

Dut Sirkesinin Mikrobiyolojik, Fiziksel, Kimyasal, Antiradikal ve Antimikrobiyal Özellikleri

İlkin Yücel Şengün  , Gülden Kılıç 

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 12.04.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 25.07.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ilkin.sengun@ege.edu.tr (İ. Y. Şengün)

☎ 0 232 311 30 28 📠 0 232 342 75 92

ÖZ

Bu çalışmada farklı yöntemlerle üretilen dut sirkelerinin (ev yapımı ve ticari) mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal, antiradikal ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla örneklerde asetik asit bakterisi, laktik asit bakterisi, küf-maya, pH, toplam asitlik, briks, renk, toplam fenolik madde ve antiradikal aktivite analizleri yapılmıştır. Geleneksel yöntemlerle ev koşullarında üretilen sirkenin asetik asit ve laktik asit bakterisi sayıları, ticari sirkeye kıyasla daha yüksek, küf-maya sayıları ise daha düşük bulunmuştur. Ev yapımı dut sirkesinde pH, toplam asitlik ve briks değerleri sırasıyla 2.87, %4.07 ve 5.60 iken ticari sirkede bu değerler sırasıyla 3.30, %4.64 ve 3.50 olarak tespit edilmiştir. Sirke örnekleri renk özellikleri (CIE L^* , a^* , b^*) açısından da değerlendirilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı ev yapımı sirkede 557.5 mg GAE/L ve ticari sirkede 523 mg GAE/L olarak belirlenmiştir. DPPH serbest radikali giderme aktivitesi, örneklerin toplam fenolik madde miktarı ile pozitif korelasyon göstermiştir. Geleneksel ev yapımı dut sirkesine karşı en hassas mikroorganizmanın *E. faecalis* ve *E. coli* O157:H7 (10.5 mm) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *L. monocytogenes*'in (13.5 mm) ticari dut sirkesine karşı en hassas mikroorganizma olduğu, ancak ev yapımı sirkenin bu bakteri üzerine antimikrobiyal etki göstermediği belirlenmiştir. Ticari dut sirkesi tüm test bakterileri üzerine antimikrobiyal aktivite göstermiş, ev yapımı sirke örneği ise incelenen sekiz bakteri kültüründen sadece beşi üzerinde (*E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *P. acidilactici*) etki gösterebilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Dut sirkesi, Kalite, Toplam fenolik madde, Antiradikal, Antimikrobiyal

Microbiological, Physical, Chemical, Antiradical and Antimicrobial Properties of Mulberry Vinegar

ABSTRACT

In this study, the microbiological, physical, chemical, antiradical and antimicrobial properties of mulberry vinegar produced by different techniques (homemade and commercial) were determined. For this purpose, acetic acid bacteria, lactic acid bacteria, mold-yeast, pH, total acidity, brix, color, total phenolic content and antiradical activity analyses were performed. The numbers of acetic acid and lactic acid bacteria in the traditional homemade vinegar were found higher than commercial vinegar, while the counts of yeast-mount were lower in homemade vinegar. pH, total acidity and brix values in homemade mulberry vinegar were 2.87, %4.07 and 5.60, respectively, while these values were 3.30, %4.64 and 3.50 in commercial vinegar. Color properties (L^* , a^* , b^*) of vinegar samples were also investigated. Total phenolic content was 557.5 mg GAE/L in homemade vinegar and 523 mg GAE/L in commercial vinegar. The DPPH free radical scavenging activity had positive correlation with the total phenolic content of samples. The most sensitive bacteria to the traditional homemade mulberry vinegar were determined as *E. faecalis* and *E. coli* O157:H7 (10.5 mm). Furthermore, *L. monocytogenes* (13.5 mm) was the most sensitive microorganism to the commercial mulberry vinegar, but homemade vinegar did not show antimicrobial effect against this bacteria. The

commercial vinegar had antimicrobial activity against all test bacteria while homemade vinegar sample was shown to effect only five of the eight bacteria (*E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *P. acidilactic*).

Keywords: Mulberry vinegar, Quality, Total phenolic content, Antiradical, Antimicrobial

GİRİŞ

Sirke, karbonhidrat içeren çeşitli hammaddelerden mayalar ve asetik asit bakterileri aracılığıyla üretilen özel bir üründür. Gıdalarda aroma verici ve koruyucu olarak yaygın şekilde kullanılan sirke aynı zamanda çeşitli hastalıkların tedavisinde de çok eski dönemlerden bu yana geleneksel olarak kullanılan bir üründür. Sirkenin, içeriğinde bulunan çeşitli fenolik bileşikler, aminoasitler, vitaminler, organik asitler ve melanoidinler sayesinde, başta antimikrobiyal, antioksidan, antidiyabetik ve antikarsinogenik etkiler olmak üzere sağlık üzerine yararlı birçok etkileri bulunmaktadır [1].

Sirke üretimi sırasında asetik asit bakterileri tarafından üretilen ve sirkenin temel duyuşsal özelliğini oluşturan asetik asit, %0.5 konsantrasyonda birçok mikroorganizma üzerine antimikrobiyal etki gösterebilmekte ve bu nedenle çeşitli ekipmanların ve gıda hazırlama yüzeylerinin dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır [2]. Sebzelerde bulunan bazı patojenlerin inhibisyonunda da sirkeli su uygulamasının etkili olduğu bildirilmektedir [3-8]. Yapılan çalışmalar sirkenin *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* gibi gıda kaynaklı mikroorganizmalar ile *Micrococcus catarrhalis*, *Staphylococcus albus*, *Diplococcus pneumonia* ve *Alpha streptococcus* gibi solunum yolu patojenleri üzerine antimikrobiyal etkisi olduğunu ortaya koymuştur [9, 10].

