

Özgün Araştırma/Original Article

Geleneksel yöntemle gül sirkesi üretiminde asit toleranslı bazı laktik asit bakterilerinin kullanımı

The use of some acid-tolerant lactic acid bacteria in the production of rose vinegar by the traditional method

Pelin ERTÜRKMEN^{1*} 

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur Gıda Tarım ve Hayvancılık Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı, BURDUR, TÜRKİYE

ORCID ID: 0000-0003-4321-7886, Öğr. Gör. Dr.

*Corresponding author/Sorumlu yazar: perturkmen@mehmetakif.edu.tr

Geliş Tarihi : 23.02.2023

Kabul Tarihi : 08.05.2023

Öz

Amaç: Gül (*Rosa damascena* Mill.) bitkisinin insan sağlığı açısından kullanım çeşitliliği ve fonksiyonel özelliklerinin artırılması önemli bir konudur. Bu çalışmada bazı başlatıcı kültür ve asit dirençlilik özellikleri belirlenmiş laktik asit bakterilerinin (LAB) gül sirkesinin fermantasyonunda kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Materyal ve yöntem: Bu amaçla *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Enterococcus faecium* ve *Lactiplantibacillus plantarum* suşları gül sirkesi örneklerine ilave edilerek 37°C'de 18 saat fermente edilmiş ve 7 gün depolanmıştır. Kontrol grubunda ve LAB ilave edilen gül sirkesi örneklerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve gaz kromatografi-kütle spektrometre (GC-MS) cihazı ile uçucu bileşen analizleri gerçekleştirilmiştir.

Tartışma ve sonuç: Depolama sonunda pH ve toplam titrasyon asitliği içerikleri sırasıyla 3,58-3,65 ve %2,45-2,74 aralığında tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik analizlerde laktokoklar 5,15-6,33 log KOB/mL, laktobasiller 5,07-6,69 log KOB/mL, asetik asit bakterileri 4,73-6,62 log KOB/mL ve maya-küf 5,35-6,53 log KOB/mL düzeyinde belirlenmiştir. Gül sirkesi örneklerinde GC-MS ile öne çıkan uçucu bileşenler; asetik asit, 2-feniletıl alkol, feniletıl asetat, etil asetat, sitronelil asetat, β -sitronellol, metil öjenol ve gül-oksittir. Kontrol grubuna kıyasla LAB ilaveli gruplarda bazı ester ve terpen düzeyleri daha yüksek belirlenmiştir. Sonuçlar, seçilen LAB suşlarının gül sirkesini uygun bir substrat olarak fermente edebileceğini ve sirkenin fonksiyonel özelliklerini desteklediğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Rosa damascena* Mill.; gül sirkesi; laktik asit bakterileri; uçucu bileşen

Abstract

Objective: Increasing the usage variety and functional properties of the Rose (*Rosa damascena* Mill.) plant for human health is an important topic. In this study, the usability of lactic acid bacteria (LAB) with identified starter culture and acid resistance characteristics was investigated in the fermentation of rose vinegar.

Material and method: For this purpose, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Enterococcus faecium*, and *Lactiplantibacillus plantarum* strains were added to rose vinegar samples and fermented at 37 °C for 18 hours and stored for 7 days. Physicochemical, microbiological, and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analyses were performed on the rose vinegar samples with added LAB.

Discussion and results: At the end of the storage period, pH and total titration acidity contents were determined in the range of 3.58-3.65 and 2.45-2.74%, respectively. In microbiological analyses, lactococci were determined at levels of 5.15-6.33 log CFU/mL, lactobacilli at 5.07-6.69 log CFU/mL, acetic acid bacteria at 4.73-6.62 log CFU/mL, and yeast-mold at 5.35-6.53 log CFU/mL. The volatile compounds highlighted by GC-MS analysis in the rose vinegar samples were acetic acid, 2-phenylethyl alcohol, phenethyl acetate, ethyl acetate, citronellyl acetate, β -sitronellol, methyl eugenol, and rose oxide. Some ester and terpene levels were

found to be higher in the LAB-added groups compared to the control group. The results showed that the selected LAB strains could ferment rose vinegar as a suitable substrate and support its functional properties.

