciddi komplikasyonlara kadar uzanır (FAO / WHO, 2004).

S. aureus, insanlarda ve hayvanlarda hastalık, gıda zehirlenmesinin önemli nedenlerinden biridir. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı'nın ekonomik araştırma servisine göre, ABD'de *S. aureus* gıda zehirlenmesinden kaynaklanan bulaşıcı gıda kaynaklı hastalıklar yılda 180 binden fazla vakadır. *S.*

aureus, insanlarda zatürree, endokardit ve sepsis gibi daha ciddi hastalıklara neden olmaktadır (Duan vd., 2012).

Enterokoklar insanlarda ve hayvanlarda bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olarak kabul edilen önemli Gram-pozitif bakterilerdir ve toprak, su, bitki ve yiyeceklerde yaygın olarak dağılırlar (Cassengo vd., 2013; Lebreton vd., 2014; Pieniz vd., 2015; Santestevan vd., 2015; Prichula vd., 2016). Her yerde bulunmaları, çeşitli çevresel stres faktörlerinde hayatta kalma yeteneğini yansıtmaktadır (Byappanahalli vd., 2012).

Antibiyotiklere karşı yüksek dirençli olan *Enterococcus faecalis*, enterokok enfeksiyonlarının çoğundan sorumludur, yetişkin ve pediatri klinik bozukluklara neden olabilir. *E. faecalis* insanlarda idrar yolu enfeksiyonu, yara enfeksiyonları, endokardit (kalp içzarı enfeksiyonu), karın içi apseye sebep olması sebebiyle tıbbi olarak önemlidir. Bakteri kaynaklı ateş ve titreme, cerrahi alan enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonları dahil olmak üzere insanlardan enfekte olmuş bölgelerden kültürlenmiş en yaygın türlerdir (Huescas vd., 2018).

Escherichia coli; Gram (-) bir bakteridir. Bazı *E. coli* tipleri bulundukları hayvanda zararlı olmamalarına karşın, insana geçtiğinde hastalık sebebi olabilirler. Sebep olduğu başlıca hastalıklar; ishalli hastalıklar olmakla beraber idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, peritonit, mastit, sepsis ve pnömoni olarak gösterilebilir. *E. coli* 'nin, insan dışında tavuk, dana gibi başka hayvanlarda da hastalık yapabildiği gösterilmiştir (Bilgehan 2000).

Sıcakkanlı hayvanların (memeliler ve kanatlılar) bağırsak sistemlerinde bulunan *E. coli*'ye herhangi bir örnekte rastlanması, o örneğe doğrudan ya da dolaylı olarak fekal bulaşmanın varlığının göstergesidir (Çakır 2000). *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* ve enterohemorajik *E. coli* O157: H7'nin gıda kaynaklı salgınlarla ilişkisi olduğu belgelenmiştir (Newell ve ark. 2010; EFSA ve ECDC 2011).

Bu sebeplerle bu tez araştırmasında *Staphylococcus aureus*, *Echericia coli*, *Echerichia faecalis*, *Campylobacter jejuni* ve *Listeria monocytogenes* inhibisyonunda alternative olarak alıç sirkesinin antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır.

Organik asitlerin gıda kaynaklı patojen bakterilerin öldürölmesi üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında, asetik asidin *Escherichia coli* O157: H7'ye karşı antibakteriyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiş ve diğer organik asitler olan laktik, sitrik ve malik asit in etki düzeyi de asetik asit kadar yüksek olduğu belirtilmiştir (Entani vd., 1998; Ryu vd., 1999).

Sirke antimikrobiyal aktivitesi, protonlanmış bir aşamada bakteri hücresine yayılabilen ve hücre ölümüyle sonuçlanan bakteriyel hücreye yayılabilen organik asitlere, özellikle asetik aside bağlanabilir (Bjornsdottir vd., 2006; Medina vd., 2007). Antimikrobiyal mekanizmalar enzim inhibisyonu, membran fonksiyon kaybı, besinlerin taşınması ve genel metabolik aktiviteye dayanır (Brul ve Crote 1999). Çeşitli sirke antimikrobiyal aktiviteleri, meyve ve sebzelerin patojenlerini kontrol etmedeki etkinlikleri için çalışılmıştır (Medina vd. 2007).

Chang ve Fang (2007), pirinç sirkesinin *E. coli* O157: H7 ile aşılanmış marul üzerindeki antimikrobiyal etkisini değerlendirmiş ve 5 dakika süreyle % 5 asetik asit içeren ticari sirke ile 25 °C'de muamele edilmesinin 3 log'luk bir düşüşe neden olduğunu kaydetmiştir. Bununla birlikte, 5 dakika boyunca % 0.5 asetik asit muamelesi ile 1 log daha az azalma tespit etmiştir.

Fernandes vd. (2018) tarafından; Fizalis ve kırmızı pitahaya meyve artıkları kullanılarak derin kültür fermentasyonu yoluyla iki sirke üretilmiştir. Physalis ve kırmızı pitahaya sirkeleri sırasıyla 47 ve 45 g/L asetik asite sahip olduğu ve her iki sirke de yaklaşık 1 g/L etanol içerdiiği tespit edilmiştir. Her iki sirke de *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *S. enteritidis*'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Her iki sirke için de MIC (minimum inhibitör konsantrasyonu) ve

MBC (minimum bakterisit konsantrasyonu) değerleri %6.25 olarak belirlenmiştir.

Portekiz'in Alentejo bölgesinden geleneksel olarak tüketime hazır bir et ürünü olan Cabeca de xara'nın raf ömrünü arttırmak, bozulma mikrobiyotasını azaltmak amacıyla sirke ilavesi test edilmiş ve *L. monocytogenes*'i kontrol altına alınmıştır. Depolama süresi boyunca mikrobiyolojik (mezofiller, psikrotrofik bakteriler, enterobakteriler, mayalar ve *L. monocytogenes* suşları) değişim izlenerek, sirke ilaveli örneklerin her zaman kontrol örneklerinden daha düşük mikrobiyolojik sayımlar gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak Cabeca de xara'nın raf ömrünün 1 ile 3 ay arasında uzayabileceğini göstermiştir (Laranjo vd., 2019).

Stradakos ve Grant (2018) tarafından çiğ dana etinde patojenik *E. coli* üzerindeki çoklu fiziksel, biyolojik ve doğal müdahalelerin antimikrobiyal etkileri değerlendirilmiştir. *E. coli* aşılanan dana etleri üzerinde; gümüş içeren antimikrobiyal paketleme, ozon gazı muamelesi, laktoferrin ve nisin muamelelerinin ayrı veya kombinasyon halinde önemli antimikrobiyal etkiler göstermezken; soğuk plazma işlemi 0.9 ve 1.82 log (10) CFU/cm² azalma görölmüş, 5 dakika boyunca sirke ve laktik asit (%5) yıkama ile işlemiden hemen sonra 1 log (10) CFU/g'a yakın azalma, karvakrol veya kekik esansiyel yağları içeren nanoemülsiyonlar, sırasıyla 1.41 ve 1.36 log (10) CFU/g *E. coli* düşüşleri görölmüştür. Sonuç olarak; sirke, laktik asit veya carvacrol ve kekik esansiyel yağ nanoemülsiyonları, et endüstrisi için patojenik *E. coli* kontaminasyonunu kontrol etmek için potansiyel olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Gölmez vd. (2006) yaptıkları bir araştırmada genel olarak sebzelerin dekontaminasyonunu araştırmak için maydanoz kullanmışlardır. Ticari kekik suyu ve üzüm sirkesi içerisinde 1 dakika süreyle bekleterek; hijyen kriteri olarak *koliformlar* ve *E. coli* yönünden analiz yapılmıştır. Musluk suyu altında yıkama yeterli hijyeni sağlamaz iken sirke örneklerdeki *koliform* ve *E. coli* popülasyonunu tümü ile inhibe ettiği; kekik suyunun ise *E. coli* popülasyonunun

tamamını yıkımlarken, *koliformların* sayısını da Türk Gıda Kodeksi'nde bildirilen değerlerin altına düşürüldüğünü saptamışlardır.

Kadaş (2011) alıç sirkesinin antimikrobiyal etkisini belirlemiştir. Kontrol örneklerinin tümüne 7.75 log kob/mL olan *L. monocytogenes* ve farklı konsantrasyonlarda alıç sirkesi (5, 20, 40, 80, 160 ve 320 µL/mL) ilave etmiştir. Mikroorganizma yoğunluğunda azalma belirlemiştir. Sonuçları sırası ile 7.03, 6.00, 5.48, 4.80, 4.40 ve 3.37 log kob/mL olarak ölçülmüştür. 320 µL/mL alıç sirkesi konsantrasyonunun, *L. monocytogenes* kültüründe 4.38 log kob/mL ($p \leq 0,05$) azalmaya neden olduğunu kaydetmiştir. 7.19 log kob/mL seviyesindeki *E. coli* O157:H7'nin kullanıldığı aynı çalışmada; alıç sirkesinde aynı konsantrasyon katları çalışılmıştır (5, 20, 40, 80, 160 ve 320 µL/mL). Sonuç olarak canlı kalan *E. coli* O157:H7 sayısının 6.83, 6.24, 5.92, 5.25, 4.49 ve 2.30 log kob/mL olduğu tespit etmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hammadde

Araştırmada alıç sirkesi üretimi için hammadde olarak Ankara ve Burdur yöresinden temin edilen alıçlardan, her bir deneme için 20 kg alıç kullanılmıştır. Sirke üretimi 3 tekrür ile 3'er paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Alıç Suyu Üretimi

Her 3 deneme için 20 şer kg alınan alıçlar yıkama işleminden sonra parçalanarak her partiye 10L su eklenmiş ve 1 hafta +4 °C de dinlenmeye bırakılmıştır. Günde en az 3 kez karıştırılmış ve 1 hafta sonunda sıkma işlemi ile alıç suyu elde edilmiştir. Sıkma işlemi ile her örnekte yaklaşık 13 kg meyve suyu, 17kg posa ayrılmıştır.

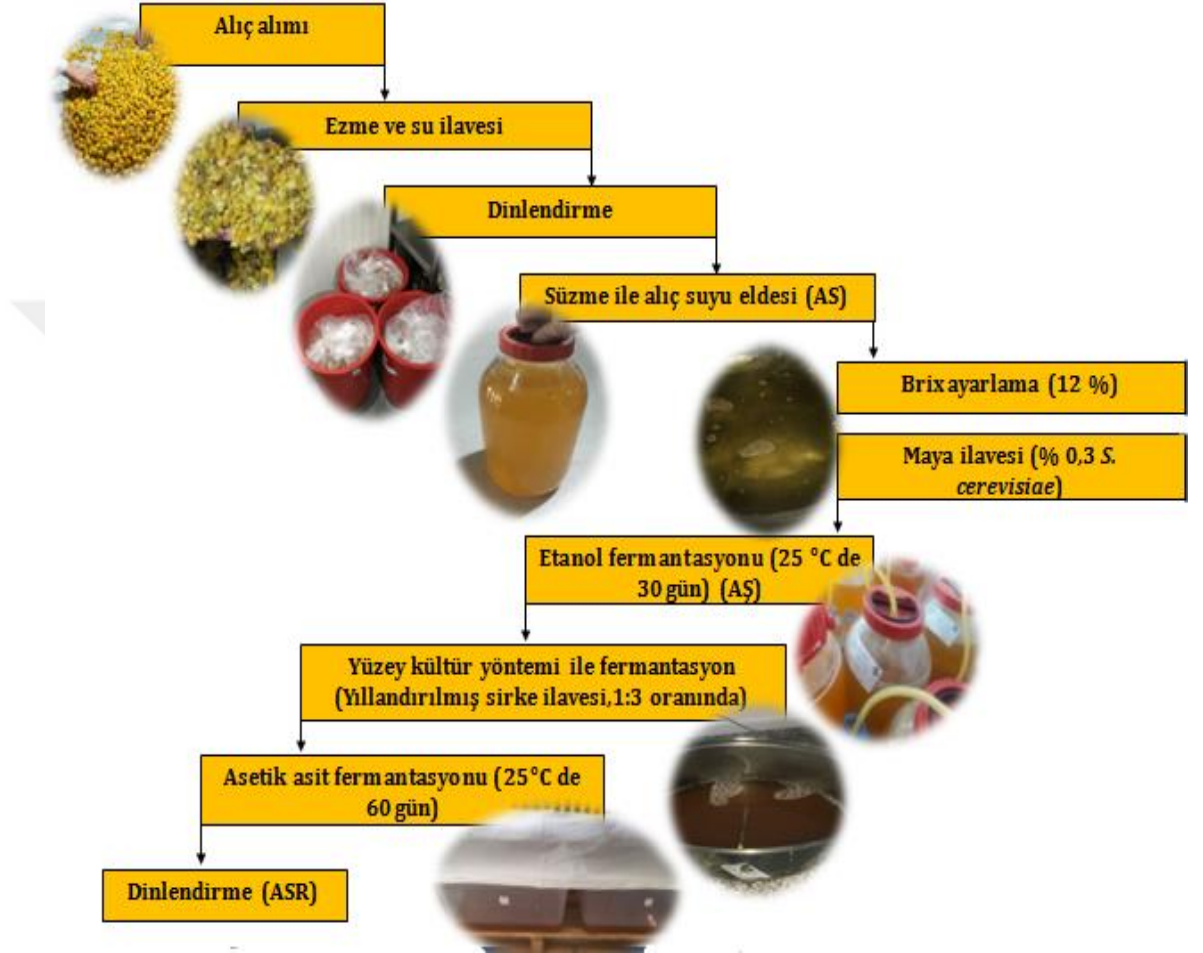
3.2.2. Alıç Meyvesinden Şarap Üretimi

Alıç sularında brix değerinin 5.1 Briks olduğu görülmüş, fermantasyonun optimizasyonu için şeker ilavesi ile 12 Briks olacak şekilde ayarlanmıştır. Brix ayarlaması yapılan alıç suları; 5 L'lik kavonozlara alınarak 3 tekrür olacak şekilde; her bir kavanoza 0.3 g/L'lik *Saccharomyces cerevisiae* ilavesi yapılmıştır. Fermantasyon kapakları kapatılarak 30 gün alkol fermantasyona bırakılmıştır (Şekil 3.1).