Üretim sırasında kullanılan hammaddeye bağlı olarak sirkeler, tahıl ve meyve sirkeleri olarak gruplandırılmaktadır [11]. Meyve sirkeleri üretiminde yaygın olarak üzüm ve elma kullanılmasına karşın yöresel olarak hindistancevizi (Güneydoğu Asya), çilek (İspanya), erik (Japonya), vişne (Avrupa, USA), incir (Türkiye), hurma (Orta Doğu), cennet hurması (persimmon) (Japonya, Güney Kore) gibi farklı meyveler de sirke üretiminde kullanılabilir [12]. Meyveler önemli miktarda fenolik bileşikler içermekte olup bu bileşikler meyve varyete veya cinsinden, yetiştirildiği iklim koşullarından, olgunluk düzeyinden, meyvenin büyüklüğünden veya meyvenin ürüne işlenmesi sırasında uygulanan sıcaklık, oksijen ya da ışık varlığından etkilenmektedir [13]. Türkiye'de yaygın olarak yetişen meyvelerden biri olan dut (*Morus alba*), ülkemizde geleneksel olarak dut suyu, pekmez, pestil, reçel, dut ezmesi, cevizli sucuk, meyve suyu konsantresi ve sirke gibi ürünlere işlenmektedir [14, 15]. Dut sirkeleri geleneksel olarak üretilen sirke çeşitlerinden olup yaygın olmamakla birlikte endüstriyel olarak da üretilmektedir. Dut sirkelerinin fenolik maddeler açısından önemli bir kaynak olduğu, antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelinin bulunduğu bildirilmektedir [16, 17].

Son yıllarda sağlık üzerine etkileri ile dikkat çeken sirkenin tüketimine yönelik artış olduğu gözlemlenmektedir. Sirke üretimi sırasında kullanılan yöntemlerin sirke içerisindeki biyoaktif bileşenleri etkilediği, geleneksel yöntemlerle üretilen sirkelerin, fonksiyonel özelliklerinin, endüstriyel sirkelere kıyasla daha fazla olabileceği bildirilmektedir [1, 18]. Kullanılan hammaddeye ve üretim yöntemine bağlı olarak değişim gösteren fenolik maddeler, sirkenin antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelini etkilemektedir [1]. Yapılan çalışmaların birçoğunda üzüm ve elma sirkelerinin incelendiği, bununla birlikte geleneksel olarak üretilen farklı sirkelerin özelliklerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunduğu görülmektedir (2, 7, 8, 16, 17, 19, 20).

Bu çalışmada, farklı yöntemlerle (ev yapımı ve ticari) üretilen dut sirkelerinin bazı mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal özelliklerinin yanı sıra antimikrobiyal ve antiradikal özelliklerini de incelemek amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada materyal olarak geleneksel yöntemlerle evde üretilen dut sirkeleri (Kars, Türkiye) ve ticari olarak üretilen yapıp satışı sunulan dut sirkeleri (Yedier, Türkiye) kullanılmıştır. Ticari dut sirkeleri örneği doğal fermantasyonla katkısız olarak üretilmiş ve pastörizasyon işlemi uygulanmadan şişelenerek satışı sunulmuştur. Her iki sirke örneği de analiz öncesinde soğuk koşullarda muhafaza edilmiştir.

Metot

Mikrobiyolojik Analizler

Sirke örneklerinde asetik asit bakterisi sayımı amacıyla uygun dilüsyonlardan Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate Agar (GYC, %10 glucose, %1 yeast extract, %2 calcium carbonate, %1.5 agar, pH 6.8±0.2) besiyerine yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petripler 30°C'de 5-10 gün inkübe edilmiştir [21].

Laktik asit bakterisi sayımı için uygun dilüsyonlardan Man Rogosa and Sharp Agar (MRS, pH 6.2±0.2, Oxoid) besiyerine dökme plak yöntemine göre çift katlı ekim yapılmış ve petripler 30°C'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır [22, 23].

Küf ve maya sayımı amacıyla uygun dilüsyonlardan %10'luk tartarik asit (Merck) ile asitlendirilmiş Potato Dextrose Agar (PDA, pH 5.6±0.2, Oxoid) besiyerine dökme plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petripler 25°C'de 3-5 gün inkübe edilmiştir [24].

Kimyasal Analizler

Sirke örneklerinin pH değerleri pH metre (Nel Mod 821) kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerin toplam asitlik değerleri titrimetrik metot kullanılarak belirlenmiş, sonuçlar yüzde asetik asit cinsinden hesaplanmıştır [25]. Uçmayan asit miktarı, sirke örneklerinde mevcut bulunan uçur asidin, destilasyon yöntemiyle uçurulmasından sonra kalan asidin titrimetrik olarak belirlenmesi ile saptanmıştır. Uçur asit miktarı, toplam asit miktarından, uçmayan asit miktarı çıkarılarak hesaplanmıştır [25]. Suda çözünür kuru madde (briks) değerleri refraktometrik yöntem ile saptanmıştır [26]. Kül tayini 525°C'de kül fırınında yapılmış, sonuçlar g/L olarak verilmiştir [27].