Keywords: *Rosa damascena* Mill.; rose vinegar; lactic acid bacteria; volatile component

1. Giriş

Rosaceae familyasında yer alan *Rosa damascena*, *R. gallica* ve *R. centifolia* türleri bugün dünyanın birçok yerinde aktif olarak kullanılmaktadır. Suudi Arabistan, Mısır, Türkiye, Fas, Bulgaristan, İran, Fransa, Çin ve Hindistan'da ticari amaçla yetiştirilebilmektedir (Mileva vd., 2021). Özellikle, *Rosa damascena* Mill. (Şam gülü, yağlı gül, pembe gül) değeri yüksek uçucu yağ üreten en önemli gül türüdür (Baydar ve Baydar, 2013). *Rosa damascena* Mill. türünün işlenmesi ve yetiştirilmesi, Türkiye'nin güneybatısındaki "güller yöresi" denilen Isparta ve çevresinde yoğun olarak yapılmaktadır. Isparta'da ihracat için yılda yaklaşık 6.000-8.000 ton gül üretilmektedir (Özdemir ve Budak, 2022).

Rosa sp.'den elde edilen gül yağı, gül suyu ve gül biyoaktif bileşen özleri kozmetik ve ilaç endüstrilerinde oldukça önemlidir (Younis vd., 2021; Xie ve Du, 2022). Ayrıca bu ürünler alkaloidler, fenolik asitler, flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler dahil olmak üzere çeşitli fitokimyasal bileşenler içerdiğinden güçlü antioksidan, antidiyabetik, anti-HIV, antibakteriyel, antienflamatuar ve kardiyotonik özelliklere sahiptir (Labban ve Thallaj, 2020; Galal vd., 2022; Hamza vd., 2022). Tarihsel olarak adet kanaması, iltihaplanma, solunum sorunları, depresyon, kabızlık ve göğüs ağrısını tedavi etmek için de kullanılmıştır (Moein vd., 2016; Alizadeh ve Fattahi, 2021).

Fermantasyon, genellikle mevcut biyoaktif bileşikler üreten ve/veya yeni biyoaktif bileşiklerin oluşmasına izin veren bir işlemdir (Özdemir vd., 2022). Yüzey kültürü yöntemini benimseyen sirke üretimi, biyoaktif bileşiklerin nihai ürüne aktarılmasında yüksek bir etkiye sahiptir. Kullanılan hammaddeye ve üretim yöntemine bağlı olarak değişim gösteren fenolik maddeler, sirkenin antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelini de etkilemektedir (Karabıyıklı ve Şengün, 2017). Geleneksel yöntemle üretilen sirkelerin, fonksiyonel özelliklerinin, endüstriyel sirkelere kıyasla daha fazla olabileceği bildirilmiştir (Budak vd., 2014; Karabıyıklı ve Şengün, 2017). Metabolit ve uçucu aroma bileşiklerindeki artışları, sirkede olgunlaşma sürecinde oluşan organik asit ve fenolik bileşiklerdeki değişikliklerle ilişkilendirerek olumlu etkilere yol açabildiği bildirilmektedir (Nie vd., 2019).

Fermente ürünlerin insan beslenmesindeki önemi hem içerdikleri biyoaktif bileşenler hem de yararlı mikroorganizmalardan kaynaklanmaktadır. Sirke, etil alkol ve asetik asit fermantasyonlarından olmak

üzere iki aşamalı fermantasyon uygulaması ile nişasta ve şeker içeren hammaddeden üretilmektedir (Özdemir ve Budak, 2022). Fermantasyonda bakteriyel suşların iyileştirilmesi, türlerin tanımlanması ve fermantasyona dahil olan baskın suşların karakterizasyonu nihai ürün kalitesi açısından oldukça önemlidir (Hidalgo vd., 2010). Sirkede fermente edici mikroorganizmalar arasında asetik asit bakterileri ve mayaların kritik öneme sahip olduğu düşünülürken, laktik asit bakterilerinin (LAB) popülasyonunda sirkenin tadını iyileştirmede güçlü bir rol oynadığı düşünülmüştür (Lei, 2000). Sirke örneklerinde yapılan çalışmada maya (*Saccharomyces cerevisiae*) cinsleri düşük fenotipik ve genotipik çeşitlilik gösterirken, Lactobacillaceae (*Limosilactobacillus fermentum*, *L. plantarum*, *Lentilactobacillus buchneri*, *Lactocaseibacillus casei*), *Pediococcus* ve *Weissella* türlerinin bakteri popülasyonunda aynı evrede baskın olduğu belirlenmiştir (Wu vd., 2012). Chen vd. (2017), hem *S. cerevisiae* hem de *L. plantarum*'u içeren karma bir kültürün kullanılmasının narenciye sirkesinin kalitesini önemli ölçüde artırdığını bildirmiştir.