3.2.3. Sirke Üretimi

Alkol fermantasyonu sonunda elde edilen şaraba 1/3 oranında yllandırılmış sirke (2 yıllık) (Fermante Gıda Amb. Eğt. Dan. Ltd. Şti. tarafından desteklenen) ilave edilerek 28-30°C sıcaklıkta asetik asit fermantasyonuna bırakılmıştır.

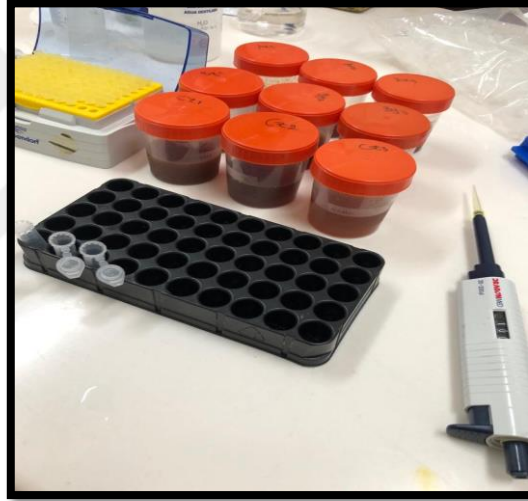
Asetik asit fermentasyonu 60 günde tamamlanmıştır. Periyodik asitlik ölçümleri yapılarak, asetik asit fermentasyonu sonlandırılmıştır. Alıç sirkesi üretim akış şeması Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Alıç sirkesi üretim akış şeması

Çizelge 3.1. Örnek kodları ve gerçekleştirilen analizler

Yapılan Analiz	Örnek kodu
Titrasyon asitliği (%), pH, Toplam kurumadde (%), Briks, Toplam fenolik madde, TEAC antioksidan analizi, ORAC antioksidan analizi, Fenolik bileşen analizi, Organik asit analizi	AS (Alıç suyu), AŞ (Alıç şarabı), ASR (Alıç sirkesi)
Alkol tayini (g/L)	AŞ
Antimikrobiyal analizler	ASR



Şekil 3.2. Alıç ürünlerinden numune alımı

3.2.4. Kimyasal analizler

Alıç meyvesinden üretilen meyve suyu, şarap ve sirkeden örnekler alınmıştır. pH, toplam asitlik, briks tayini, toplam kuru madde tayinleri tüm örneklerde gerçekleştirilmiştir. Alkol tayini yalnızca alıç şarabı örneklerinde yapılmıştır.

3.2.4.1. Titrasyon asitliği tayini

25 mL örnek alınarak; pH değeri 8.1 olana kadar 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Meyve suyu ve şarap örneklerinde NaOH kullanılarak belirlenen titrasyon asitliği sonuçları sitrik asit cinsinden verilmiştir. Sirke örneklerinde 1 N NaOH kullanılarak belirlenen titrasyon asitliği asetik asit cinsinden verilmiştir (AOAC, 1992).

3.2.4.2. pH tayini

pH-metre (Schott Instruments (SI Analytics) Lab 860 (USA)) ile örneklerin pH değeri ölçülmüştür. Her çalışma öncesinde pH elektrot kalibrasyonu pH 4 ve pH 7 tamponları kullanılarak yapılmıştır.

3.2.4.3. Toplam kuru madde ve briks tayini

Sıcaklığı 105°C' ye ayarlı etüvde kuru madde kapları üç saat bekletilerek sabit tartıma gelmesi sağlanmıştır. Desikatörde soğuması sağlandıktan sonra hassasiyeti 0.0001 g olan hassas terazide (Mettler Toledo, AB204, İsviçre) daraları alınmıştır. Meyve suyu, şarap ve sirke örneklerinden 3 ml kuru madde kaplarına eklenerek, 105°C de etüvde son iki tartım arasındaki fark 0.002-0.003 olana kadar tutulmuştur. (Aktan ve Kalkan, 1998).

Etüvde yapılan toplam kuru madde tayinine paralel olarak, tüm örnekler hızlı nem tayin cihazında (Shimadzu, MOC63u, Japonya) 2 ml örnek konularak ölçüm yapılmış ve sonuçların kontrolü sağlanmıştır.

Briks tayininde, her örnekte 100 µl hazneye eklenerek, dijital refraktometre (Hanna HI 96801, Almanya) kullanılarak % briks cinsinden sonuçlar hesaplanmıştır.

3.2.4.4. Alkol tayini

Alkol tayini şarap örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiş, analizde ebülyometre (Labcenter Exacta Optech Ebulliometer, Italy) kullanılmıştır. Cihazın haznesine yaklaşık 40-45 mL örnek konularak kaynatılmış, üzerindeki ölçüm cetvelinden civa seviyesinin ilerlemesi ile sabit okunan değerde, alkol değeri % hacim alkol olarak belirlenmiştir.

3.2.5. Antioksidan aktivite tayini

3.2.5.1. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi'nin (TEAC) Belirlenmesi

Antioksidan kapasite, Re vd. (1999) tarafından önerilen ABTS⁺ metodu kullanılarak belirlenmiştir. Amber ölçü balonuna 7 mM 2,2'-azinobis (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS) stok çözeltisi ve 2.45 mM potasyum persülfat (K₂S₂O₈) çözeltisi eklenmiş, oda sıcaklığında karanlıkta 16 saat bekletilerek ABTS⁺ radikal katyonunu elde edilmiştir. 25 mL saf suda, 0.096 g 2,2'-azinobis (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzunun çözündürülmesiyle, 7mM'lık ABTS stok çözeltisi hazırlanmıştır. 0.066 g K₂S₂O₈'in 100 mL saf su içerisinde çözündürülmesiyle 2.45 mM'lık potasyum persülfat çözeltisi elde edilmiştir.

Ölçümler öncesinde 37 °C de 6 dakika reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Spektrofotometrede (Shimadzu Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japonya) antioksidanların radikalle reaksiyonu; radikalın 734 nm deki absorbansının düşürülmesi ile ölçülmüştür.

Yüzde (%) inhibisyon ve standart eğri denklemi için farklı troloks konsantrasyonları oluşturularak spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) mM olarak sonuçlar belirlenmiştir.

3.2.5.2. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) Yöntemi

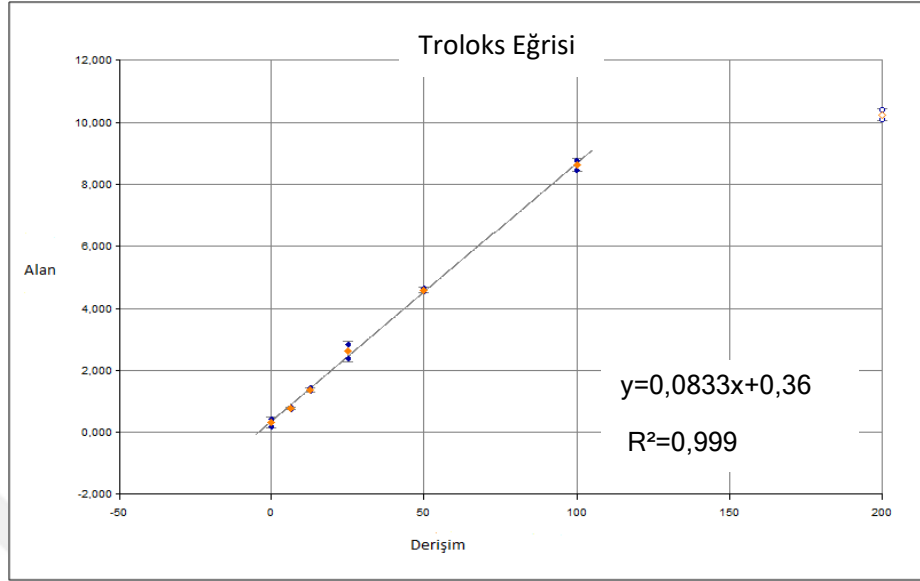
Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) yöntemi ile Biotek Synergy™ HT Multi-Detection Mikroplaka Okuyucu (Winooski, Vermont, USA) cihazında spektrofotometrik olarak kinetik ölçüm yapılmıştır.

PBS çözeltisi; 1L'ye 10.65 g Na_2HPO_4 tartılarak hazırlanmış ve pH'sı 7.4'e 1N HCl ilavesiyle ayarlanmıştır. Floresein stok çözeltisi; 0.00016 g floresein sodyum tuzu ve 100 mL PBS çözeltisi ile hazırlanmıştır. AAPH çözeltisi; 0.414 g 2,2'-Azobis (2-amidinopropan) dihidroklorürün 10 mL PBS içinde çözündürülmesiyle elde edilmiştir. 0,02 M'lık troloks çözeltisi ise; 0.250 g 6-hidroksi 2,5,7,8-tetrametilkroman-2 karboksilik asitin 50 mL PBS içerisinde çözündürülmesiyle hazırlanmıştır.

pH'sı 7.4 olan PBS çözeltisi ile örnekler seyreltilmiştir. Standart eğri elde etmek için PBS ile seyreltilerek, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ve 200 μL troloks konsantrasyonları hazırlanmıştır. Mikroplakadaki her bir kuyucuğa farklı troloks konsantrasyonlarından ve örnek çözeltisinden 25 μL ilave edilmiştir. 0.004 μM 'lık floresein stok çözeltisinden 150 μL ilave edildikten sonra mikroplakalar 37°C' de 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. 153 mM konsantrasyonunda hazırlanan 2,2'-Azobis (2-amidinopropan) dihidroklorür (AAPH) çözeltisinden inkübasyon sonunda kuyucuklara 25 μL ilave edilerek 37°C' de karanlıkta 60 dakika sürecek reaksiyon başlatılmıştır.

Floresans okuma, reaksiyon süresinin her dakikasında 485-520 nm eksitasyon-emisyon dalga boyunda yapılmış ve Biotek Gen 5™ bilgisayar yazılım programına kaydedilmiştir. Troloksun belirli konsantrasyonlarda oluşturduğu eğri altında kalan alan ile troloks grafiği ve denklemi oluşturulmuştur. Aktivite; test örneğinin oluşturduğu inhibisyon eğrisi altında kalan alandan (AUC), örnek konulmadan oluşturulan eğri altındaki alanın çıkarılmasıyla antioksidan aktivite NET AUC şeklinde otomatik olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar μmol Troloks Eşdeğeri (TE)/mL olarak ifade edilmiştir (Huang vd., 2002, Davalos vd., 2005).

Şekil 3.3’de çalışmaya ait troloks eğri grafiği örneği, Çizelge 3.2’de sirke örneklerinin ORAC değerlerine ait sonuçlar verilmiştir.



Şekil. 3.3. Trolox standart Eğrisi

Çizelge 3.2. ORAC analizi sonuçları

Kuyucuk Kodu	Örnek Adı	Kuyucuk	Kons /Dil	Alan	Kons	Sayım	Ortalama	Standart Sapma	CV (%)
SPL1	SİRKE 1-B	B10	1000	5,086	56,704	2	54,025	3,789	7,013
		C10	1000	4,639	51,346				
SPL2	SİRKE 1-C	B11	1000	2,729	28,425	2	27,639	1,111	4,019
		C11	1000	2,598	26,854				
SPL3	SİRKE 2-A	D2	1000	3,184	33,891	2	35,385	2,114	5,973
		E2	1000	3,434	36,88				
SPL4	SİRKE 2-B	D3	1000	3,504	37,723	2	37,15	0,811	2,183
		E3	1000	3,408	36,577				
SPL5	SİRKE 2-C	D4	1000	3,08	32,643	2	29,719	4,135	13,915
		E4	1000	2,593	26,795				
SPL6	SİRKE 3-A	D5	1000	4,998	55,652	2	53,619	2,875	5,362
		E5	1000	4,659	51,586				
SPL7	SİRKE 3-B	D6	1000	2,492	25,578	2	25,492	0,121	0,475
		E6	1000	2,477	25,407				
SPL8	SİRKE 3-C	D7	1000	5,785	65,093	2	65,401	0,435	0,666
		E7	1000	5,836	65,709				

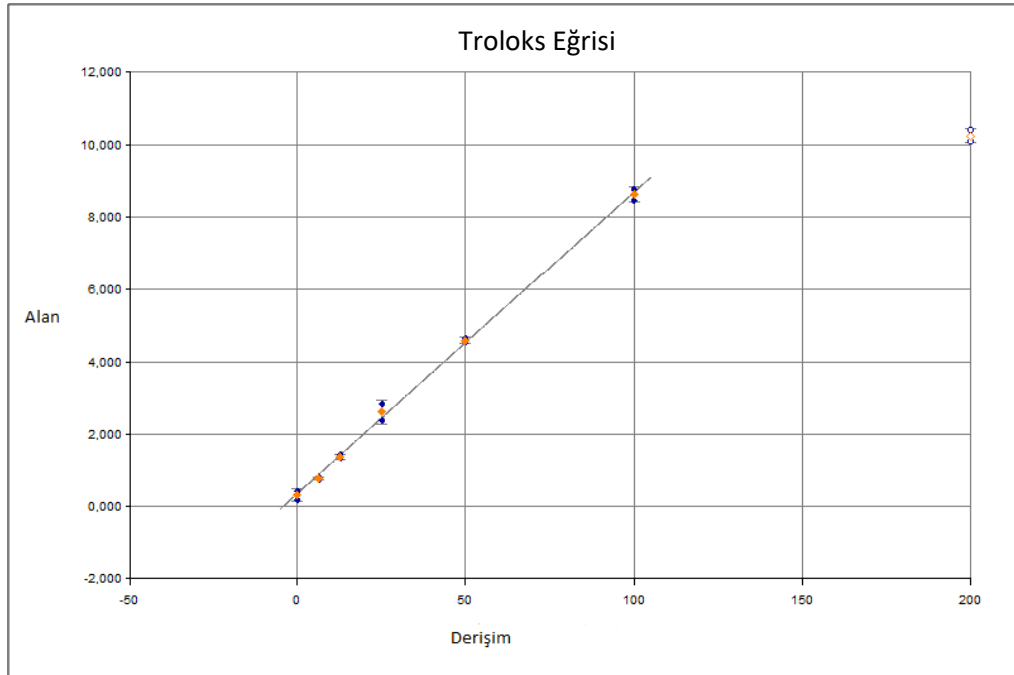
Çizelge 3.2. ORAC analizi sonuçları (devam)