Renk Analizi

Sirke örneklerinde renk özelliklerini belirlemek amacıyla HunterLab Colorflex (Management Company, USA) renk ölçüm cihazı kullanılmıştır. Örneklerin CIE L*, a*, b* değerleri, cihazın beyaz ve siyah standart levhaları ile kalibre edilmesinin ardından ölçülmüştür [28].

Toplam Fenolik Madde

Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir [26]. 75 mL saf su, 1 mL sirke örneğiyle karıştırılmış ve karışıma 5 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi (%10) eklenip oda sıcaklığında 3 dakika bekletilmiştir. Daha sonra hazırlanan karışıma 10 mL doymuş Na₂CO₃ (75 g/L) çözeltisi eklenerek karışım saf su ile 100 mL'ye tamamlanmış ve oda sıcaklığında, karanlıkta 90 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) 720 nm dalga boyunda şahide karşı okuma yapılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (mg GAE/L) olarak ifade edilmiştir.

DPPH Analizi

Singh ve arkadaşlarının [29] belirlediği DPPH yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Filtreden geçirilmiş 0.1 mL sirke örneği ile 5 mL 0.1 mM DPPH çözeltisi vortekle karıştırılmış, elde edilen karışım karanlıkta, oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Okumalar çift ışık yollu spektrofotometrede (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) 517 nm dalga boyunda yapılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilen formülle hesaplanarak yüzde absorpsiyon olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Abs (\%)} = (A_k - A_0) \times 100 / A_k$$

A_k: kontrol absorpsiyon değeri; A₀: örnek absorpsiyon değeri

Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Sirke örneklerinin antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde Deng ve arkadaşlarının [30] uyguladığı disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Çalışmada test kültürü olarak *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Listeria monocytogenes* Scott A, *Salmonella* Typhimurium NRRLB4420 ve

Staphylococcus aureus 6538P gibi önemli gıda kaynaklı patojenlerin yanı sıra, gıda mikrobiyolojisi açısından önemli diğer grupları da temsil etmek üzere *Bacillus subtilis* ATCC 6037, *Escherichia coli* ATCC 1103, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 kullanılmıştır. Bakteri kültürleri Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir. Stok kültürlerin aktivasyonu amacıyla kültürler Mueller-Hinton Broth (MHB, pH 7.3±0.2, Oxoid) besiyerine transfer edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Kültürlerin yoğunluğu DEN-1 Mc Farland Densitometer (Grant-bio) cihazında, Mc Farland standart bulanıklık derecesine göre 0.5 olacak şekilde ayarlandıktan sonra analizde kullanılmıştır.

Aktive edilen bakteri kültürleri Muller Hilton Agar besiyerine yayma plak yöntemine göre ekilmiş ve inokulumun besiyeri tarafından absorbe edilmesi için 20 dakika bekletilmiştir. Sirke örnekleri, 0.2 µm'lik filtreden (Minisart Syringe Filter, Cellulose Acetate, Sartorius Stedim Biotech) geçirildikten sonra 6 mm çapındaki steril boş disklerle (Oxoid) 20 µL olacak şekilde emdirilmiştir. Yüzeyi test mikroorganizmaları ile inokule edilmiş besiyerlerinin üzerine sirke emdirilmiş diskler birbirleriyle aralıkları en az 24 mm, petri kenarına uzaklığı 18 mm olacak şekilde yerleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak ampisilin (AMP, 10 µg/disk, Oxoid) ve gentamisin (CN, 10 µg/disk, Oxoid) diskleri, negatif kontrol olarak steril su emdirilmiş diskler kullanılmıştır. Ekim yapılan petri 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür.

İstatistiksel Değerlendirme

Denemeler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, SPSS 15.0.1 [31] paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklar Duncan's Multiple Range ve Paired Samples T testleri ile p<0.05 önem seviyesinde tespit edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Sirke örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. Ev yapımı sirke örneğinde asetik asit bakterisi sayısı 2.84 log kob/mL iken ticari sirke örneğinde bu sayı 1.65 log kob/mL olarak tespit edilmiştir (p>0.05). Benzer şekilde ev sirkesinin laktik asit bakterisi sayısı (3.17 log kob/mL) ticari sirke örneğine kıyasla daha yüksek (1.03 log kob/mL) bulunmuştur (p<0.05). Bununla birlikte ev sirkesi ve ticari sirke örnekleri için küf-maya sayıları sırasıyla 1.32 ve 1.47 log kob/mL olarak tespit edilmiştir (p>0.05). Bizim bilgilerimize göre literatürde dut sirkesinin mikrobiyolojik özelliklerinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte, geleneksel ve endüstriyel olarak üretilen farklı sirke çeşitlerinin mikrobiyolojik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, geleneksel olarak üretilen sirkelerde asetik asit bakterisi, laktik asit bakterisi ve küf-maya sayılarının endüstriyel sirkelere kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir [19]. Elde edilen sonuçlar, üretimde kullanılan yöntem ve