Fermantasyonda kullanılan suşlar aynı türün suşları arasında bile farklılık gösterebilmektedir. Bu çalışmada, başlatıcı kültür özellikleri ve asit dirençlilikleri belirlenen farklı LAB'nin hoş bir koku ve farmakolojik etkileri olan gül sirkesinde fonksiyonel olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

2. Materyal ve yöntem

2.1. LAB suşlarının 16S rRNA gen dizisi ile tanımlanması

Bu çalışmada; fizikokimyasal testler, antibiyotik duyarlılığı, organik asit ve aroma üretim kapasiteleri ile bazı başlatıcı kültür özellikleri daha önceden belirlenmiş (Alp ve Öner, 2014; Ertürkmen ve Öner, 2015) 7 LAB kullanılmıştır. Man Rogosa Sharpe (MRS) broth besiyerinde 37°C'de 18 saat aktifleştirilen kültürlerden genomik DNA ekstraksiyonu, başlangıç numunesi hazırlama protokolü ile üreticinin talimatları izlenerek NanoBiz Genomik DNA izolasyon kiti ile gerçekleştirilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) 50 µL hacimde 1X Taq tampon çözeltisi, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, her biri primerden 0,3 pmol/µL, 1,5 U Taq DNA Polimeraz ve 100 ng/µL genomik DNA kalıbı içermiştir. Bakteri kültürlerinden izole edilen genomik DNA örneklerindeki 16S rRNA bölgelerini çoğaltmak amacıyla 27-F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG -3') ve 1492-R

(5'- TACGGYTACCTTGTTACGACTT -3') evrensel primer çiftleri kullanılmıştır. PZR programı 94°C, 1 dk; 30 döngü: 94°C, 45 sn; 55°C, 45 sn; 72°C, 45 sn olarak ayarlanmıştır. PZR ürünlerini (ileri ve ters primer) sıralamak için BigDye Terminator v3,1 Döngü Dizileme Kiti (Applied Biosystems, Foster City, CA) (Macrogen Holland Laboratuvarı) ve ABI 3100XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California) cihazı kullanılmıştır. Sekans dizi analizlerine göre elde edilen nükleik asit dizi analiz sonuçları FinchTV programında açılmış ve diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) programı kullanılarak tanımlanmış olan tüm sekanslarla karşılaştırılarak sekansların hangi mikroorganizma türüne ait olabileceği bilgisine ulaşılmıştır.

2.2. Suşların düşük pH değerlerine karşı direnç özellikleri

MRS'de geliştirilen aktif kültürlerden 1'er mL steril eppendorf tüplerine alınarak 12.000 rpm'de 10 dakika +4°C'de santrifüjlendikten sonra süpernatant atılmıştır. Fosfat tamponlu tuz (PBS) çözeltisi ile pelet 2 kez yıkanmıştır. Suşlara ait pelletler pH'sı 5M HCl ile 3,0'e ayarlanan PBS tampon çözeltisi içeren tüplere eklenerek vortekslenmiştir. 37°C'de inkübasyona bırakılan tüplerden 0., 1. ve 3. saatlerde örnekler alınarak seri dilüsyonlar hazırlanmış ve MRS agar ortamında paralelli yayma ekim yapılarak sayım yapılmıştır. Mikrobiyolojik sayım sonuçları log KOB/mL olarak hesaplanmıştır (Maragkoudakis vd., 2006).

2.3. Geleneksel yöntemle gül sirkesi üretimi

Araştırmada kullanılan gül sirkeleri geleneksel yöntemle üretilmiştir (Özdemir, 2019). Sirke üretimi için hammadde olarak her bir denemede Burdur ilinden, gül örnekleri (*Rosa damascena* Mill.) temin edilmiştir. Gül örnekleri yıkama işleminden sonra parçalanarak 3 adet 5 L'lik cam kavonozlara 1.000'er g alınarak her partiye 1,5 L su eklenmiş ve 1 hafta +4°C'de dinlenmeye bırakılmıştır. Fermantasyonun optimizasyonu için her kavanoza 50 g bal (Özkovan Gıda Ltd., Türkiye) ve 0,3 g/L olacak şekilde maya *S. cerevisiae* kültürü (Kurumaya, Pakmaya, Türkiye) ilave edilmiştir. Fermantasyon kapakları kapatılarak 20 gün etil alkol fermantasyonuna bırakılmıştır. Alkol fermantasyonu sona erdiğinde her bir kavanoza katkı maddesi içermeyen 1/10 oranında yıllandırılmış sirke ilave edilerek toplam hacim 5 L'ye kadar su ile tamamlanmıştır. Kavanozun ağzı bir bez kullanılarak hava girişine izin verecek şekilde kapatılmış ve sirke örnekleri karanlık ortamda 28-30°C sıcaklıkta 60 gün asetik

asit fermantasyonuna tabi tutulmuştur. Sirke fermantasyon işlemini takiben, filtrasyon işlemi yapılmıştır.