Kuyucu k Kodu	Örnek Adı	Kuyucuk	Kons/ Dil	Alan	Kons	Sayım	Ortalama	Standart Sapma	CV (%)
SPL1	SİRKE 1-B	B10	1000	5,086	56,704	2	54,025	3,789	7,013
		C10	1000	4,639	51,346				
SPL2	SİRKE 1-C	B11	1000	2,729	28,425	2	27,639	1,111	4,019
		C11	1000	2,598	26,854				
SPL3	SİRKE 2-A	D2	1000	3,184	33,891	2	35,385	2,114	5,973
		E2	1000	3,434	36,88				
SPL4	SİRKE 2-B	D3	1000	3,504	37,723	2	37,15	0,811	2,183
		E3	1000	3,408	36,577				
SPL5	SİRKE 2-C	D4	1000	3,08	32,643	2	29,719	4,135	13,915
		E4	1000	2,593	26,795				
SPL6	SİRKE 3-A	D5	1000	4,998	55,652	2	53,619	2,875	5,362
		E5	1000	4,659	51,586				
SPL7	SİRKE 3-B	D6	1000	2,492	25,578	2	25,492	0,121	0,475
		E6	1000	2,477	25,407				
SPL8	SİRKE 3-C	D7	1000	5,785	65,093	2	65,401	0,435	0,666
		E7	1000	5,836	65,709				
SPL9	ALIÇ SUYU-1	D8	1000	1,476	13,389	2	14,905	2,145	14,39
		E8	1000	1,729	16,422				
SPL10	ALIÇ SUYU-2	D9	1000	2,731	28,451	2	30,471	2,856	9,373
		E9	1000	3,068	32,49				
SPL11	ALIÇ SUYU-3	D10	1000	1,781	17,047	2	18,979	2,732	14,398
		E10	1000	2,103	20,911				
SPL12	SARAP 1-A	D11	1000	2,94	30,96	2	30,429	0,75	2,466
		E11	1000	2,852	29,898				
SPL13	SARAP 1-B	F2	1000	2,602	26,899	2	27,289	0,551	2,018
		G2	1000	2,667	27,678				
SPL14	SARAP 1-C	F3	1000	2,359	23,988	2	25,165	1,665	6,616
		G3	1000	2,555	26,342				
SPL15	SARAP 2-A	F4	1000	1,801	17,29	2	18,207	1,296	7,12
		G4	1000	1,954	19,123				
SPL16	SARAP 2-B	F5	1000	1,68	15,835	2	17,867	2,874	16,087
		G5	1000	2,019	19,9				
SPL17	SARAP 2-C	F6	1000	1,533	14,07	2	15,774	2,41	15,28
		G6	1000	1,817	17,479				
SPL18	SARAP 3-A	F7	1000	1,999	19,66	2	20,235	0,813	4,017
		G7	1000	2,094	20,81				
SPL19	SARAP 3-B	F8	1000	1,154	9,527	2	8,646	1,246	14,416
		G8	1000	1,007	7,764				
SPL20	SARAP 3-C	F9	1000	8,285	95,101	2	95,88	1,102	1,149
		G9	1000	8,415	96,659				
SPL21	SİRKE 1-A	F10	1000	8,488	97,54	2	100,099	3,619	3,615
		G10	1000	8,915	102,658				

3.2.6. Toplam fenolik madde tayini

Folin-Ciocalteu reaktifinin örneklerde bulunan toplam çözünebilir fenolik maddeler tarafından indirgenmesi ve fenolik bileşiklerin oksitlenmiş forma dönüşmesine dayanmaktadır. Toplam fenolik madde analizi alıç suyu ve şarabının 20 kat, alıç sirkesi örneklerinin 40 kat seyreltilmesi ile gerçekleştirilmiş ve sonuca seyreltme katsayıları yansıtılmıştır. Seyreltilmiş örneklerden 1 mL alınarak, 5 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu ayırıcı ilave edilerek 2 dakika beklenmiştir. Üzerine 4 mL %7.5 derişiminde sodyum bikarbonat çözeltisi ilavesi yapılarak oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 2 saat bekletilerek reaksiyonun tamamlanması sağlanmıştır.

Spektrofotometre absorbans değeri 760 nm'ye ayarlanarak örnek okumaları gerçekleştirilmiştir. Standart eğri elde edilmesi için farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış gallik asit okuması ile, eğri denkleminde yerine yazılması ile toplam fenolik madde miktarı hesaplanmıştır. Sonuçlar mg GAE/L gallik asit cinsinden verilmiştir (Cemeroğlu, 2007; Singleton vd., 1999). Çalışmamıza ait bir adet gallik asit standart eğri örneği Şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4. Gallik asite ait standart eğri

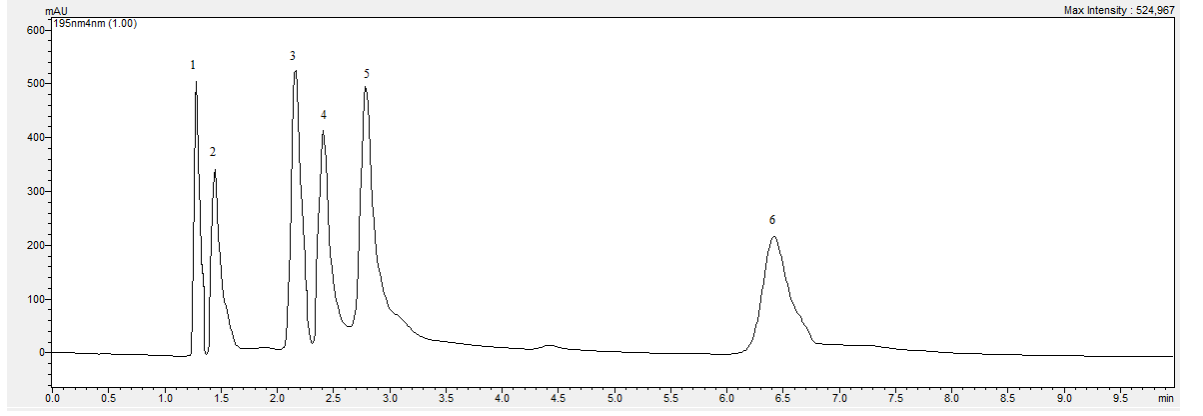


Şekil 3.5. Toplam fenolik madde tayini için hazırlanmış deney tüpleri

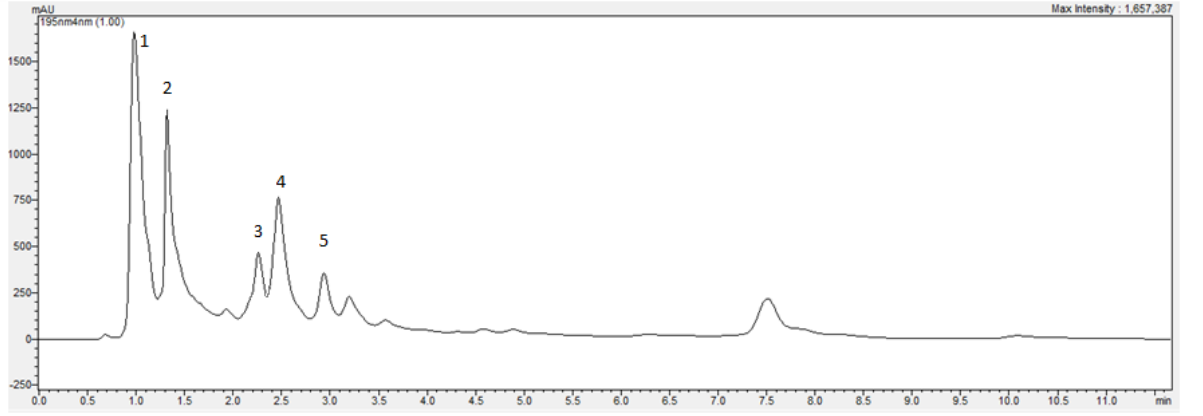
3.2.7. Fenolik bileşen tayini

HPLC (Shimadzu SCL-10A, Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japonya) cihazı kullanılarak örneklerde fenolik bileşen tayini yapılmıştır. HPLC cihazı; sistem kontrol ünitesi (LC 20ADvp), kolon fırını (CTO-10ASvp), DAD dedektör (SPD-M20A), gaz ayırıcı (DGU 20A₃) ve pompa (LC 10ADvp) kısımlarından oluşmaktadır. Fenolik bileşenlerin ayrımında Inertsil ODS-3 C18 (GL Sciences Inc.) (150x3.0 mm, 5 µm) boyutlarındaki kolon kullanılmıştır. 50 mM o-fosforik asit içeren, asetonitril-su (18:82) karışımı analizde mobil faz olarak kullanılmıştır. 1 N NaOH ilavesi ile mobil fazın pH'sı, 4.50±0.05 değerine ayarlanmıştır. HPLC cihazı mobil faz akış hızı 0.8 mL/dakikaya ve kolon fırını sıcaklığı 30°C 'ye ayarlanmıştır. Tüm örnekler hem orijinal derişimleri ile hem de şarap örnekleri 5 kat, meyve suyu ve sirke örnekleri 10 kat seyreltildikten sonra 0.45 µm'lik politetrafloroetilen (PTFE) filtreden (Membran Solutions) geçirilmişlerdir. Sisteme 20 µL enjekte edilerek fenolik bileşikler 195 nm dalga boyunda DAD dedektörü kullanılarak belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standartların, pik alan değerleri ile elde edilen grafik denklemleri kullanılarak sonuçlar hesaplanmıştır.

Analizde elde edilen standart karışım kromatogramı ve sirke örneği kromatogram Şekil 3.6 ve Şekil 3.7'de verilmiştir.



Şekil 3.6. Fenolik bileşen standartlarına ait kromatogram
(1-Gallik asit, 2-Klorojenik asit, 3- Kateşin, 4- Kafeik Asit, 5- Epikateşin 6- Rutin)

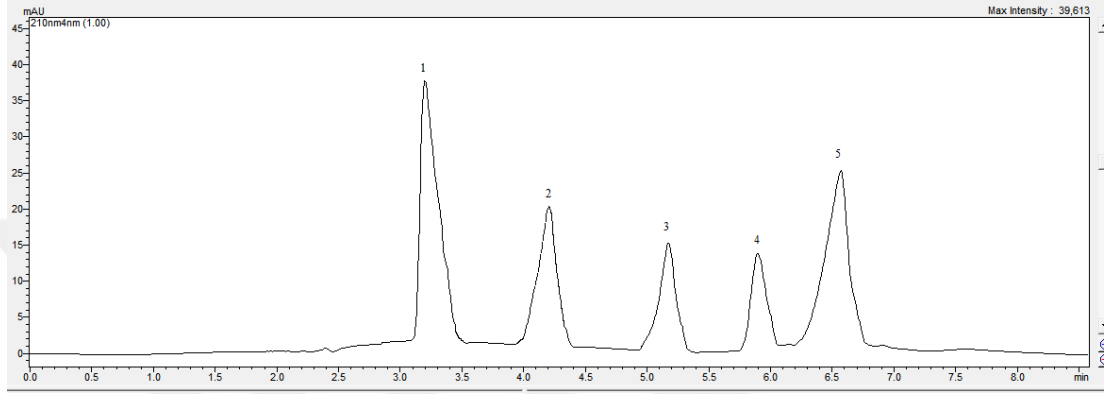


Şekil 3.7. Alçı sirkesine ait fenolik bileşen kromatogramı
(1-Gallik asit, 2-Klorojenik asit, 3- Kateşin, 4- Kafeik Asit, 5- Epikateşin)

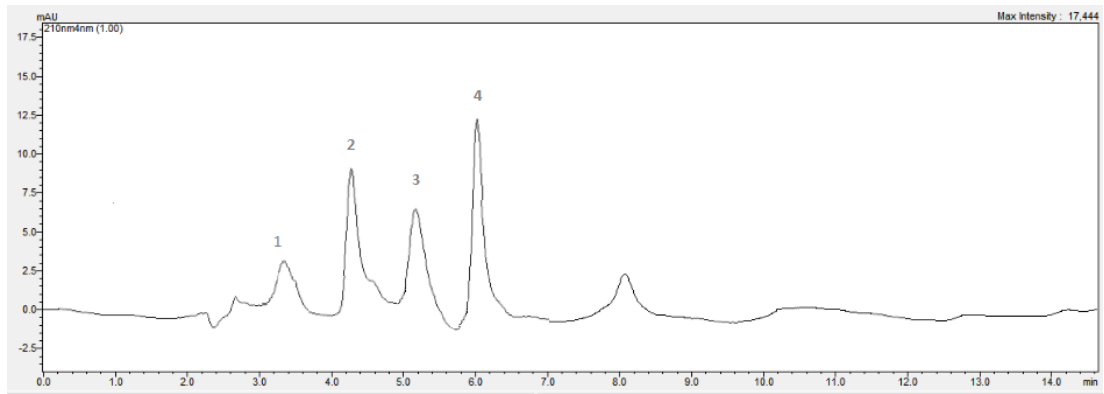
3.2.8. Organik asit tayini

Organik asit tayini, HPLC (Shimadzu SCL-10A, Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japonya) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Inertsil ODS-3V C18 (GL Sciences Inc.) (250x4.60 mm, 5 µm) kolon organik asit belirlenmesinde kullanılmıştır. 5 mM H₂SO₄ çözeltisi mobil faz olarak kullanılmıştır. Mobil fazın pH'sı 4 N NaOH kullanılarak 3.0±0.05 olarak ayarlanmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 30°C ve mobil fazın akış hızı 1.0 mL/dakikaya ayarlanmıştır. 0.45 µm'lik politetrafloroetilen (PTFE) filtreden (Membran Solutions) geçirilen örnekler sisteme 20 µL enjekte edilmiştir. DAD dedektörü 210 nm dalga boyunda

kullanılarak organik asit tayini gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlar hazırlanan standartlardan elde edilen pik değerlerinden sonuçlar hesaplanmıştır. Organik asit tayininde kullanılan standartlara ait örnek karışım kromatogramı Şekil 3.8’de, alıç suyu örneğine ait organik asit kromatogramı Şekil 3.9’da verilmiştir.