uygulamaların, sirkelerin mikrobiyolojik kalitesini etkilediğini ortaya koymaktadır. Sirkede meydana gelen bozulmalar, genellikle sirkede küf ve maya gibi istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesi sonucunda, ortam asitlik değerinin düşmesi neticesinde gerçekleşmektedir [32]. Günümüzde piyasaya sunulan sirkeler genellikle pastörize edilmektedir. Şişeleme öncesinde sirkede meydana gelebilecek herhangi bir bozulmayı önlemek ve özellikle de asetik asit

bakterilerinin aşırı gelişimi engellemek amacı ile uygulanan pastörizasyon işlemi genellikle plakalı ısı değiştiricilerde 65-85°C'lerde uygulanmakta, bununla birlikte şişelenmiş ürünün 60°C'de pastörizasyonu veya membran filtrasyon uygulamaları ile soğuk sterilizasyon da kullanılabilir. Pastörizasyon işlemi ile mikrobiyal bozulmaların yanı sıra şişeleme sonrasında oluşabilecek mikrobiyal kaynaklı olmayan bulanıklıklar da engellenebilmektedir [32, 33].

Tablo 1. Dut sirkelerinin mikrobiyolojik özellikleri

	Ev Sirkesi (log kob/mL)	Ticari Sirke (log kob/mL)
AAB Sayısı	2.84±0.08 ^a	1.65±0.06 ^a
LAB Sayısı	3.17±0.04 ^a	1.03±0.11 ^b
Küf-Maya Sayısı	1.32±0.07 ^a	1.47±0.02 ^a

AAB: Asetik asit bakterisi, LAB: Laktik asit bakterisi. Aynı satırda yer alan farklı harfler (a, b) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Ev yapımı dut sirkesinde toplam asitlik (asetik asit cinsinden) ve pH değerleri sırasıyla %4.07 ve 2.87 iken ticari sirkede bu değerler sırasıyla %4.64 ve 3.30 olarak tespit edilmiştir. Uçar ve uçmayan asitlik değerleri ev sirkesinde sırasıyla %2.24 ve %1.83 iken ticari sirke örneğinde %3.81 ve %0.83 olarak belirlenmiştir (p<0.05). Bununla birlikte ev yapımı sirke örneğinin kül miktarı ve briks değeri, ticari sirkeye kıyasla daha yüksek bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 2). Kül miktarının üzüm sirkelerinde 0.74-3.56 g/L arasında [34], geleneksel yöntemlerle üretilen incir sirkelerinde ise 1.11-5.60 g/L [20] olduğu bildirilmiştir. Budak [16] tarafından yapılan bir çalışmada, dut sirkesinin toplam asitlik (asetik asit cinsinden), pH ve briks değerleri sırasıyla %5.72, 3.08 ve 3.10 olarak tespit edilmiştir. Üzüm sirkelerinde uçar asit ve uçmayan asit miktarlarının sırasıyla, 3.56 ile 5.21 g asetik asit/100 mL ve 0.07 ile 0.45 g asetik asit/100 mL arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir [34]. Meyve sirkelerinde pH değerinin 2.36-3.73 aralığında değişim gösterdiği, bu sirkelerde düşük pH değerinin (<3.5), istenmeyen aroma maddelerinin oluşumuna neden olan laktik asit bakterisi ve/veya anaerobik basil fermantasyonlarının önlenmesi açısından önem taşıdığı bildirilmektedir [20, 32, 34].

Farklı üretim yöntemlerinin sirkelerin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerini etkilediği bildirilmektedir [35, 36]. Bu çalışma kapsamında, ev yapımı sirkede toplam fenolik madde miktarı 557.5 mg GAE/L iken ticari sirkede 523 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir (p>0.05). Ayrıca örneklerin DPPH serbest radikali giderme kapasitesi değerleri de incelenmiş ve ev yapımı sirkelerde bu değer (%76.74) ticari sirke örneğine (%40.52) kıyasla daha yüksek bulunmuştur

(p<0.05) (Tablo 2). Laboratuvar şartlarında üretilen dut sirkesinde toplam fenolik madde düzeyinin 972.71 mg GAE/L, antioksidan aktivitesinin ise ORAC yöntemine göre 19.06 µmol/mL, TEAC yöntemine göre 7.72 mM olduğu, ayrıca dut sirkesinden elde edilen bu değerlerin dut suyuna kıyasla daha yüksek olduğu ve dolayısıyla meyvelerin sirkeye işlenmesi ile fenolik bileşiklerce zengin, doğal antioksidan aktivitesi artırılmış ürünlerin elde edilebileceği bildirilmiştir [16]. Şarap sirkesi üretimine yönelik olarak Kore'de yürütülen benzer bir çalışmada, sirke üretiminde kullanılan hammaddede toplam fenolik madde içeriği 58.23 mg GAE/100 mL iken sirkede bu değerlerin 84.15 mg GAE/100 mL seviyelerine ulaştığı belirlenmiştir [37]. Dut sirkesi ile ilgili olarak yürütülen çalışmalar sınırlı sayıda olmasına karşın literatürde çeşitli sirkelerin biyoaktif özelliklerinin incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. Farklı sirke çeşitlerinin incelendiği bir çalışmada, toplam fenolik madde (2228.79 mg GAE/L) ve antiradikal aktivite (DPPH) (%89.53) açısından en yüksek değerlerin, geleneksel olarak evde üretilen üzüm sirkelerinde bulunduğu belirlenmiştir [19]. Ubuda ve arkadaşları [36] tarafından yapılan bir çalışmada, iki farklı alkol fermantasyonu ile üretilen hurma sirkeleri karşılaştırılmış, spontan alkol fermantasyonuyla üretilen sirkelerin, starter kültür inokülasyonu ile üretilen sirkelerden daha yüksek oranda klorojenik asit ve şirinjik asit içerdiği, ve geleneksel olarak üretilen sirkelerin daha antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca, üretilen hurma sirkelerinin antioksidan ve toplam fenolik madde içeriklerinin, beyaz ve kırmızı şarap sirkelerinin antioksidan ve toplam fenolik madde içeriklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir [36].