2.4. LAB suşlarının sirke örneklerine ilavesi

LAB suşları MRS sıvı besiyerinde 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Hücreler PBS çözeltisinde 4.000×g'de 4°C'de 10 dakika boyunca santrifüj (Sigma 2-16KL, Germany) edilerek yıkanmıştır. Buradan, içinde 3 mL PBS bulunan tüplere aktararak 5 no'lu Mac Farland tüpleriyle eşdeğer bulanıklıkta hücre süspansiyonu elde edilmiştir. Aktif suşlar cam kavonozlara aktarılan sirke örneklerine %2 oranında aşılanmıştır. Sirke örnekleri 37°C'de 18 saat fermantasyona bırakılmıştır. Sirke üretimleri 3 tekerrür olarak gerçekleştirilmiştir. Depolamanın 1., 3. ve 7. gününde fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

2.5. pH ve toplam asitlik değerleri

Sirke örneklerinde pH ölçümleri pH metre (Mettler Toledo SG23-FK2) ile yapılmıştır. Örneklerin toplam asitlik değerler 0,1 N NaOH kullanılarak titrimetrik yöntemle göre belirlenmiş ve sonuçlar % asetik asit cinsinden verilmiştir (AOAC, 1992).

2.6. Mikrobiyolojik analizler

Sirke örneklerinden uygun dilüsyonlardan yayma kültür yöntemi ile ekim yapılarak *Lactobacillus* spp. sayımı için MRS Agar besiyerinde 30°C'de 48 saat, *Lactococcus* spp. sayımı için M-17 Agar (M17, Merck) besiyerinde 30°C'de 48 saat, maya ve küf sayımı için %10'luk tartarik asit ile asitlendirilmiş Potato Dextrose Agar (PDA, Merck) besiyerinde 25°C'de 3-5 gün ve asetik asit bakterileri için Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate Agar (GYC, Himedia) besiyerinde 30°C'de 5-10 gün inkübe edilmiştir (FDA-BAM, 2001). Sayım sonuçları log KOB/mL olarak verilmiştir.

2.7. Sirkede uçucu bileşenlerin belirlenmesi

Sirkede uçucu bileşenlerin belirlenmesi, katı faz mikro ekstraksiyon tekniği (SPME) kullanılarak, gaz kromatografi-kütle spektrometre (Shimadzu GC-MS- 2010 Plus, Japon) cihazı ile belirlenmiştir. Bu amaçla LAB ilaveli sirke örnekleri inkübasyonun 7. gününde, amber headspace vial (Supelco 27159 15 mL clear PTFE/Silicone septa Cap) içine konularak ağzı hava sızdırmaz silikon/PTFE kapakla kapatılmıştır. Bu vialler 30 dakika kadar 60°C'de tutulduktan sonra 75 µm inceliğinde Carbokzen-Polidimetilsiloksan (CAR/PDMS) kaplı fused silica SPME fiber (Supelco, Bellefonte, PA, ABD) ile tepe boşluğunda uçucu bileşenler absorbe edilmiştir

(Sánchez-Palomo vd., 2005). Cihazda Restek (Rx-5 Sil MS 30 m × 0,25 mm, 0,25 µm, katalog no: Restek 13623) kapiler kolonu kullanılmıştır. Çalışmamızda kullanılan yonteme ait GC-MS parametreleri; enjeksiyon sıcaklığı: 250°C, kolon akış hızı: 1,61 mL/dk, kolon sıcaklığı 40°C'de 2 dakika bekledikten sonra 250°C'ye dakikada 4°C'lik artış ile ulaşma ve 250°C'de 5 dakika bekleme olarak belirlenmiş ve analizlerde kullanılmıştır. Enjeksiyon sonrası elde edilen pikleri tanımlamak için, yöntem parametreleri cihaza girildikten sonra C7-C30 alkan serisi sırasıyla cihaza enjekte edilmiş ve dört farklı (Wiley, Nist, Tutor ve FFNSC) GC-MS kütüphanelerinde tanımlanmıştır. Her bir pikin alıkonma zamanları ile hidrokarbon standardının alıkonma zamanları kullanılarak hesaplanan

“Retention Index” (RI) değerleri referans alınmıştır (Güçer, 2016).