Şekil 3.8. Organik asit tayininde kullanılan standart karışımlarına ait kromatogram
(1- Oksalik asit, 2- Sitrik asit, 3-L-malik asit, 4- Laktik Asit, 5- Asetik asit)



Şekil 3.9. Alıç suyu örneğine ait organik asit kromatogramı
(1- Oksalik asit, 2- Sitrik asit, 3-L-malik asit, 4- Laktik Asit)

3.2.9. Antimikrobiyal Analizler

Disk difüzyon yöntemi kullanılan analizde; -18°C'de saklanan (Gliserol %30+Brain Heart Infusion Broth (BHI)) *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *C. jejuni* ve *L. monocytogenes* mikroorganizmaların her bir tüpe paralelli olarak canlandırılmak üzere BHI sıvı besiyerlerine (100 µL) aktarılarak arka arkaya 2-3 gün boyunca 37°C/1 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu üreme, deney tüplerinde bulanıklık ile gözlenmiştir. McFarland dansimetrede mikroorganizma yoğunluğunu belirlemek ve standardize etmek için; tüplere pepton eklenerek, mikroorganizma yoğunluğu 0,7 ye (10^7) ayarlanmıştır.

Nutrient agar besiyeri ile hazırlanan petrilere yoğunluğu ayarlanmış mikroorganizmalardan 20 µL eklenerek yayma işlemi yapılmıştır. Petrilerde işaretleme yapılarak, her bir sirke örneğinin 25 µL antimikrobiyal disklerle emilimi sağlanmış ve petrinin ¼'üne yerleştirilmiştir.

16-24 saat 37°C de inkübasyon gerçekleştirilerek ilk gözlemler kaydedilmiş, 48-72 saatte 37°C de devam ettirilen inkübasyon ile aktivite kalıcılığı kontrol edilmiştir. Kullanılan mikroorganizmalar için kullanılan agar besiyerlerinin isimleri Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Mikroorganizmalar için kullanılan besiyerleri

Mikroorganizma	Kullanılan Besiyeri
<i>Listeria monocytogenes</i>	Palcom Agar
<i>Escherichia coli</i>	Cromocult Agar
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cromocult Agar
<i>Staphylococcus aureus</i>	Paired Parker Agar
<i>Campylobacter jejuni</i>	MCCD Agar

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Alıç Sirkesi Üretim Aşamalarındaki Kimyasal Analiz Sonuçları

Alıç meyvesinden elde edilen meyve suyundan alkol fermantasyonu ve asetik asit fermantasyonu sonucu alıç sirkesi üretilmiştir. Üretim aşamaları boyunca alıç suyu (AS), alıç şarabı (AŞ) ve alıç sirkesi (ASR) olarak örnekler alınmış; pH, briks, toplam kuru madde, alkol ve toplam asit tayinleri yapılmıştır. Çizelge 4.1’de alıç suyu, şarabı ve sirkesine ait kimyasal analiz sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.1. Alıç sirkesi üretim aşamaları kimyasal analiz sonuçları

Örnek Adı	Örnek Kodu	Titrasyon asitliği (%)	pH	Briks (%)	Alkol (v/v)
ALİÇ SUYU	AS	0.46±0.09	3.53±0.08	12±0.0	-
ALİÇ ŞARABI	AŞ	0.50±0.01	3.73±0.01	5.35±0.5	5.82±0.03
ALİÇ SİRKESİ	ASR	0.42±0.02	3.63±0.1	6.03±0.3	-

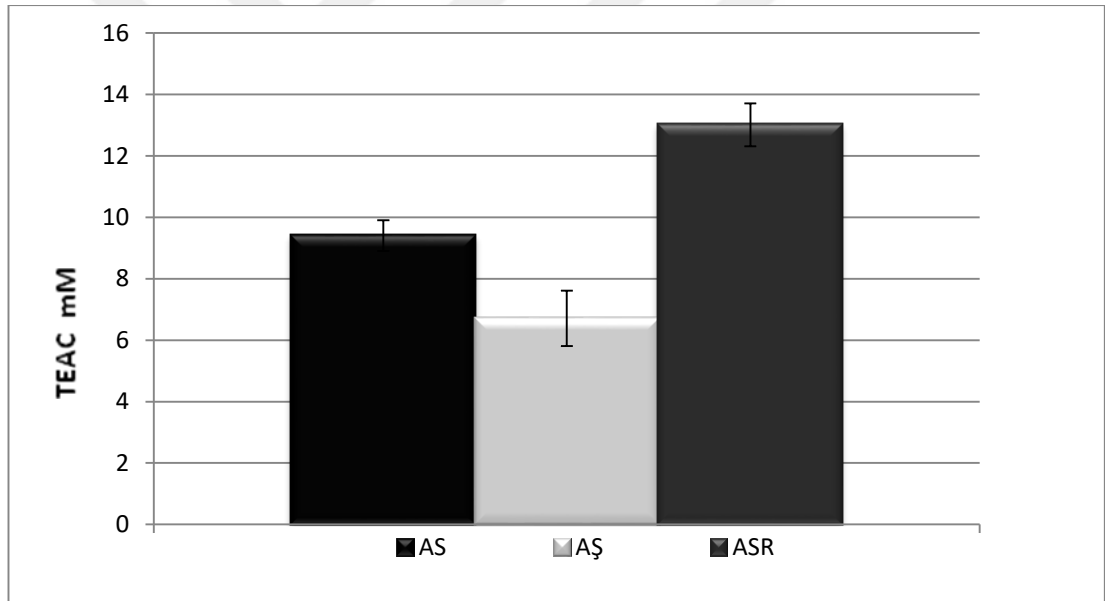
Toplam asitlik değeri AS, AŞ örneğinde sitrik asit cinsinden sırasıyla %0.46±0.09; %0.503±0.01 ve ASR örneğinde asetik asit cinsinden 0.42±0.02 olarak belirlenmiştir. AS, AŞ ve ASR örnekleri kuru madde miktarları sırası ile 7.93±0.7, 3.63±0.2, 4.6±0.6 olarak tespit edilmiştir. Kadaş (2011) tarafından yapılan çalışmada; alıç sirkesinde pH değeri 3.28 suda çözünür kuru madde değeri ise 5.33 % olarak hesaplanmıştır.

4.2. Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları

4.2.1. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC)

Antioksidan aktivite tayini için kullanılan TEAC yöntemi ile alıç suyu, alıç şarabı ve alıç sirkesi örneklerinin değerleri sırası ile; 9.40 ± 0.5 mM; 6.71 ± 1.91 mM; 13.01 ± 0.70 mM olarak belirlenmiştir.

Alıç suyu (AS) ve alıç sirkesi (ASR) örneklerinde benzer antioksidan aktivite değerleri görülmüştür, alıç şarabının (AŞ) antioksidan değerinin alıç suyu ve sirkesinden daha düşük olduğu görülmüştür. Alıç suyu, şarabı ve sirkesine ait TEAC yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite değerleri Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. TEAC yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite değerleri

Farklı kaynaklardan elde edilen TEAC analizi ile antioksidan aktivite portakal suyu örneklerinde 4.4 – 5.0 mmol TE/L (Seeram vd., 2008); portakal suyu örneklerinde 4.45 ve 10.8 mmol TE/L aralığında (Álvarez vd., 2014); portakal suyunda 5.15 mmol TE/L (Saura Calixto ve Goñi, 2006), üzüm suyunda 9.16 mmol TE/L (Moreno-Montoro vd., 2015); vişne suyu örneklerinde ortalama 9.60 mM (Özen, 2018); farklı ticari sularda üzüm sularından 14.9 – 21.7 mmol TE/L

kiraz sularından 11.4 ila 17.8 mmol TE/L (Seeram vd., 2008), nar suyu örneklerinde 36.3 ± 2.1 mM (Wan vd., 2018) tespit edilmiştir. Dou vd. (2015)'nin bir alıç türü olan *C. Pinnatifida* meyvesini oda sıcaklığında kurutarak polifenol ekstraksiyonunda yaptıkları TEAC analizinde 49.9–53.3 mg/g olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız araştırmada alıç suyu örneğinde 9.40 ± 0.5 mM tespit edilmiş ve literatür araştırması değerleri ile kıyaslandığında farklı meyve suyu ve kurutma yapılan örneklerden farklı değerler belirlendiği gözlenmiştir.

Pellegrini vd. (2003), kırmızı şarapta 8,95-12,14 mmol Troloks/L beyaz şarapta 1,61-1,94 mM Troloks/L; Budak (2010), üzüm şarabında 12,07 mM; elma şarabında 9,6 mM TEAC değerleri belirlenmiştir. Şarap örneklerinde hammaddeye bağlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Budak (2015a), TEAC sonuçlarını beyaz dut sirkesinde 7.72 mM, Seydim vd. (2016)'nin elma sirkesinde 4.1-11.82 mM aralığında bulunmuştur. Bu değerlerin alıç sirkesi örneğine kıyasla düşük kaldığı görülmüştür.

Budak vd. (2010) Uluğbey Karası üzümü kullanarak geleneksel ve endüstriyel sirkenin TEAC ile antioksidan aktivite tayini sonuçları sırası ile 13,5 mM ve 11,34 mM olarak, alıç sirkesi değerine yakın sonuçlar tespit edilmiştir.

4.2.2. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC)

Antioksidan aktivite tayini için kullanılan ORAC yöntemi ile alıç suyu (AS), alıç şarabının (AŞ) ve alıç sirkesi (ASR) sonuçları sırası ile; 16.94 ± 2.88 ; 27.63 ± 2.64 ; 34.08 ± 2.64 $\mu\text{mol/mL}$ olarak belirlenmiştir. Örnekler arasında en yüksek değer 34.08 ± 2.64 $\mu\text{mol/mL}$ olarak alıç sirkesinde tespit edilmiştir. Alıç suyundan, fermantasyon ilerledikçe ORAC analizi ile antioksidan değerinin yükseldiği tespit edilmiştir. Crozier vd. (2009), fermantasyonda şeker ve organik asitlere bağlı olan fenolik maddelerin ortamdaki miktarının arttığını bildirmişlerdir.

ORAC analizi ile yapılan antioksidan aktivite tayinlerinde; López-Froilán vd. (2018) mor üzüm suyunu 33.20 mmol TE/L, kırmızı üzüm suyunu 26.50 mmol TE/L, Wan vd. (2018) nar suyunu 33.4 ± 0.5 mM olarak alıç suyuna göre yüksek değerler tespit etmişken; Özen (2018) vişne suyunda 4.57 $\mu\text{mol/mL}$, konsantre vişne suyunda 9.69 $\mu\text{mol/mL}$, Seeram vd. (2008) portakal suyunda 7.40 mmol TE/L olarak belirlemişlerdir. Bu değerler alıç suyuna göre düşük olduğu görülmüş; Budak (2017)'ın kiraz suyunda yapmış olduğu ORAC analizindeki 17.97 ve 15.14 $\mu\text{mol/mL}$ değerleri alıç suyu ile benzerlik göstermiştir.

Budak (2015b) tarafından nar şarabında ORAC yöntemi ile yapılan antioksidan kapasitesi tayini sonuçları; 15.93-28.58 $\mu\text{mol/mL}$ aralığında belirlenmiştir. Budak (2010) Elma şarabının ORAC değeri 11.01 $\mu\text{mol TE/mL}$ bulunmuştur. Alıç şarabının değerinin bu değerlere göre yüksek olduğu görülmüştür.

Aykın vd. (2015) tarafından; elma sirke anasının 15.07 $\mu\text{mol TE/mL}$ olduğu; nar sirke anasının ise ORAC değeri 78.30 $\mu\text{mol TE/mL}$ olduğu belirlenmiştir. Budak (2015a) tarafından yapılan bir başka çalışmada dut sirkesinde ORAC analizinde sonuç 1.068 $\mu\text{mol/mL}$ olarak değerlendirilmiştir. Seydim vd. (2016) elma sirkesinin ORAC sonuçlarına göre sirkelerdeki değerler 2.74-10.5 $\mu\text{mol TE/mL}$ aralığındadır. Çalışmalarda görülen farklı sirke örneklerinin ORAC analizi sonuçları incelendiğinde nar sirke anası haricinde, alıç sirkesi örneğinin (34.08 ± 2.64 $\mu\text{mol/mL}$) yüksek antioksidan içeriğine sahip olduğu görülmüştür.

4.3. Toplam Fenolik Madde Tayini

Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılan toplam fenolik madde içeriği tayini yapılmıştır. Alıç suyunda (AS) 1.2826 ± 0.06 g GAE/L, alıç şarabında (AŞ) 1.0067 ± 0.02 g GAE/L, alıç sirkesinde (ASR) 2.4207 ± 0.02 g GAE/L toplam fenolik madde belirlenmiştir.

Elde edilen bulgulara göre sirkede (ASR) toplam fenolik madde miktarı en yüksek iken, şarapta (AŞ) en düşük olduğu görülmüştür. Alıç suyuna göre, alıç

sirkesinin içerdği toplam fenolik madde miktarı yaklaşık olarak iki kat fazladır. Toplam fenolik madde miktarı değişimi Çizelge 4.2’ de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Alıç sirkesi üretim aşamalarında elde edilen toplam fenolik madde miktarı

ÖRNEK	TOPLAM FENOLİK MADDE (g GAE/L)
AS	1.2826±0.06
AŞ	1.0067±0.02
ASR	2.4207±0.02

Alıç meyvesi kullanılarak sirke elde edilmesine yönelik çalışmada toplam fenolik madde içeriği ise 502 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir (Kadaş, 2011).

Toplam fenolik madde içerikleri; kırmızı üzüm suyunda 705-1177 mg GAE/L (Davalos vd., 2005), çilek suyunda 68.18-95.76 mg GAE/100mL (Caliskan and Bayazit, 2012) olarak belirlenmiş, alıç suyunun toplam fenolik madde içeriğine göre düşük olduğu görülmüştür. Nar suyunda tespit edilen 1080-9449 mg GAE/L (Wang vd., 2019) değer aralığında kaldığı görülmüştür.