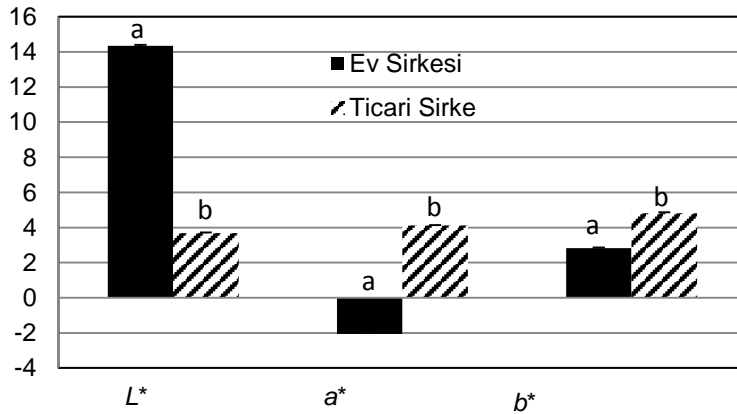
Tablo 2. Dut sirkelerinin bazı fizikokimyasal özellikleri

Analizler	Ev Sirkesi	Ticari Sirke
pH	2.87±0.43 ^a	3.30±0.02 ^a
Toplam Asitlik (g/100mL)*	4.07±0.16 ^a	4.64±0.08 ^a
Uçar Asit (g/100mL)*	2.24±0.16 ^a	3.81±0.08 ^b
Uçmayan Asit (g/100mL)*	1.83±0.00 ^a	0.83±0.00 ^b
Briks	5.60±0.00 ^a	3.50±0.00 ^b
Kül (g/L)	3.81±0.00 ^a	2.06±0.00 ^b
Toplam Fenolik Madde (mg GAE/L)	557.5±28.99 ^a	523±22.62 ^a
DPPH (%)	76.74±4.56 ^a	40.52±2.39 ^b

*: Asetik asit cinsinden. Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a, b) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Ev yapımı sirke örneğinde parlaklığı gösteren L^* değeri 14.35 iken ticari sirkede bu değer 3.68 olarak bulunmuştur ($p<0.05$). Bununla birlikte ev sirkesinde kırmızılık ve yeşilliği gösteren a^* değeri ile sarılık ve maviliği gösteren b^* değeri ticari sirkeye kıyasla daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$) (Şekil 1). Chang ve arkadaşları [38] tarafından yapılan bir çalışmada dut sirkesi için renk değerlerinin L^* 17.1-22.0, a^* 2.1-15.8, b^* -0.3-5.5 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Geleneksel olarak üretilen üzüm ve elma sirkelerinde L^* değerlerinin 0,28 ile 20,15 arasında, a^* değerlerinin 0,09 ile 14,88 arasında ve b^* değerlerinin ise 0,43 ile 14,11 arasında değişen değerlere sahip olduğu belirlenmiştir [19]. Bal sirkesi üzerine yapılan diğer bir çalışmada, örneklerin L^* değerlerinin 0,58 ile 33,00 arasında, a^* değerlerinin 0,17 ile 15,76 arasında ve b^* değerlerinin ise 2,91 ile 28,35 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir [39]. Yapılan çalışmalar, farklı sirkelerin renk özelliklerinin önemli farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Sirke renginin başta hammadde rengi olmak üzere sirke üretim aşamaları ve kullanılan üretim şekli ile de

yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir [32, 40]. Marangoz [41] tarafından yürütülen tez çalışmasında, karadut meyve suyu, alkol fermantasyonu ürünü ve asetikasyon sonunda elde edilen sirke ışık geçirgenliğini temsil eden L^* ve sarı/mavi eksenini temsil eden b^* değerleri açısından karşılaştırılmış ve örnekler arasında önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Ancak sirke örneğinin kırmızı/yeşil eksenini temsil eden a^* değerinde, meyve suyu ve sadece alkol fermantasyonu uygulanan örnekler göre yaklaşık %40 azalma olduğu, bu azalmanın antosiyaninlerdeki parçalanmadan kaynaklandığı ve sirke üretiminde antosiyanince zengin ürünlerdeki renkli bileşenlerin korunması amacıyla alternatif üretim yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiği bildirilmiştir. Renkli meyvelerden sirke üretiminde infüzyon sirke üretiminin kullanımını sayesinde renkli bileşenlerin daha fazla sirke sıvısına geçebileceği ve korunacağı düşünülmektedir [41]. Yürütmüş olduğumuz çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar da bu verileri destekleyen niteliktedir.



Şekil 1. Dut sirkelerinin renk özellikleri (Çubuklar üzerinde yer alan farklı harfler (a, b) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0.05$). L^* , a^* , b^* değerleri istatistiksel olarak ayrı ayrı değerlendirilmiştir).