2.8. İstatistiksel değerlendirme

Üretilen gül sirkelerinin depolama süresince yapılan analiz sonuçları Minitab17 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Gül sirkesi üretiminde kullanılan LAB suşlarının sirke örneklerinin bazı özellikleri üzerine etkisi tek faktör varyans (one-way ANOVA) analizleri ve farklılığının belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır.

3. Bulgular ve tartışma

Gül sirkesi fermantasyonunda kullanılan LAB suşlarının tür düzeyinde tanısı ve benzerlik oranları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. LAB suşlarının 16S rRNA ile tanısı

Table 1. Diagnosis of LAB strains with 16S rRNA

Suş kodu <i>Strain code</i>	Benzer tür <i>Similar species</i>	Genbank erişim numarası <i>Genbank access number</i>	Baz sayısı <i>Number of bases</i>	Nükleotid benzerlik (%) <i>Nucleotide similarity (%)</i>
PeE32	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MT473570	1461	99,49
PeE26	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MF369939	1403	98,57
İE25	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MT473513	1458	99,60
PeLc15	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MK290332	1480	98,83
PeLc6	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	MF369939	1403	99,22
PeLc2	<i>Enterococcus faecium</i>	MN475959	1268	99,59
PeLb75	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	MZ208267	1266	94,35

16S rRNA dizi analizi ile 7 adet LAB'nin nükleotid benzerlik oranları %94-99 aralığında tespit edilmiştir. Sekans analiz sonuçlarına göre %99 benzerlik ile 3 LAB'nin (PeE32, İE25, PeLc6) *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* türüne; 1 LAB'nin (PeLc2) *Enterococcus faecium* ve 1 LAB'nin (PeLb75) %94,35 benzerlik ile *Lactiplantibacillus plantarum* türlerine benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, 16S rRNA genlerinin türler arasında iyi korunduğunu ve fenotipik çalışmalarla yapılan tanımlamaların genetik temelli çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Araştırmacılar, 16S rRNA gen dizi analizi ile İran'ın geleneksel Motal (Azizi vd., 2017) ve Lighvan peynirlerinden (Edalatian vd., 2012a; 2012b) izole ettikleri LAB'nin *Lactobacillaceae* (*Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus* ve *Levilactobacillus*), *Lactococcus* ve *Streptococcus* cinslerine ait olduğunu belirlemiştir.

Sirke kalitesi kullanılan hammaddeye ve uygulanan fermantasyon işlemine bağlıdır (Özdemir vd., 2022). LAB'nin sirke üretiminde kullanılabilmesi için düşük pH'ya dayanıklı olması gerekmektedir. Bu amaçla suşların pH 3,0'te dirençlilik testi gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Suşların düşük pH'ya karşı dirençlerinin büyük ölçüde türe bağlı olduğu belirtilmektedir (Muñoz-Quezada vd., 2013). Bu çalışmada, suşlara yapılan pH 3,0 dirençlilik testlerinde tüm suşların canlılığını koruduğu en az canlılık gösteren suşun PeLc15 numaralı suş olduğu 3. saat sonunda en fazla canlılık oranının (>5 log KOB/mL) ise PeE32, PeLb75, PeLc6 ve PeLc2 numaralı suşlar olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 2. LAB suşların pH 3,0'te dirençlilik testi

Table 2. LAB resistance testing of strains at pH 3.0

Suş kodu <i>Strain code</i>	Suşların pH 3,0'te dirençlilik testi (log KOB/mL) <i>Resistance testing of strains at pH 3.0 (log CFU/mL)</i>		
	0. dk <i>0. min</i>	1. saat <i>1. hour</i>	3. saat <i>3. hour</i>
PeE32	8,37±0,07 ^{Aa}	7,79±0,06 ^{Ba}	5,72±0,07 ^{Ca}
PeE26	7,90±0,07 ^{Aa}	5,63±0,15 ^{Bd}	4,48±0,08 ^{Cb}
İE25	6,70±0,08 ^{Ab}	6,57±0,09 ^{Abc}	4,51±0,05 ^{Bb}
PeLc15	6,98±0,01 ^{Ab}	4,50±0,23 ^{Be}	4,30±0,09 ^{Bb}
PeLc6	8,11±0,50 ^{Aa}	7,16±0,46 ^{Bab}	5,31±0,19 ^{Ca}
PeLc2	8,15±0,55 ^{Aa}	5,92±0,53 ^{Bcd}	4,61±0,20 ^{Cb}
PeLb75	7,78±0,19 ^{Aa}	6,40±0,26 ^{Bbcd}	5,40±0,25 ^{Ca}

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ve aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B, C, D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0,05).