Sanchez-Moreno vd. (2003) beyaz üzüm şarabında 191-306 mg GAE /L, Yoo vd. (2010) vişne şarabında 79.4-149 mg GAE / 100 mL olarak toplam fenolik madde içeriklerini tespit etmişlerdir. Alıç şarabının fenolik madde içeriği beyaz üzüm şarabına göre yüksek, vişne şarabının ise değer aralığında olduğu görülmüştür.

Toplam fenolik madde içeriklerini; Du vd. (2019) çeşitli elma sirkelerinde 33.197- 284.73 mg GAE /L, Budak (2015a, 2015b) nar sirkesinde 1765.11 mg GAE/L ve 2471.77, dut sirkesinde 972.708 mg GAE/L olarak, Budak vd (2011) elma sirkesinde 400-1000 mg GAE/L olarak belirlemişlerdir. Alıç sirkesinin toplam fenolik madde içeriğinin literatürdeki çalışmalara göre yüksek değerler içerdği görülmüştür.

Kadaş (2011) tarafından alıç sirkesinde 502 mg GAE/L olarak belirlenen fenolik madde içeriğine göre de, çalışmamızdaki alıç sirkesinde belirlenen değerin Kadaş (2011) e göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılık alıç çeşitlerine, alıç meyvesinin yetiştirildiği iklim ve toprak yapısına göre değişebileceği gözlenmiştir.

4.4. Fenolik bileşen tayini

Alıç suyu, şarabı ve sirkesinden alınan örneklerde fenolik bileşen tayini HPLC yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar izelge 4.3 'te verilmiştir. Alıç suyu, şarabı ve sirkesinden elde edilen örneklerde gallik asit, klorojenik asit, kateşin, epikateşin ve kafeik asit tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Alıç rnlerinin fenolik bileşen miktarları

ÖRNEK	Gallik asit (g/L)	Klorojenik asit (g/L)	Kateşin (g/L)	Epikateşin (g/L)	Kafeik Asit (g/L)
AS	0.1327±0.070	0.1841±0.02	0.0631±0.01	0.0480±0.01	0.1884±0.02
Aş	0.4569±0.01	0.1563±0.00	0.1112±0.00	0.0366±0.00	0.1867±0.02
ASR	0.7638±0.13	0.5348±0.04	0.0456±0.00	0.0383±0.01	0.3723±0.02

Gallik asitin, alıç suyundan şaraba ve sirkeye üretim aşamalarında artış gösterdiği grlmştir. Alışta gallik asit en yaygın görülen fenolik asittir ve şeker esterleri ile bağlı olarak bulunur; gallik asit üzüm, üzüm şarabı, vişne, yeşil çay, siyah çay gibi ürünlerde de fazla miktarda bulunmaktadır (Macheix vd., 1990). Etanol fermentasyonu sonucu şarap oluşumuyla meyvelerdeki şekere bağlı olarak bulunan gallik asit açığa çıkmaktadır (Crozier vd., 2009; Sugihara vd., 1999). Bu sebeple gallik asit düzeyinde artış tespit edilmiştir.

Klorojenik asitin alıç suyu ve şarabına göre sirkede; önemli düzeyde artış gösterdiği belirlenmiştir.

Kateşin, alıç şarabında en yüksek değerde görülürken, alıç suyu ve sirkesinde yakın ve alıç şarabına göre daha düşük değerlerde tespit edilmiştir. Fenolik bileşenlerin bir kısmı; asetik asit fermantasyonu sonrası dinlendirme aşamasında dibe çökmektedir (Cheng vd., 2002). Alıç suyu, şarabı ve sirkesinde; epikateşin miktarında önemli bir değişim görülmemiştir.

Yapmış olduğumuz çalışmada alıç suyu örneğimizin klorojenik asit ve kafeik asit içerikleri sırası ile 0.1841 ± 0.02 ve 0.1884 ± 0.02 g/L olarak en yüksek değerler tespit edilmiştir. Alıç şarabında ise; 0.4569 ± 0.01 g/L ile gallik asitin en yüksek değere sahip olduğu, alıç sirkesinde ise 0.7638 ± 0.13 g/L değeri ile gallik asit artarken, klorojenik (0.5348 ± 0.04 g/L) ve kafeik asitte de (0.3723 ± 0.02 g/L) artış gözlemlenmiştir.

Meyve ve sebzelerdeki antioksidanlar vitaminler, fenolikler ve karotenoidlerden kaynaklanmaktadır (Halliwell, 1996). Fenolik maddeler şeker ve organik asitlere bağlı bulunurlar (Crozier vd., 2009; Sugihara vd., 1999). Meyve suyunun fermantasyonu sonucu ortamdaki şeker etanole dönüşmekte ve şekere bağlı olan fenolik maddeler şaraba geçmektedir. Alıç şarabının antioksidan işlevi genel olarak fenolik bileşiklerle ilgilidir, yüksek fenil hidroksil içeriğinden dolayı güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Cui vd., 2006).

Çoklar vd. (2018) tarafından dondurulmuş, mikrodalga fırın ve fırınlama işlemleri sonucunda analizleri yapılmış olan alıç meyvelerinde gallik, protokateşik, klorojenik ve kafeik asit olmak üzere 4 fenolik bileşen belirlenmiş, Culum vd. (2018) tarafından 3 farklı alıç türünden yapılan HPLC analizinde; gallik ve klorojenik asit ve rutin tespit edilmiştir. Test edilen numunelerdeki rutin içeriği, *C. x subsphaericea* B (ABD) 0.03 ila *C. x macrocarpa* LF (S) 13.49 mg / gDW; gallik asit *C. x macrocarpa* B (ABD) için 0.001 *C. x macrocarpa* LF (S) 0.082 mg / g DW; ve klorojenik asit 0.19 *C. x macrocarpa* B (US) ila 8.70 mg/g DW *C. x macrocarpa* B (S) aralığında oldukça düşük değerler vermiştir.

Ebrahimadeh vd. (2018) yapmış olduğu HPLC analizinde 2 farklı tür alıç meyvesinin ekstraktları kullanılmıştır. Klorojenik asit ve rutin içerikleri; *C. Pentaegyna* için 91.66 ve 15.99 mg/g; *C. microphylla* için 119.31 ve 84.65 mg/g olarak belirlenmiştir.

Marangoz (2016) sirke anası kullanılarak yüzey kültür yöntemi ile karadut sirkesinde en yüksek fenolik bileşeni 11.645 mg/L ile kateşin, Budak (2015a) dut sirkesinde en yüksek değerleri 16.65 mg/L ile gallik asit ve 14.83 mg/L ile klorojenik asit, Budak ve Guzel-Seydim (2010) geleneksel yöntemle üretilen üzüm şarabı sirkelerinde en yüksek 16.36 mg/L ile gallik asit, endüstriyel üretimle elde edilen üzüm şarabı sirkesinde en yüksek değeri 27.50 mg/L ile kateşin olarak tespit etmişlerdir.

4.5. Organik asit tayini

Bu çalışmada alıç suyundan ve şarabında laktik asit miktarı ön plana çıkarken, alıç sirkesinde ise asetik asit ve sitrik asit ön plana çıkmaktadır. Çizelge 4.4' te belirlenen organik asit miktarları verilmiştir.

Çizelge 4.4. Alıç sirkesi üretim aşamalarında tespit edilen organik asit miktarları

Örnek	Oksalik asit (g/L)	Malik asit (g/L)	Laktik asit (g/L)	Asetik asit (g/L)	Sitrik asit (g/L)
AS	0.3777±0.01	1.2857±0.07	3.3506±0.86	-	1.6716±0.71
AŞ	0.3372±0.08	1.0622±0.08	5.3607±0.01	-	1.9622±0.05
ASR	0.7921±0.04	1.3602±0.04	6.5467±0.36	39.6501±0.35	8.3082±2.64

Organik asit tayini yapılan çalışmalarda: alıç meyvesinde prokateşik asit, p-hidroksibenzoik asit, kafeik asit, vanilik asit, sinirjik asit, p-kumarik asit, ellajik asit, ferulik asit (Natic vd. 2019); elma sirkesinde asetik, sitrik, formik, laktik, malik ve süksinik asit (Caligiani vd., 2007; Budak, 2010), Erik sirkesinde ise asetik asit, tartarik asit ve laktik asit varlığı (Lui ve He, 2009) tespit edilmiştir.

Organik asit tayinlerinde belirlenen değerler; endüstriyel üzüm sirkesi örneklerinde 57.1-59.05 g/L asetik asit, 0.035-0.288 g/L sitrik asit, 0.271-0.363 g/L tartarik asit; 0.059-0.109 g/L malik asit, 0.120-0.42 g/L laktik asit, geleneksel üzüm sirkesi örneklerinde 69.4-86.3 g/L asetik asit, 0.062-0.073 g/L sitrik asit, 1.65-2.9 g/L tartarik asit, 0.23-0.25 g/L malik asit, 0.21-0.32 g/L laktik asit (Morales vd., 1998) tespit edilmiştir. Aykın vd. (2015) elma sirkesinde gallik asit 61.24 ± 2.21 mg/L, klorojenik asit 347.70 ± 31.94 mg/L, kateşin 68.20 ± 4.55 mg/L, kafeik asit 17.21 ± 0.33 mg/L; nar sirkesinde gallik asit 67.80 ± 2.88 mg/L, kateşin 47.00 ± 1.10 mg/L, kafeik asit 13.41 ± 0.60 mg/L olarak belirlemiştir.

Özen (2018) Vişne suyunda malik asit; vişne suyu ve vişne konsantresi örneklerinde sırası ile 12.36 ve 13.48 g/L olarak tespit edilmiştir. Vişne sirkesi ve konsanstreden üretilmiş vişne sirkesi örneklerimizdeki malik asit değerleri 2.64 ve 1.09 g/L olarak tespit edilmiştir. Vişne suyundaki yüksek olan organik asit malik asit iken, sirkede asit asetik asit olduğu görülmüştür. Vişne sirkesi ve konsanstreden üretilmiş vişne sirkesi örneklerindeki asetik asit değerleri 2.66 ve 2.98 g/L olarak tespit edilmiştir. Alıç suyunda bulunan malik asit değerleri, vişne suyu ve konsantresine göre düşük olduğu görülmektedir. Vişne sirkeleri ve alıç sirkesi asetik asit değerleri karşılaştığında alıç sirkesinin değerinin yüksek olduğu görülmektedir.

Budak (2010) elma ve üzüm sirkesi üretim aşamalarında asetik asitin yükseldiğini, malik asitin düştüğünü tespit etmişlerdir. Üzüm sirkesinde asetik asit ve tartarik asit, elma sirkesinde asetik asit ve malik asit baskın organik asittir. Üzüm suyunda 4232,96 mg/L tartarik asit, 1312,03 mg /L malik asit ve

332,10 mg/L sitrik asit tespit edilmiştir. Üzüm şarabında 3116,66 mg/L tartarik asit, 118,86 mg /L malik asit ve 375,86 mg/L sitrik asit tespit edilmiş. Tartarik asit konsantrasyonu yüzey kültür üzüm sirkesi örneğinde 1719,86 mg/L ve derin kültür üzüm sirkesi örneğinde 2010,80 mg/L olarak bulunmuştur. Alıç suyu ile kıyaslandığında; malik asit değerinin yakın olduğu görülürken, tartarik asitin yüksek olduğu görülmüştür. Üzüm ve alıç şaraplarında, üzüm şarabında tartarik asidin yüksek olduğu görülürken, alıç şarabında malik asit üzüm şarabına kıyasla yüksektir. Alıç sirkesindeki sitrik asit miktarı ise üzüm sirkelerine göre oldukça yüksektir.

4.6. Antimikrobiyal Analiz Sonuçları

Alıç sirkesinin antimikrobiyal etkisini gözlemlemek için *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *C. jejuni* ve *L. monocytogenes* farklı mikroorganizmalar kullanılmış ve antimikrobiyal etki disk difüzyon yöntemi ile tespit edilmiştir. Her petriye inoküle edilen farklı mikroorganizmalarda 25 µL alıç sirkesi emdirilmiş disklerin antimikrobiyal etkisi tespit edilmiştir. Çizelge 4.5 'te Alıç sirkesinin mikroorganizmalar üzerinde etki düzeyleri gösterilmiştir.

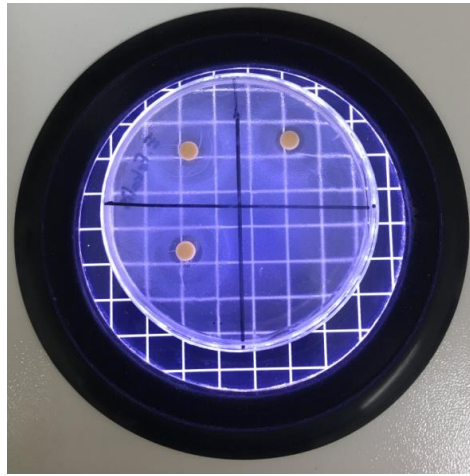
E. coli mikroorganizması üzerinde oluşan alıç sirkesine ait inhibisyon zonları 24 saatlik inkübasyon sonunda 1.8-2.5 cm aralığında, 48 saatlik inkübasyon sonunda zon çaplarında değişiklik gözlenmemiştir. Zonlar 2 halka olarak gözlenmiştir. Disk'in çevresindeki ilk (iç) zon renksiz şeffaf, dış (ikinci) zon bulanık dış çeper olarak gözlenmiş ve değerlerde iki halkanın toplamı değerlendirmeye alınmıştır. Şekil 4.6'da alıç sirkesinin *E. coli* üzerinde antimikrobiyal etki zonları verilmiştir.

E. faecalis 'in alıç sirkesine ait inhibisyon zonları 24 saatlik inkübasyon sonunda 1.4-2.9 cm, 48 saatlik inkübasyon sonunda zon çaplarının 1.4-2.6 cm aralığında olduğu görülmüştür. Zonlar 2 halka olarak gözlenmiştir. Disk'in çevresindeki ilk (iç) zon renksiz şeffaf, dış (ikinci) zon bulanık dış çeper olarak gözlenmiştir. Şekil 4.2 'de Alıç sirkesinin *E. faecalis* üzerinde antimikrobiyal etki zonları gösterilmiştir.