Geleneksel ev yapımı dut sirkesine karşı en hassas mikroorganizmaların *E. faecalis* ve *E. coli* O157:H7 (10.5 mm) olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Ev yapımı sirke ile ticari sirkenin *E. faecalis* ve *E. coli* O157:H7 üzerine göstermiş oldukları antimikrobiyal etkinin, istatistiksel olarak farklı olmadığı tespit edilmiştir

($p>0.05$). Ticari dut sirkesine karşı en hassas mikroorganizma *L. monocytogenes* (13.5 mm) olarak belirlenmiştir ($p<0.05$). Bununla birlikte ev sirkesinin *L. monocytogenes* üzerine antimikrobiyal etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Dut sirkelerinin antimikrobiyal etkileri

Mikroorganizmalar	Ev Sirkesi (mm)	Ticari Sirke (mm)	Pozitif Kontrol, AMP (mm)	Pozitif Kontrol, CN (mm)	Negatif Kontrol (mm)
<i>L. monocytogenes</i>	-	13.5 ± 0.70 ^{c,A*}	28 ± 2.82 ^{c,B}	28.5 ± 2.12 ^{d,B}	-
<i>E. faecalis</i>	10.5 ± 2.12 ^{b,A}	12 ± 0.00 ^{b,c,A}	28 ± 2.82 ^{c,B}	14.5 ± 0.70 ^{a,A}	-
<i>B. subtilis</i>	7.5 ± 0.70 ^{a,A}	11 ± 0.00 ^{b,B}	29 ± 1.41 ^{c,C}	29.5 ± 0.70 ^{d,C}	-
<i>S. aureus</i>	-	11.5 ± 0.70 ^{b,c,A}	35.5 ± 0.70 ^{d,C}	22.5 ± 0.70 ^{c,B}	-
<i>E. coli</i> O157:H7	10.5 ± 2.12 ^{b,A}	11.5 ± 0.70 ^{b,c,A}	11.5 ± 0.70 ^{a,A}	18 ± 0.00 ^{b,B}	-
<i>S. Typhimurium</i>	7.5 ± 0.70 ^{a,A}	12 ± 1.41 ^{b,c,B}	18 ± 2.82 ^{b,C}	20 ± 0.00 ^{b,C}	-
<i>E. coli</i>	-	7.5 ± 0.70 ^{a,A}	20.5 ± 0.70 ^{b,B}	21.5 ± 2.12 ^{c,B}	-
<i>P. acidilactici</i>	7.5 ± 0.70 ^{a,A}	13 ± 1.41 ^{b,c,B}	31 ± 1.41 ^{c,C}	29 ± 1.41 ^{d,C}	-

*AMP: ampisilin, CN: gentamisin. Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ve aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B, C), ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Genel bir değerlendirme yapıldığında, ticari sirke örneğinin test mikroorganizmalarının tamamı üzerine

antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (7.5-13.5 mm). Ticari sirke örneği *E. coli* üzerine inhibitif etki

göstermiş olmasına karşın, bu etki diğer mikroorganizmalara kıyasla düşük çıkmıştır ($p < 0.05$). Ev yapımı sirke örneği, incelenen sekiz bakteri kültüründen sadece beşi üzerinde (*E. faecalis*, *B. subtilis*, *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *P. acidilactici*) antimikrobiyal etki gösterebilmiş (7.5-10.5 mm), bununla birlikte *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* üzerinde herhangi bir inhibitif etki gösterememiştir. Sonuç olarak *E. coli*'nin her iki sirke türüne karşı en dirençli mikroorganizma olduğu belirlenmiştir. Aynı hammaddeden farklı yöntemlerle üretilen ve başta asitlik değerleri olmak üzere birçok özelliği farklılık gösteren sirke örnekleri antimikrobiyal etki açısından da farklı bulunmuştur (Tablo 3). Karaağaç ve arkadaşları [17] tarafından yürütülen bir çalışmada, dut sirkesinin *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *E. faecalis*, *Erwinia carotovora*, *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *S. aureus* ve *Streptococcus pyogenes* üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği, dut sirkesine karşı en hassas mikroorganizmanın *S. aureus* (28 mm), en dirençli mikroorganizmanın ise *E. coli* (5.3 mm) olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar *E. coli*'nin sirkeye karşı en dirençli mikroorganizma olduğunu ortaya koymuş ve bu kapsamda bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara paralellik göstermektedir. Farklı hammaddelerden geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen sirkelerin *B. cereus*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Klebsiella pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa*, *Proreus vulgaris*, *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *Y. enterocolitica* (6.18-23.56 mm) karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir [19]. Choi ve ark. [42] tarafından yürütülen bir çalışmada, %4.22-4.95 seviyelerinde asetik asit içeren siyah sirkenin, test mikroorganizmaları (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Lodderomyces elongisporus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*) üzerine antimikrobiyal etkisinin (inhibisyon zonu: 12-22 mm), ticari antibiyotiklere (tetrasiklin ve karbenisillin) kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, organik asit içeriği daha yüksek olan ticari sirkede antimikrobiyal etkinin de daha yüksek çıkması beklenen bir sonuç olarak görülmektedir. Ancak sirkelerde antimikrobiyal etkiden temel olarak organik asitler sorumlu olsa da, sirkelerin fenolik madde içeriklerinin de antimikrobiyal etkiyi destekleyen etkilerinin bulunduğu bildirilmektedir [1]. Farklı sirkelerde kullanılan hammaddeye bağlı olarak değişmekle birlikte kateşin, epikateşin, gallik asit, kafeik asit, klorojenik asit, şirinjik asit, ferulik asit, vanilik asit, kumarik asit, elajik asit gibi çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır [1]. Budak [16] tarafından yapılan çalışmada, beyaz dut sirkesinde gallik asit, klorojenik asit, şirinjik asit, kumarik asit ve kateşinin bulunduğu, bunlardan gallik asit ve klorojenik asidin baskın fenolik bileşenler olduğu belirlenmiştir. Başka bir çalışmada, balsamik sirkenin sahip olduğu kuvvetli antimikrobiyal etkinin, içeriğinde bulundurduğu vanilik asit, gallik asit ve kafeik asit gibi antimikrobiyal etkili fenolik maddelerden kaynaklandığı bildirilmektedir [8].