*Different lowercase letters (a, b, c, d) in the same column and different capital letters (A, B, C, D) in the same row indicate the statistical difference between the mean values (p<0,05).

Bazı araştırmacılar LAB'nin asit toleransının, bu mikroorganizma grubunda bulunabilen bir enzim olan ATPaz'ın varlığı ile ilgili olabileceğini

belirtmiştir (Lertworapreecha vd., 2011; Reis vd., 2016). LAB suşlarının kullanılmadığı kontrol grubuna ilave olarak asit dirençliliği yüksek olan 4 farklı LAB ile 18 saat 37°C’de fermente edilen ve 30°C’de 1, 3 ve 7 gün depolanan gül sirkesi

örneklerinin isimleri, içerdikleri LAB, pH ve toplam titrasyon asitliği (%) gibi bazı fizikokimyasal özellikleri Çizelge 3’te gösterilmiştir.

Çizelge 3. Gül sirkesi örneklerinin bazı fizikokimyasal özellikleri
Table 3. Some physicochemical properties of rose vinegar samples

	Sirke grubu <i>Vinegar group</i>	LAB <i>LAB</i>	1. gün <i>1. day</i>	3. gün <i>3. day</i>	7. gün <i>7. day</i>
pH <i>pH</i>	Kontrol	LAB kullanılmamıştır.	3,65 ± 0,01 ^{Aa}	3,65 ± 0,01 ^{Aa}	3,66 ± 0,01 ^{Aa}
	GS1	PeLb75 <i>L. plantarum</i>	3,62 ± 0,00 ^{Aa}	3,60 ± 0,01 ^{Bb}	3,58 ± 0,01 ^{Bb}
	GS2	PeLc6 <i>Lc. lactis</i>	3,63 ± 0,02 ^{Aa}	3,60 ± 0,01 ^{Ab}	3,61 ± 0,01 ^{Ab}
	GS3	PeLc2 <i>E. faecium</i>	3,64 ± 0,02 ^{Aa}	3,62 ± 0,02 ^{Aab}	3,62 ± 0,03 ^{Aab}
	GS4	PeE32 <i>Lc.lactis</i>	3,65 ± 0,02 ^{Aa}	3,63 ± 0,03 ^{Aab}	3,62 ± 0,01 ^{Ab}
Toplam titrasyon asitliği (%) <i>Total titration acidity (%)</i>	Kontrol	LAB kullanılmamıştır.	2,44 ± 0,04 ^{Aa}	2,45 ± 0,05 ^{Aa}	2,48 ± 0,04 ^{Ac}
	GS1	PeLb75 <i>L. plantarum</i>	2,48 ± 0,05 ^{Ba}	2,50 ± 0,09 ^{Ba}	2,68 ± 0,09 ^{Aab}
	GS2	PeLc6 <i>Lc. lactis</i>	2,45 ± 0,07 ^{Aa}	2,52 ± 0,15 ^{Aa}	2,50 ± 0,05 ^{Abc}
	GS3	PeLc2 <i>E. faecium</i>	2,49 ± 0,06 ^{Ba}	2,54 ± 0,06 ^{ABa}	2,65 ± 0,09 ^{Aab}
	GS4	PeE32 <i>Lc.lactis</i>	2,48 ± 0,06 ^{Ba}	2,59 ± 0,06 ^{ABa}	2,74 ± 0,10 ^{Aa}

GS: Sirke kodu (*Vinegar code*)

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ve aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B, C, D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0,05).

*Different lowercase letters (a, b, c, d) in the same column and different capital letters (A, B, C, D) in the same row indicate the statistical difference between the mean values (p<0.05).

LAB suşları şekeri parçalama, fermentasyon ve depolama sırasında pH seviyesini değiştiren organik asitler üretme yeteneğine sahiptir (Ricci vd., 2018). Bu çalışmada, LAB ile fermente edilen gül sirkesi örneklerinin pH değerlerinin 3,58-3,65 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Farklı suşlar kullanılarak fermente edilen gül sirkesi örneklerinde depolamanın 3. ve 7. günlerinde pH değerleri açısından önemli bir farklılık olduğu belirlenmiştir (p<0,05). *L. plantarum* ile fermente edilen GS1 sirke örneğinin depolama sonundaki pH değeri, depolama başlangıcına göre azalış göstermiştir (p<0,05). Bu çalışmada elde edilen pH sonuçları, Özdemir vd. (2022) tarafından tespit edilen alıç sirke örneklerinin pH değerleri (3,53-3,63±0,1) ve Bayram vd. (2020) tarafından tespit edilen Trabzon hurması sirke örneklerinin pH değerleri (3,64) ile benzerlik göstermiştir.