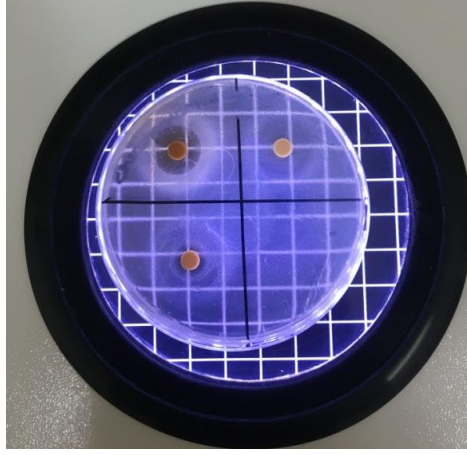
L. monocytogenes 'in alıç sirkesine ait inhibisyon zonları 24 saatlik inkübasyon sonunda 0.8-2.9 cm aralığında olduğu görülmüş, 48 saatlik inkübasyon sonunda zon çaplarında değişiklik gözlenmemiştir. Zonlar 2 halka olarak gözlenmiştir. Disk'in çevresindeki renksiz şeffaf ilk (iç) zon diğer mikroorganizmalara göre daha belirsiz iken, dış (ikinci) zon bulanık dış çeper olduğu gözlenmiştir. Şekil 4.3' te Alıç sirkesinin *L. monocytogenes* üzerinde Antimikrobiyal etki zonları gösterilmiştir.

S. aureus 'in alıç sirkesine ait inhibisyon zonları 24 saatlik inkübasyon sonunda 1.1-2.5 cm aralığında olduğu görülmüş, 48 saatlik inkübasyon sonunda zon çaplarında değişiklik gözlenmemiştir. Zonlar 2 halka olarak gözlenmiştir. Disk'in çevresindeki ilk (iç) zon renksiz şeffaf, dış (ikinci) zon bulanık sarımsı dış çeper olarak gözlenmiştir. Şekil 4.5'te Alıç sirkesinin *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etki zonları gösterilmiştir.

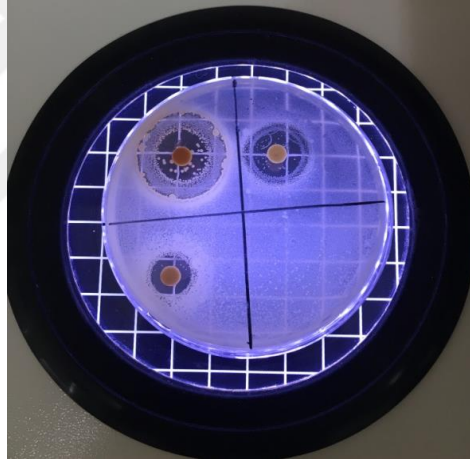
C. jejuni 'in alıç sirkesine ait inhibisyon zonları 24 saatlik inkübasyon sonunda 1.3-2.9 cm aralığında olduğu görülmüş, 48 saatlik inkübasyon sonunda zon çaplarında değişiklik gözlenmemiştir. Zonların renksiz şeffaf olduğu, zon içlerinde noktasal yapılar bulunduğu gözlenmiştir. Şekil 4.4 'de Alıç sirkesinin *C. jejuni* üzerinde Antimikrobiyal etki zonları gösterilmiştir.



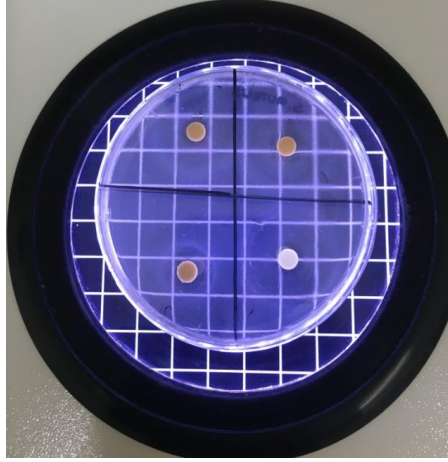
Şekil 4.2. Alıç sirkesinin *E. faecalis* üzerinde antimikrobiyal etki zonları



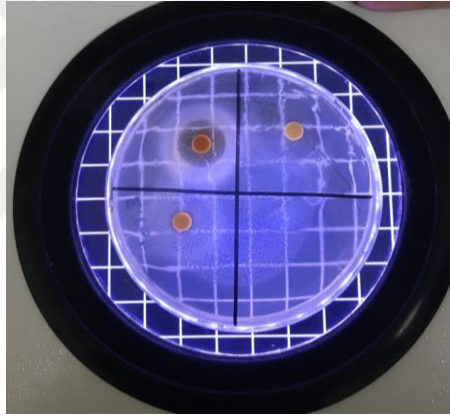
Şekil 4.3. Alıç sirkesinin *L. monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal etki zonları



Şekil 4.4. Alıç sirkesinin *C. jejuni* üzerinde antimikrobiyal etki zonları



Şekil 4.5. Alıç sirkesinin *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etki zonları

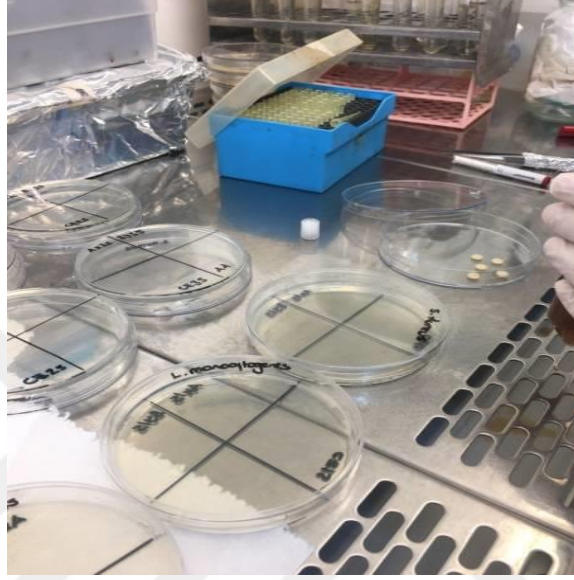


Şekil 4.6. Alıç sirkesinin *E. coli* üzerinde antimikrobiyal etki zonları

Çizelge 4.5. Alıç sirkesinin mikroorganizma inhibisyon zon çapları

Mikroorganizma	Alıç sirkesinin oluşturduğu ortalama disk zonları
<i>E. coli</i>	2.11±0.24
<i>E. faecalis</i>	2.08±0.47
<i>L. monocytogenes</i>	2.12±0.43
<i>S. aureus</i>	2.17±0.26
<i>C. jejuni</i>	1.91±0.51

Alıç sirkesinin *E. coli*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *C. jejuni* mikroorganizmalarındaki *en büyük* etki zonu *S. aureus* 'ta olmasına karşın, zon çaplarında büyük farklılıklar gözlenmemiştir, oluşan zonları en belirgin ve neti *C. jejuni*' de gözlenmiştir.



Şekil 4.7. Disk difüzyon yöntemi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Alıç, uzun yıllardır dünya üzerinde tamamlayıcı tıbbın bir ürünü olarak yaprak, çiçek, meyveleri olmak üzere kullanılmaktadır. Astım, romatizma, böbrek taşı, sindirim sistemi ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmakta olan alıç zengin pektin içeriğinin yanı sıra flavanoid ve antosiyaninlerce zengin olması ile de dikkat çekmektedir.

Ülkemiz ikliminde de doğal olarak yetişebilen alıç hemen hemen tüm Anadolu'da derelere bakan yamaçlarda, kayalık, taşlık yerlerdeki çalılıkların içinde, ormanlarda veya dağlık alanlara yetişmektedir. İklimlendirmeye ve ek maliyetlere ihtiyaç duyulmadan yetişen bu meyvenin tüketimi ve üretimde hammadde olarak kullanımının ekonomik olduğu dikkat çekmektedir.

Hasat süresi kısa olan alıç meyvesinin yalnızca hasatı yapılan Eylül-Ekim aylarından daha yaygın sürede kullanımı için alternatif ürünlerin üretilerek tüketiminin tüm yıla yayılabileceği düşünülmüştür. Alıç suyu, şarabı ve sirkesi üretim aşamalarında yapılan analizler ile doğal fermente ürünlerdeki fenolik bileşen ve antioksidan özelliklerindeki değişimler gözlenmiştir.

Alıçtan kuru meyve, meyve suyu, jöle, sirke gibi ürünler üretilbilirken; kek, dondurma gibi ürünler için aroma maddesi ya da tozu girdi olarak kullanılabilir. Dünyada en çok kullanılan çeşnilerden biri olan sirke, kan şekeri ve kan basıncının geri kazanımı, düzenlenmesi, sindirime yardımcı olma özelliği, kalsiyum emilimini artırması gibi faydalarından dolayı alıç'ın işlenebileceği ürünler içinde en etkili olduğu düşünülmüştür.

Alıç sirkesinin antioksidan özellikleri TEAC ve ORAC yöntemleri ile değerlendirildiğinde, çeşitli meyve sirkelerine göre yüksek olduğu görülmüştür. Özellikle ORAC analizinde alıç sirkesinin, alıç suyu ve şarabına göre daha yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Toplam fenolik madde içeriğinin çeşitli meyve sirkelerinden genel olarak yüksek olduğu ve fenolik bileşenlerce zengin olduğu gözlemlenmiştir. Alıçtan üretilen sirke örneklerinde gallik asit, klorojenik asit, kateşin, epikateşin, kafeik asit tespit edilmiştir.

Organik asit içerikleri belirlenen alıç sirkesinde; oksalik asit, malik asit, laktik asit, asetik asit ve sitrik asit olduğu görülürken, asetik asit, sitrik asit ve laktik asitin ön plana çıktığı görülmüştür.

Geleneksel antimikrobiyal ajanların aşırı kullanımı, mikrobiyal direnç, yan etkileri sebebiyle günümüzde doğal antimikrobiyallere olan ilgiyi artmıştır. Doğal koruyucu yöntemlerin tercih edilmesi sebebiyle; alıç sirkesinin disk difüzyon yöntemi ile *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *C. jejuni* ve *L. monocytogenes* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etkisi gözlenmiştir. Hedeflenen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisinin varlığı gözlemlenen alıç sirkesinin inhibisyon yeteneğinin olduğu görülmüştür. Alıç sirkesinin *E. coli*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *C. jejuni* mikroorganizmalarındaki en büyük etki zonu *S. aureus* 'ta olmasına karşın, zon çaplarında büyük farklılıklar gözlenmemiştir, zonların en belirgin ve net olanı *C. jejuni* ' de olduğu gözlenmiştir.

Antioksidan ve fenolik bileşen yönünden zengin olan alıç'ın, içerdiği organik asitler ve antimikrobiyal etkisi göz önüne alındığında; ekonomik bir ürün olması sebebiyle sirke üretiminde alternatif bir hammadde olarak kullanılması cazip görünmektedir. Talebi artan bir ürün olması sebebiyle çalışmamız, alıçtan üretilebilecek alternatif ürünler için yapılacak çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.

KAYNAKLAR

- Abuashwashi M. A., Palomino O. M., Gomez-Serranillos M. P., 2016. Geographic origin influences the phenolic composition and antioxidant potential of wild *Crataegus monogyna* from Spain. *Pharmaceutical Biology*, 54(11), 2708–2713.
- Aktan, N., Kalkan, H., 1998. *Sirke Teknolojisi*. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 82.
- Álvarez, J., Pastoriza, S., Alonso-Olalla, R., 2014. Nutritional and physicochemical characteristic of commercial Spanish citrus juices. *Food Chemistry*, 164:396–405.
- Anonim, 2000. Proposed Draft Revised Regional Standard for Vinegar, Codex Alimentarius Commission, FAO, WHO, Rome.
- Anonim. 1982. FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. Draft European regional standard for vinegar, 83/19, II.
- AOAC, 1992. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 15th edition, AOAC, Washington DC.
- Arts, M.J.T.J., Sebastiaan Dallinga, J., Voss, H., Haenen, G.R.M.M., Bast, A. 2004. A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. *Food Chemistry*, 88(4), 567-570.
- Aykın, E., Budak N.H., Güzel-Seydim Z.B., 2015. Bioactive Components of Mother Vinegar, *Journal of the American College of Nutrition*, 34(1),80-89.
- Batu, A., 2012 Alıç Meyvesinin Fonksiyonel Gıda Olarak Değerlendirilmesi ve İnsan Sağlığı Bakımından Önemi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 5 (2), 01-05.
- Bilgehan, H., 2000. *Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları)*. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 622s, İstanbul.
- Bjornsdottir, K., Breidit, J.R.F., and Mcfeeters, R.F., 2006. Protective effect of organic acids on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in acidic environments. *Applied Environment Microbiology*, 72,660–664.
- Booth, I.R., Kroll, R.G., 1989. The preservation of foods by low pH. In: Gould GW, editor. *Mechanisms of action of food preservation procedures*. New York: Elsevier Science Publishers, 119–60.
- Borges, G., Mullen, W., Crozier, A., 2010. Comparison of the polyphenolic composition and antioxidant activity of European commercial fruit juices. *Food Function* 1,73–83.