SONUÇ

Bu çalışmada geleneksel yöntemlerle ev koşullarında üretilen dut sirkesi ile ticari olarak üretilip satışı sunulan

dut sirkesinin bazı özellikleri incelenmiştir. Analiz sonuçları, farklı yöntemlerle üretilen sirkelerin kalite özelliklerinin yanı sıra biyoaktif özelliklerinin de farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Geleneksel ev sirkesi toplam fenolik madde ve antiradikal aktivite açısından, ticari sirke örneği ise asit içeriği ve antimikrobiyal aktivite açısından ön plana çıkan örnekler olmuştur. Ticari sirke örneği incelenen test mikroorganizmalarının tamamı üzerinde antimikrobiyal etki göstermiş, ancak ev sirkesinin antimikrobiyal etkisi sınırlı seviyede kalmıştır. Elde edilen sonuçlar, dut sirkesinin antimikrobiyal ve antiradikal aktivite açısından önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. İlerleyen aşamalarda dut sirkesinde bulunan biyoaktif bileşenlerin tanımlanmasına yönelik çalışmaların yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Karabiyikli, S., Sengun, I.Y. (2017). Beneficial Effects of Acetic Acid Bacteria and Their Food Products. Chapter 13. In Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications (Ed. Sengun, I.Y.). CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 221-242p.
- [2] Şengün, İ.Y., Kılıç, G. (2016). Geleneksel olarak üretilen incir ve dut sirkelerinin antimikrobiyal etkileri. *Türkiye 12. Gıda Kongresi*, 05-07 Ekim, 2016, Trakya Üniversitesi, Edirne, Türkiye 81p.
- [3] Vijayakumar, C., Wolf-Hall, C. (2002). Evaluation of household sanitizers for reducing levels of *E. coli* on iceberg lettuce. *Journal of Food Protection*, 65, 1646-1650.
- [4] Sengun, I.Y., Karapinar, M. (2004). Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in elimination of *Salmonella* Typhimurium on carrots. *International Journal of Food Microbiology*, 96, 301-305.
- [5] Sengun, I.Y., Karapinar, M. (2005a). Effectiveness of household natural sanitizers in the elimination of *Salmonella* Typhimurium on rocket (*Eruca sativa* Miller) and spring onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 98, 319-323.
- [6] Sengun, I.Y., Karapinar, M. (2005b). Elimination of *Yersinia enterocolitica* on carrots (*Daucus carota* L.) by using household sanitizers. *Food Control*, 16, 845-850.
- [7] Chang, J.M., 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(7), 745-751.
- [8] Ramos, B., Brandão, T.R.S., Teixeira, P., Silva, C. L. M. (2014). Balsamic vinegar from Modena: An easy and effective approach to reduce *Listeria monocytogenes* from lettuce. *Food Control*, 42, 38-42.
- [9] 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.