LAB ilaveli gül sirkesi örneklerinin toplam titrasyon asitliği değerleri depolama süresinin sonunda asetik asit cinsinden %2,45-2,74 aralığında değişmiştir. Araştırma bulguları, Şengün vd. (2020) tarafından geleneksel yöntemlerle üretilen farklı sirke örneklerinde belirlenen titrasyon asitliği değer aralığına (1,11-5,61) benzer bulunmuştur. Farklı LAB kullanılarak üretilen gül sirkesi örneklerinde depolamanın 3. ve 7. günlerinde tespit edilen titrasyon asitliği değerleri, hem sirke çeşidi hem de depolama günleri açısından farklılık göstermiştir (p<0,05). Toplam titrasyon asitliği değeri depolamanın sonunda LAB suşu kullanılmayan kontrol grubunda en düşük düzeyde kalmıştır. Bu çalışmada depolama boyunca pH değerlerinde

önemli düzeyde değişiklik saptanmazken GS1, GS3 ve GS4 sirke örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinde önemli düzeyde artış gözlemlenmiştir (p<0,05). Araştırmacılar, toplam titrasyon asitliği değerinin artmasının, esas olarak asetik asit ve diğer organik asitlerin üretilmesinden kaynaklanabileceğini, ayrıca pH değerinin stabilitesinin ise organik asidin zayıf bir asit özelliği göstermesinden dolayı olabileceğini belirtmektedir (Özdemir vd., 2022). Depolama sonunda en yüksek toplam asitlik değeri *L. plantarum* ve *Lc. lactis* içeren GS1 (%2,68) ve GS4 (%2,74) sirke örneklerinde tespit edilmiştir. Bu farklılıkların suş çeşitliliğinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada başlatıcı kültür özellikleri olan 4 farklı LAB’nin gül sirkesinin fermentasyonunda kullanımının mikrobiyal flora üzerine etkileri Çizelge 4’te verilmiştir.

Sirke örneklerine fermentasyon sırasında eklenen PeLb75 *L. plantarum* suşu ile *Lactobacillus* spp. sayısı depolamanın 1. gününde 5,70 log KOB/mL düzeyinde belirlenmiştir. Depolama süresinin sonunda, *L. plantarum* içeren GS1 sirke örneğinin *Lactobacillus* sayısı artış göstererek 6,00 log KOB/mL düzeyine ulaşmıştır. Bunun nedeni bu suşun düşük pH gibi stres faktörlerine karşı kısa sürede tepki vermiş olması ve bu sayede *L. plantarum*’un büyümesinin kuvvetli bir şekilde metabolize olduğunu düşündürmektedir. Buna ilave olarak, kontrol grubunda fermentasyon sonunda *Lactobacillus* ve *Lactococcus* düzeyi <5 log altında iken LAB ilave edilen gruplarda 5,0 log KOB/mL’den daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, seçilen LAB suşlarının gül sirkesini uygun bir

substrat olarak fermente edebileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, 7 günlük depolama sonunda kontrol grubunun laktobasil ve laktokok sayıları sırasıyla 4,98 ve 4,93 log KOB/mL düzeyine düşmüştür. Depolama süresi arttıkça, önemli miktarda metabolit birikimi ile gül sirkesinde LAB'nin kullanabileceği bileşenlerin önemli ölçüde azaldığı düşünülmüştür. Asetik asit bakteri sayısı depolama süresince GS2 ve GS4 örneklerinde önemli düzeyde azalış göstermiştir

($p<0,05$). 7 günlük depolama sonunda örnekler arasında en yüksek asetik asit bakteri sayısı *L. plantarum* içeren GS1 örneğinde 6,55 log KOB/mL ile en yüksek düzeyde belirlenmiştir ($p<0,05$). Bulgularımız Şengün vd. (2022)'nin meyve sirkelerinde yaptığı çalışmada sirke örneklerinde belirlenen asetik asit (2,54-7,05 log KOB/mL) ve laktik asit (1,91-6,81 log KOB/mL) bakteri sayıları aralığına benzer bulunmuştur.