- Brennan, M., Port, G.L., Gormley, R., 2000. Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 33,285–9.
- Brul, S., Coote. P., 1999. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 1–17.
- Buchanan, R.L., Edelson, S.G., 1996. Culturing enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the presence and absence of glucose as a simple means of evaluating the acid tolerance of stationary-phase cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 4009–13.
- Budak N.H., 2017. Bioactive components of *Prunus avium* L. black gold (red cherry) and *Prunus avium* L. stark gold (white cherry) juices, wines and vinegars. *Journal of Food Science and Technology*, 54(1),62–70.
- Budak, H.N. 2015a. Dut Sirkesi Oluşum Sürecinde İleri Analitik Tekniklerle Toplam Antioksidan Aktivitesi ve Fenolik Bileşenleri. *Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, 2(2), 27-31.
- Budak, H.N. 2015b, Antioxidant activity and phenolic contents Pomegranate vinegar. *Agro FOOD Industry Hi Tech*, 26-5.
- Budak H.N., Kumbul Doguc D., Savas C.M., Seydim A.C., Kok Tas T., Ciris I.M., Guzel-Seydim Z.B., 2011. Effects of Apple Cider Vinegars Produced with Different Techniques on Blood Lipids in High-Cholesterol- Fed Rats. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 59,6638–6644.
- Budak N.H., Guzel-Seydim Z., 2010. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Wine Vinegars Produced by Two Different Techniques. *Journal of Science Food Agriculture*, 90, 2021-2026
- Budak, H.N., 2010. Elma ve üzümünden üretilen sirkelerin bileşenleri ve fonksiyonel özellikleri üzerine araştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi, Doktora tezi, 190s, Isparta.
- Byappanahalli, M.N., Nevers, M.B., Korajkic, A., Staley, Z.R., Harwood, V.J., 2012. Enterococci in the Environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 4, 685-706.
- Caligiani, A., Acquotti, D., Palla, G., Bocchi, V., 2007. Identification and quantification of the main organic components of vinegars by high resolution NMR spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 585, 110–119.
- Caliskan, O., Bayazit, S., 2012. Phytochemical and antioxidant attributes of autochthonous Turkish pomegranates, *Scientia Horticulturae*, 147, 81-88.

- Cao, G., Alessio, H.M., Cuter, R. G., 1993. Oxygen-radikal absorbencecy capacity assay for antioxidants, *Free Radical Biology and Medicine*, 14, 303-311.
- Cassenego, A.P.V., Ellwanger, J., d'Azevedo, P.A., Ribeiro, A.M.L., Frazzon, J., Frazzon, A.P.G., 2013. Virulence and biofilm formation by *Enterococcus faecalis* isolates from cloacal swabs of broilers infected with *Eimeria* spp. *Penquisa Veterinaria Brasileira*, 33 (12), 1433-1440.
- Cemeroğlu, B., 2007. Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara. 535s.
- Chang, J., Fang, T.J., 2007. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. Coli* O157:H7. *Food Microbiology*, 24,745–51.
- Cheng, Z., Ren, J., Li, Y., Chang, W., Chen, Z., 2002. Study on the Multiple Mechanisms Underlying the Reaction Between Hydroxyl Radical and Phenolic Compounds by Qualitative Structure and Activity Relationship. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 10, 4067–4073.
- Chou, C.H.; Liu, C.W.; Yang, D.J.;Wu, Y.H.S.; Chen, Y.C. Amino acid, mineral, and polyphenolic profiles of black vinegar, and its lipid lowering and antioxidant effects in vivo. *Food Chem.* 2015, 168, 63–69.
- Coklar, H., Akbulut, M., Kılınç, M., Yıldırım, A., Alhassan, I., 2018. Effect of Freeze, Oven and Microwave Pretreated Oven Drying on Color, Browning Index, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Hawthorn (*Crataegus orientalis*) Fruit. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, 46(2), 449-456.
- Coklar, H., Akbulut, M., 2016. Olgunlaşma ile alıc (*Crataegus orientalis*) meyvesinin antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve fenolik profilindeki değişim. *Fruit Science* 3(2),30-37.
- Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). European Union herbal monograph on *Crataegus* spp., folium cum flore. London: European Medicines Agency 2016 (5 April 2016). Report No.: EMA/HMPC/159075/2014 Contract No.: EMA/HMPC/159075/2014.
- Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Assessment report on *Crataegus* spp., folium cum flore. London: European Medicines Agency 2016 (5 April 2016). Report No.: EMA/HMPC/159076/2014 Contract No.: EMA/HMPC/159076/2014.
- Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N., 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. Natural Product Reports*, 26 (8), 1001-1043.

- Cuevas-Bernardino, J.C., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E. J., 2016. Physicochemical characterisation of hawthorn pectins and their performing in stabilising oil-in-water emulsions. *Reactive and Functional Polymers*, 103, 63–71.
- Cui, T., Nakamura, K., Tian, S., Kayahara, H., & Tian, Y. L. (2006). Polyphenolic content and physiological activities of Chinese hawthorn extracts. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 70, 2948–2956.
- Culum, D., Copra-Janicijevic, A., Vidic, D., Klepo, L., Tahirovic, A., Bašić, N., Maksimovic, M., 2018. HPLC-ED Analysis of Phenolic Compounds in Three Bosnian *Crataegus* Species. *Foods*, 7, 66.
- Çakır, İ., 2000. *Escherichia coli* O157:H7, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, SİM matbaacılık, Ankara
- Dahmer, S., Scott, E., 2010. Health Effects of Hawthorn. *American Family Physician*. 81(4), 465–468.
- Davalos, A., Bartolome, B., Gomez-Cordoves, C., 2005. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chemistry*, 93, 325–330.
- Davidson, P.M. and Parish, M.E., 1989. Methods of testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology*, 148-155.
- De Beer, D., Joubert, E., Gelderbolm, W.C.A., Manley, M., 2003. Antioxidant activity of South African Red and White Cultivar Wines: free radical scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 902–909.
- De Noordhout, CM., Devleesschauwer, B., Angulo, FJ., Verbeke, G., Haagsma, J., Kirk, M Havelaar, A., Speybroeck, N., 2014. The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infectious Diseases*, 14 (11), 1073-1082.
- De Ory, I., Romeo, L.E., Cantero, D. 2004. Operation in semi-continuos with a closed pilot plant scale acetifier for vinegar production. *J of Food Engineering*, 63, 39-45.
- Dohar, W.J., 2003 The Register of Walter Bronescombe, bishop of Exeter, AD1258-1280, Vol 2 *Catholic Historical Review*, 89(2) 294-295.
- Dou, D.Q., Leng, P.S., Li, Y.H., Zeng, Y., (Sun, Y.X., 2015. Comparative study of antioxidant compounds and antiradical properties of the fruit extracts from three varieties of *Crataegus pinnatifida*. *Journal of Food Science and Technology* 52, 430-436.
- Du, G., Zhu, Y., Wang, X., Zhang, J., Tian, C., Liu L., , Meng, Y. Guo, Y., 2019. Phenolic composition of apple products and by-products based on cold

- pressing technology. *Journal of Food Science and Technology*, 56(3), 1389–1397.
- Duan, N., Wu, S.J., Zhu, C.Q., Ma, X.Y., Wang, Z.P., Yu, Y., Jiang, Y., 2012. Dual-color upconversion fluorescence and aptamer-functionalized magnetic nanoparticles-based bioassay for the simultaneous detection of *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *Analytica Chimica Acta*, 723, 1-6.
- Ebrahimzadeh, M.A., Khalili, M., Jafari N., Zareh G., Farzin D., Amin G., 2018. Antihypoxic activities of *Crataegus pentaegyn* and *Crataegus microphylla* fruits-an in vivo assay. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54(2),17363
- Edwards, J.E., Brown, P.N., Talent, N., Dickinson, T.A., Shipley, P.R., 2012. A Review of the Chemistry of the Genus *Crataegus*. *Phytochemistry* 79, 5–26.
- Entani, E., Asai, M., Tsujihata, S., Tsukamoto, Y., Ohta, M., 1998. Antibacterial action of vinegar against food-borne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* O157 : H7. *Journal of Food Protection*, 61 (8), 953-959.
- Escudero, M.E., Velazquez, L., Di Genaro, M.S., Guzman, M.S., 1999. Effectiveness of various disinfectants in the elimination of *Yersinia enterocolitica* on fresh lettuce. *Journal of Food Protection*, 62,665–9.
- European Food Safety Authority, 2011. Scientific opinion on the evaluation of the safety and efficacy of lactic acid for the removal of microbial surface contamination of beef carcasses, cuts and trimmings. *EFSA Journal*. 9 (7), 2317.
- Fang, T.J., Hsueh, Y.T., 2000. Effect of chelators, organic acid and storage temperature on growth of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef treated with nisin, using response surface methodology. *Journal of Food and Drug Analysis* 8,187–94.
- Fernandes, A.C.F., de Souza A.C., Ramos, C.L., Aline A Pereira, Schwana, R.F., Dias D. R., 2019. Sensorial, antioxidant and antimicrobial evaluation of vinegars from surplus of *Physalis* (*Physalis pubescens* L.) and red pitahaya (*Hylocereus monacanthus*). *Journal of Science Food Agriculture* 99, 2267–2274.
- Frankel, E.N., Huang, S.W., Kanner, J., German, J.B., 1994. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: Bulk oils vs emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1054-1059.
- Fregapane, G., Rubio-Hernandez, H., Nieto, J., Salvador, M.D., 1999. Wine vinegar production using a non commercial 100-litre bubble column reactor

equipped with a novel type of dynamic sparger. *Biotechnology and Bioengineering*, 63 (2), 141–146.

González-Jiménez F., E., Salazar-Montoya J., A., Calva-Calva G., Ramos-Ramírez E.G., 2018. Phytochemical Characterization, In Vitro Antioxidant Activity, and Quantitative Analysis by Micellar Electrokinetic Chromatography of Hawthorn (*Crataegus pubescens*) Fruit. *Journal of Food Quality*, 11.

Gülmez, M., Duman, B., Oral, N., Vatansever, L., Sezer, Ç., 2006. Satış Yerlerinden Alınan Maydanoz Örneklerinin Kekik Suyu ve Sirke İle Dekontaminasyonu. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 12(1), 41-47.

Halliwel, B., 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, 16, 33–50.

He, G., Sui, J., Du, J., Lin, J. 2013. Characteristics and antioxidant capacities of five hawthorn wines fermented by different wine yeasts. *Journal of the Institute of Brewing*, 119(4), 321–327.

Horiuchi J., Tada K., Kobayashi M., Kanno T., Ebie K., 2004. Biological approach for effective utilization of worthless onions vinegar production and composting. *Resour Conserv Recy*??? 40,97–109.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Prior, R., 2002. High-throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4437-4444.

Huescas, C.G.Y., Pereira R.I., Prichulab, J., Azevedob P.A., Frazzonc J. and Frazzona A.P.G., 2019. *Brazilian Journal of Biology* 79(3), 460-465

Ishihara, S., Inaoka, T., Nakamura, T., Kimura, K., Sekiyama Y., Tomita, S., 2018. Nuclear magnetic resonance- and gas chromatography/mass spectrometry-based metabolomic characterization of water-soluble and volatile compound profiles in cabbage vinegar. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126 (1), 53-62.

Johnston, C.S., 2006. Vinegar: medicinal uses and antiglycemic effect. *Medscape General Medicine*, 8(2), 61.

Jurikova, T., Sochor, J., Rop, O., Mlcek, J., Balla, S., Szekeres, L., 2012. Polyphenolic Profile and Biological Activity of Chinese Hawthorn (*Crataegus Pinnatifida* BUNGE) Fruits. *Molecules*, 17(12), 14490–14509.

Kadaş, Z., 2011. Alıç Sirkesinin Biyoaktif Özelliklerinin ve Metabolik Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu.

- Kashyap, C.P., Arya, V., Thakur, N., 2012. Ethnomedicinal and Phytopharmacological Potential of *Crataegus Oxyacantha* Linn. A Review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2 (2),1194–9.
- Kaul, R. Der Weißdorn. 1998. Botanik, Inhaltsstoffe, Qualitätskontrolle, Pharmakologie, Toxikologie und Klinik. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart 170, 9.
- Kim, H.O., Park, S.W., Park, H.D., 2004. Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. *Food Microbiology*, 21, 105-110.
- Konan, M.K., Koffi E.N. , Cisse I. , Adima A.A. , Bekro Y.A., 2016. Phytochemical, nutritional and antioxidant capacity of five Ivorian edible leaves aqueous extracts *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(9),082-086.
- Kumar, D., Arya, V., Bhat, Z.A., Khan, N.A., Prasad, D.N., 2012. The Genus *Crataegus*: Chemical and Pharmacological Perspectives. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 22(5), 1187–1200.
- Kültür, Ş., 2007. Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey),. *Journal of Ethnopharmacology*, 111, 341-36.
- Laranjo, M., Potes, ME., Gomes, A., Vestia, J., Garcia, R., Fernandes, MJ., Fraqueza, MJ., Elias, M., 2019. Shelf-life extension and quality improvement of a Portuguese traditional ready-to-eat meat product with vinegar *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 132–140.
- Lebreton, A., Lakisic, G., Job, V., Fritsch, L., Nahori, M.A., Gautreau, A., Ait-Si-Ali, S., Dessen, A. , Cossart, P., Bierne, H., 2014. A direct interaction between the bacterial nucleomodulin LntA and the chromatin repressor BAHD1 modulates interferon responses to infection. *Febs Journal* 281, 726-727.
- Lee, K.W., Kim, Y.J., Kim, D.-O., Lee, H.J., Lee, C.Y., 2003. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6516–6520.
- Li J., Yu G., Fan J., 2014. Alditols and monosaccharides from sorghum vinegar can attenuate platelet aggregation by inhibiting cyclooxygenase-1 and thromboxane-A2 synthase. *J Ethnopharmacol.* 155, 285–92.
- Li, Y., Zhang, J.J., Xu, D.P., Zhou, T., Zhou, Y., Li, S., Li H.B., 2016. Bioactivities and health benefits of wild fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 8.
- Liu, L., Chen, Y., Luo, Q., Xu, N., Zhou, M.Z., Gao, B., Wang, C., Shi, Y., 2018. Fermenting liquid vinegar with higher taste, flavor and healthy value by

using discarded *Cordyceps militaris* solid culture medium. *Lwt-Food Science and Technology*, 98, 654-660.