- [10] Hindi, N.K. (2013). In vitro antibacterial activity of aquatic garlic extract, apple vinegar and apple vinegar-garlic extract combination. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 1, 42-51.
- [11] Chen, H., Chen, T., Giudici, P. Chen, F., (2016). Vinegar functions on health: Constituents, sources, and formation mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 1124-1138.
- [12] Sengun, I.Y. (2015). Acetic Acid Bacteria in Food Fermentations. Chapter 5. In *Fermented Foods: Part 1. Biochemistry and Biotechnology* (Eds. Montet, D., Ray, R.C.). CRC Press, 91-111p.
- [13] Çapanoğlu, E., Boyacıoğlu, D. (2009). Meyve ve sebzelerin flavonoid içeriği üzerine işlemenin etkisi. *Akademik Gıda*, 7(6), 41-46.
- [14] Karadeniz, T., Şişman, T. (2003). Beyaz ve karadutun meyve özellikleri ve çelikle çoğaltılması. *I. Ulusal Kivi ve Üzümü Meyveler Sempozyumu*, 23-25 Ekim, 2003, Ordu, Türkiye, 428-432p.
- [15] Erdoğan Ü., Pırlak L., (2005). Ülkemizde dut (*Morus spp.*) üretimi ve değerlendirilmesi. *Alatırım*, 4(2), 38-43.
- [16] Budak, N.H., (2015). Dut sirkesi oluşum sürecinde ileri analitik tekniklerle toplam antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşenleri. *Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, 2(2), 27-31.
- [17] Karaagac, R.A., Aydoğan, M.N., Koseoglu, M.S. (2016). An investigation on antimicrobial and antioxidant activities of naturally produced mulberry vinegar. *Journal of Pharmaceutical Biology*, 6, 34-39.
- [18] Budak, H.N., Aykin, E., Seydim, A.C., Greene, A.K., Guzel-Seydim, Z.B. (2014). Functional properties of vinegar. *Journal of Food Science*, 79(5) 757-764.
- [19] Öztürk, I., Caliskan, O., Tornuk, F., Sagdic, O. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional homemade Turkish vinegars. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 63, 144-151.
- [20] Sengun, I.Y. (2013). Microbiological and chemical properties of fig vinegar produced in Turkey. *African Journal of Microbiology Research*, 7(20), 2332-2338.
- [21] De Vere, L., Gala, E., Gullo, M., Solieri, L., Landi, S., Giudici, P. (2006). Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analysis to evaluate acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar. *Food Microbiology*, 23, 809-813.
- [22] Sharpe, M.E., Fryer, E., Smith, D.G. (1966). Identification of Lactic Acid Bacteria, Identification Method for Microbiologists Part A, (Eds. Gibbs B.M., Skinner F.A.), London: Academic Press. 65-67p.
- [23] Kandler, O., Weiss, M. (1986). Regular, Nonsporing Gram - Positive Rods. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 2 (Eds. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Hold, J.G.). William and Wilkins, Baltimore. 1208-1219p.
- [24] FDA-BAM (Food and Drug Administration-Bacteriological Analytical Manual). (2001). Yeasts, molds and mycotoxins. Chapter:18, January 2001. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM064948> (Erişim Tarihi: Mart 2017)
- [25] AOAC. (1995). Official Methods of Analysis, 16th edition, 930-935p.
- [26] Cemeroğlu, B. (2013). Gıdalarda Uygulanan Bazı Özel Analiz Yöntemleri. Bölüm 2. Gıda Analizleri (Ed. Cemeroğlu, B.). 3. Baskı, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, 87-157p.
- [27] Anonymous. (1983). Examination and Analysis of Food Materials. T.R. Ministry of Forest and Village Affairs. General Directorate of Food Affairs. General Public, No: 65, Ankara.
- [28] Rommel, A., Heatherbell, D.A., Wrolstad, R.E. (1990). "Red raspberry juice and wine: Effect of processing and storage on anthocyanin pigment composition, colour and appearance". *Journal of Food Science*, 55, 1011-1017.
- [29] Singh, R.P., Chidambara Murthy, K.N., Jayaprakasha, G.K. (2002). Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4791- 4795.
- [30] Deng, Y., Yang, G., Yue, J., Qian, B., Liu, Z., Wang, D., Zhong, Y. Zhao, Y. (2014). Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. *Food Control*, 38, 184-191.
- [31] SPSS. (2006). Statistical Package, SPSS for Windows, Ver. 15.0, Chicago, SPSS, Inc.
- [32] Giudici, P., De Vere, L., Gullo, M. (2017). Vinegars. Chapter 10. In *Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications* (Ed. Sengun, I.Y.). CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 261-287p.
- [33] Rosma, A., Nadiyah, A.H.S., Raj, A., Supwat, T., Sharma, S., Joshi, V.K. (2016). Acetic Acid Fermented Product. In *Indigenous fermented Foods of South Asia* (V.K. Joshi (Eds.), CRC Press, Taylor & Francis Group, Florida, 598-635p.
- [34] Akbaş, M., Cabaroğlu, T. (2010). Ülkemizde üretilen bazı üzüm sirkelerinin bileşimleri ve gıda mevzuatına uygunlukları üzerine bir araştırma. *Gıda*, 35(3), 1-6.
- [35] Budak, N., Güzel-Seydim, Z.B. (2010). Sirke üretimi ve bazı fonksiyonel özellikleri. *Gıda Teknolojisi*, 14(11), 85-88.
- [36] Ubeda, C., Hidalgo, C., Torija, M.J., Mas, A., Troncoso, A.M., Morales, M.L. (2011). Evaluation of antioxidant activity and total phenols index in persimmon vinegars produced by different processes. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 1591-1596.
- [37] Jo, Y., Baek, J.Y., Jeong, I.Y., Jeong, Y.J., Yeo, S.H., Noh, B.S., Kwon, J.H. (2015). Physicochemical properties and volatile components of wine vinegars with high acidity based on fermentation stage and initial alcohol concentration. *Food Science and Biotechnology*, 24(2), 445-452.

- [38] Chang, R.C., Lee, H.C., Ou, A.S.M. (2005). Investigation of the physicochemical properties of concentrated fruit vinegar. *Journal of Food and Drug Analysis*, 13(4), 348-356.
- [39] Alak, G.D. (2015). Bal ve Bal Sirkelerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, 113s.
- [40] Palacios, V., Valcarcel, M., Caro, I., Perez, L. (2002). Chemical and biochemical transformations during the industrial process of sherry vinegar aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(15), 4221-4225.
- [41] Marangoz, F.İ. (2016). Sirke Üretim Prosesinin Karadut Meyvesinin Biyoaktif Bileşenleri ve Antioksidan Özelliklerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, 61s.
- [42] Choi, H., Gwak, G., Choi, D., Park, J., Cheong, H. (2015). Antimicrobial efficacy of fermented dark vinegar from unpolished rice. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 43, 97-104.
-