- Liu, S., Chang, X., Liu, X., Shen, Z., 2016. Effects of pretreatments on anthocyanin composition, phenolics contents and antioxidant capacities during fermentation of hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) drink. *Food Chemistry*, 212, 87-95.
- Liu, P. Z., Kallio, H., Lu, D., Zhou, C. S., Yao, B. 2011. Quantitative analysis of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits by high performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *Food Chemistry*, 127, 1370-1377
- Liu, F., He, Y., Wang, Li. 2008. Determination of effective wavelengths for discrimination of fruit vinegars using near infrared spectroscopy and multivariate. *Analysis analytica chimica acta*, 615, 10-17.
- Ljubuncic, P., Partnaya, I., Cogan, U., Azaizeh H., Bomzon, A., 2005. Antioxidant activity of *Crataegus aronia* aqueous extract used traditional Arab medicine in Israel. *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 153-161.
- López-Froilán, R., Hernández-Ledesma, B., Cámara, B., Pérez-Rodríguez, M., 2018. Evaluation of the Antioxidant Potential of Mixed Fruit-Based Beverages: a New Insight on the Folin-Ciocalteu Method, *Food Analytical Methods*. 11(10), 2897-2906.
- MacDonald, A.M., Jardine, C.M., Susta, E., Slavic, D., Nemeth, N.M., 2018. Survey for Bacteria and Antimicrobial Resistance in Wild Turkeys (*Meleagris gallopavo*) in Ontario, Canada. *Avian Diseases*, 62, 2.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Billot, J., 1990. *Fruit Phenolics*. CRC, Boca Raton, FL, 1-25.
- Mann, C.M., Markham, J.L., 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 538-544.
- Marangoz, F.İ., 2016 *Sirke Üretim Prosesinin Karadut Meyvesinin Bioaktif Bileşenleri ve Antioksidan Özelliklerine Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Masino, F., Chinnici, F., Bendini, A., Montevecchi, G., Antonelli, A.A., 2008. Study on relationships among chemical, physical, and qualitative assessment in traditional balsamic vinegar. *Food Chemistry*, 106, 90-95.
- Mazza, S., Murooka, Y., 2009. Vinegar through the age. In: Solieri L, Giudici P, editors. *Vinegars of the world*. Milan: Springer-Verlag, 17-39.

- Medina E, Romero C, Brenes M and de Castro A, 2007. Antimicrobial activity of olive oil, vinegar, and various beverages against foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, 70,1194–1199.
- Meriçli, A. H., Ergezen, K. 1994. Flavonoids of *Crataegus tanacetifolia* (Lam.) Pers. (Rosaceae) an endemic species from Turkey, *Scientia Pharmaceutica*, 62, 277-281.
- Mohamad, N.E., Yeap, S.K., Lim, K.L., Yusof, H.M., Beh, B.K., Tan, S.W., Ho, W.Y., Sharifuddin, S.A., Jamluddin, A., Long, K., Rahman, N., Alitheen N.B.; 2015. Antioxidant effects of pineapple vinegar in reversing of paracetamolinduced liver damage in mice. *Chinese Medicine* 10, 1–14.
- Moreno-Montoro, M., Olalla-Herrera, M., Gimenez-Martinez, R., 2015. Phenolic compounds and antioxidant activity of Spanish commercial grape juices. *Journal Food Composition and Analysis*, 38, 19–26.
- Moreira, D.P., Monteiro, M.C., Ribeiro-Alves, M., Donangelo, C.M., Trugo, L.C., 2005. Contribution of chlorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1399–1402.
- Mraihi, F., Hidalgo, M., De Pascual-Teresa, S., Trabelsi-Ayadi, M., Chérif, J.K., 2014. Wild Grown Red and Yellow Hawthorn Fruits from Tunisia as Source of Antioxidants. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(4), 570–578.
- Natić M., Pavlović A., Lo Bosco, F., Stanisavljević N., Zagorac, D.D., Akšić, M.F., Papetti, A., 2019. Nutraceutical properties and phytochemical characterization of wild Serbian fruits. *European Food Research and Technology*, 45,469–478.
- Newell, D.G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threfall, J., Scheutz, F., 2010. Food-borne diseases - The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*, 139 (1), 3-15.
- Ojansivu. I., Ferreirab. C.L., Salminen, S.Y., 2011. A new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends of Food Science Technology*, 22,40–46.
- Orak, H.H., 2007. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Scientia Horticulturae*, 111(3), 235–241.
- Özen, M., 2018. Yüksek Lisans Tezi, Vişne Sirkesi Üretim Aşamalarında Antioksidan ve Bioaktif Bileşenlerinin Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.

- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi M., Brighenti, F., 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The American Society for Nutritional Sciences Journal of Nutrition*, 133, 2812-2819.
- Pellegrini, N., Simonetti, P., Brenna, O., Brighenti, F., Pietta, P., 2000. Polyphenol content and total antioxidant activity of Vini Novelli (Young RedWines). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 732-735.
- Pieniz, S., Andreazza, R., Okeke, B.C., Camargo, F.A.O., Brandelli, A., 2015. Antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus* species isolated from meat and dairy products. *Brazilian Journal of Biology*, 75 (4), 923-931.
- Pittler, M.H., Guo, R., Ernst, E., 2008. Hawthorn Extract for Treating Chronic Heart Failure. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1, 5312.
- Plessi, M., Bertelli, D., Miglietta, F., 2006. Extraction and identification by GC-MS of phenolic acids in traditional balsamic vinegar from Modena. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 49-54.
- Poonlapdecha, W., Seetang-Nun, Y., Wonglumsom, W., Tuitemwong, K., Erickson, L.E., Hansen, R.R., Tuitemwong, P., 2018. Antibody-conjugated ferromagnetic nanoparticles with lateral flow test strip assay for rapid detection of *Campylobacter jejuni* in poultry samples. *International Journal of Food Microbiology*, 286, 6-14.
- Prichula, J., Pereira, R.I., Wachholz, G.R., Cardoso, L.A., Tolfo, N.C.C., Santestevan, N.A., Medeiros, A.W., Tavares, M., Frazzon, J., d'Azevedo, P.A., 2016. Resistance to antimicrobial agents among enterococci isolated from fecal samples of wild marine species in the southern coast of Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 105 (1), 51-57.
- Prior R.L., Cao, G.H., 2000. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: A review. *Journal of AOAC International*, 83 (4), 950-956.
- Rauha, J.P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahkonen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., Vuorela, P., 2000. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56(1), 3-12.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice- Evans, C.A., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Roginsky, V., Lissi, E.A., 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92, 235-254.

- Rutala, W.A., Barbee, S.L., Aguiar, N.C., Sobsey, M.D., Weber, D.J., 2000. Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 21 (1), 33-38.
- Ryu, J.H., Beuchat, L.R., 1999. Changes in heat tolerance of *Escherichia coli* O157:H7 after exposure to acidic environments. *Food Microbiology*, 16 (3), 317-324.
- Sanchez-Moreno, C., Cao, G., Qu, B., Prior, R.L., 2003. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4889-4896.
- Santestevan, N., Zvoboda, D.D., Prichula, J., Pereira, R.I., Wachholz, G.R., Cardoso, L.A., de Moura, T.M., Medeiros, A., de Amorim, D.B., Tavares, M., 2015. Antimicrobial resistance and virulence factor gene profiles of *Enterococcus* spp. isolates from wild *Arctocephalus australis* (South American fur seal) and *Arctocephalus tropicalis* (Subantarctic fur seal). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31 (12), 1935-1946.
- Saura-Calixto, F., Goñi, I., 2006. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry* 94, 442-447.
- Schlesier, K., Harwat, M., Bohm, V., Bitsch, R., 2002. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Research*, 36, 177-187.
- Scrinis, G., 2008. Functional foods or functionally marketed foods? A critique of, and alternative to, the category of 'functional foods'. *Public Health Nutrition*, 11, 541-545.
- Seeram, N.P., Aviram, M., Zhang, Y., Henning, S.M., Feng, L., Dreher, M., Heber, D., 2008. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 56, 1415-1422.
- Seeram N.P., Adams L., Henning, S., 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagins, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *Journal of Nutrition Biochemical*, 16, 360-367.
- Sengun, I.Y., Karapinar, M., 2004. Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in the elimination of *Salmonella typhimurium* on carrots (*Daucus carota* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 96, 301-5.

- Seydim, A.C., Güzel-Seydim, Z.B., Kumbul Doguc, D., Savas, C.M., Budak, H.N. 2011. Effects of grape wine and apple cider vinegar on oxidative and antioxidative status in high cholesterol-fed rats. *Functional Foods in Health and Disease* 2016, 6(9), 569-577.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., 2001. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia, *Journal of Ethnopharmacology*. 75, 95-115.
- Singh, S., Singh R.P., 2008. In Vitro Methods of Assay of Antioksidfants: An Overview. *Fond Reviews International*, 24, 392-415.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. *Methods in Enzymology*, 299,152-178.
- Singleton, V.L., Esau, P., 1969. Phenolic Substances in Grapes and Their Significance. Academic Press Inc., 282s, U.S.A.
- Sixt, M., Strube, J., 2018. Systematic Design and Evaluation of an Extraction Process for Traditionally Used Herbal Medicine on the Example of Hawthorn (*Crataegus monogyna* JACQ.) *MDPI Processes*, 6, 73.
- Stratakos, A.C., Grant I.R., 2018.Evaluation of the efficacy of multiple physical, biological and natural antimicrobial interventions for control of pathogenic *Escherichia coli* on beef. *Food Microbiology* 76, 209–218.
- Sugihara, N., Arakawa, T., Ohnishi, M., Furuno, K., 1999. Anti- and pro-oxidative effects of flavonoids on metal-induced lipid hydroperoxide-dependent lipid peroxidation in cultured hepatocytes loaded with alpha-linolenic acid. *Free Radical Biology Medical*, 27 (11-12), 1313-1323.
- Tan, S.C., 2005. Vinegar Fermentation. a Thesis of Master. University of Lousiana, Department of Food Science, 123.
- Tassell, M., Kingston, R.; Gilroy, D., Lehane, M., 2010. Hawthorn, F.A. (*Crataegus* Spp.). *Pharmacognosy Review* 4(7), 32–41.
- Tesfaye, W., Morales, M.L., Garca-Parrilla, M.C., Troncoso, A.M., 2002. Wine vinegar: technology,authenticity and quality evaluation. *Trends in Food Science and Technology*, 13 (1), 12-21.
- Türker, İ. 1963. Sirke teknolojisi ve teknikte laktik asit fermentasyonları. Ankara üniversitesi, Ziraat fakültesi ders kitabı, Ankara Üniversitesi Basımevi, 181s, Ankara.
- TSE, Sirke – Tarım Kökenli Sıvılardan Elde Edilen Ürün TS 1880 EN 13188.

- Wan, H.C., Sultana B., Nigam, P.S., Owusu-Apenten, R., 2018. Comparison of Iron (III) Reducing Antioxidant Capacity (iRAC) and ABTS Radical Quenching Assays for Estimating Antioxidant Activity of Pomegranate. *Beverages*, 4, 58.
- Wang, J., Wang, J., Ye, J.H., Vanga, S.K., Raghavan, V., 2019 Influence of high-intensity ultrasound on bioactive compounds of strawberry juice: Profiles of ascorbic acid, phenolics, antioxidant activity and microstructure. *Food Control*, 96, 128-136.
- Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Prior, R.L., 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (12), 4026-37.
- Wu, C. Duckett, S.K., Neel, J.P.S., Fontenot, J.P., Clapham, W.M., 2008. Influence of finishing systems on hydrophilic and lipophilic oxygen radical absorbance capacity (ORAC) in beef. *Meat Science* 80, 662–667.
- Xu W., Xu Q., Chen J., Lu Z., Xia R., Li G., 2011. Ligustrazine formation in zhenjiang aromatic vinegar: Changes during fermentation and storing process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (9), 1612-1617.
- Yang, B., Liu, P., 2012. Composition and Health Effects of Phenolic Compounds in Hawthorn (*Crataegus* Spp.) of different origins. *Journal of Science of Food and Agriculture* 92(8), 1578–1590.
- Yeşilada, E. Üstün, O. Sezik, E., Takaishi, Y., Ono, Y., Honda, G., 1997. Inhibitory effects of Turkish folk remedies on inflammatory cytokines: interleukin-1 α , interleukin-1 β and tumor necrosis factor α , *Journal of Ethnopharmacology*. 58, 59-73.
- Yoo, K.M., Al-Farsi, M., Lee, H., Yoon, H., Lee, C.Y., 2010. Antiproliferative effects of cherry juice and wine in Chinese hamster lung fibroblast cells and their phenolic constituents and antioxidant activities, 123 (3), 734-740.
- Zendehbad, B., Khayatzaheh, J., Alipour, A., 2015. Prevalence, seasonality and antibiotic susceptibility of *Campylobacter* spp. isolates of retail broiler meat in Iran. *Food Control*, 53, 41–45.
- Zhang, Y., Geng, L., Geng, Y. 2014. Hawthorn fruit attenuates atherosclerosis by improving the hypolipidemic and antioxidant activities in apolipoprotein E-deficient mice. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 21, 119–128.
- Zheng, Y., Liu, H., Zhang, K., Wang, M. 2010a. Headspace Solid-Phase Microextraction Analysis of Volatile Compounds in Hawthorn Vinegars

Fermented by two Strains of *Acetobacter* 2010 3rd International Conference on Biomedical Engineering and Informatics, 2057-2061.

Zheng, Y., Zhang, K., Wang, C., Liu, H., Luo, J., Wang, M., 2010b. Improving acetic acid production of *Acetobacter pasteurianus* AC2005 in hawthorn vinegar fermentation by using beer for seed culture. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 2394–2399.

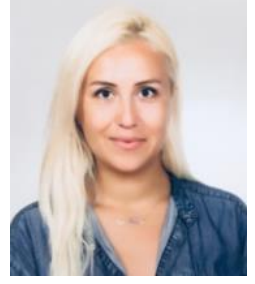
Zhu, M.T., Huang, Y.S., Wang, Y.L., Shi, T, Zhang, L.L., Chen, Y., Xie, M.Y., 2019. Comparison of (poly)phenolic compounds and antioxidant properties of pomace extracts from kiwi and grape juice. *Food Chemistry*, 271, 425-432.

Zulueta, A., Esteve, M.J., Frígola, A., 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114, 310–316.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gülce Buket ÖZDEMİR
Doğum Yeri ve Yılı : Burdur, 1989
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce, İtalyanca
E-posta : gulcebuketozdemir@hotmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Burdur Anadolu Öğretmen Lisesi, 2008
Lisans : MKÜ, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
AÜ, İktisadi İdari Bilimler Fakültesi, İşletme

Mesleki Deneyim

Hastel Gıda	2012-2013
Mexel Industries	2014-2015
ISS Hazır Yemek	2015-Halen