Çizelge 4. Gül sirkesi örneklerinin bazı mikrobiyolojik özellikleri
Table 4. Some microbiological properties of rose vinegar samples

Sirke grubu Vinegar group	1. gün 1. day	3.gün 3. day	7. gün 7. day	
<i>Lactobacillus</i> spp.	Kontrol	5,64±0,07 ^{Ab}	5,00±0,13 ^{Bb}	4,98±0,07 ^{Bb}
	GS1	5,70±0,45 ^{Ab}	6,06±0,15 ^{Aa}	6,00±0,16 ^{Aa}
	GS2	5,54±0,20 ^{Ab}	5,07±0,34 ^{Ab}	5,00±0,35 ^{Ab}
	GS3	6,22±0,38 ^{Aab}	6,04±0,15 ^{Aa}	5,99±0,14 ^{Aa}
	GS4	6,69±0,16 ^{Aa}	5,15±0,14 ^{Bb}	5,12±0,15 ^{Bb}
<i>Lactococcus</i> spp.	Kontrol	5,53±0,21 ^{Aa}	4,97±0,09 ^{Ba}	4,93±0,07 ^{Bb}
	GS1	5,81±0,27 ^{Aa}	5,27±0,40 ^{ABa}	5,15±0,04 ^{Bab}
	GS2	5,96±0,55 ^{Aa}	5,47±0,28 ^{Aa}	5,40±0,24 ^{Aab}
	GS3	5,90±0,35 ^{Aa}	5,67±0,34 ^{Aa}	5,59±0,36 ^{Aa}
	GS4	6,33±0,26 ^{Aa}	5,22±0,22 ^{Ba}	5,19±0,21 ^{Bab}
Asetik asit bakterisi <i>Acetic acid bacteria</i>	Kontrol	5,93±0,12 ^{Aab}	5,28±0,06 ^{Bbc}	5,24±0,03 ^{Bbc}
	GS1	5,88±0,23 ^{Bbc}	6,58±0,07 ^{Aa}	6,55±0,07 ^{Aa}
	GS2	5,23±0,05 ^{Ac}	4,86±0,03 ^{Bd}	4,73±0,11 ^{Bd}
	GS3	5,99±0,41 ^{Aab}	5,44±0,29 ^{Ab}	5,42±0,32 ^{Ab}
	GS4	6,62±0,37 ^{Aa}	5,03±0,03 ^{Bcd}	5,00±0,12 ^{Bcd}
Maya-küf <i>Mold-yeast</i>	Kontrol	6,15±0,18 ^{Aa}	5,77±0,07 ^{Bb}	5,70±0,07 ^{Bb}
	GS1	6,04±0,42 ^{Aa}	6,53±0,08 ^{Aa}	6,48±0,08 ^{Aa}
	GS2	5,70±0,09 ^{Aa}	5,52±0,05 ^{Bb}	5,51±0,06 ^{Bb}
	GS3	5,80±0,27 ^{Aa}	5,46±0,19 ^{Ab}	5,38±0,20 ^{Ab}
	GS4	6,35±0,47 ^{Aa}	5,61±0,22 ^{ABb}	5,35±0,21 ^{Bb}

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ve aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B, C, D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

*Different lowercase letters (a, b, c, d) in the same column and different capital letters (A, B, C, D) in the same row indicate the statistical difference between the mean values ($p<0,05$).

Sirkede meydana gelen bozulmalar, genellikle maya ve küf gibi istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesi sonucunda, ortam asitlik değerinin düşmesiyle gerçekleşmektedir (Giudici vd., 2017). Ayrıca, bu mikroorganizmalar oksidatif ve fermentatif aktivite, CO₂ kaynaklı bozunma ve diğer bozunma faktörlerinin aktivitelerine izin verdikleri için fermantasyon sırasında istenmezler. Ancak metabolizmalarının bir sonucu olarak diasetil gibi aroma maddeleri üreterek ürünün aroma gelişimine de yardımcı olabilirler. Bu çalışmada, LAB ilave edilen gül sirkesi gruplarında toplam maya-küf düzeyi 5,35-6,53 log KOB/mL aralığında belirlenmiştir. Depolamanın 3. gününde GS2 ve GS4 sirke örneklerinde maya-küf canlılığı azalmış ve tüm gruplar fermantasyonu, ortalama 5 log KOB/mL üzerinde tamamlamıştır. Bu sonuç, muhtemelen mayalanabilir şekerin birincil fermantasyon bittikten sonra ortamda kalması ve mayaların bu şekerleri tüketerek asit inhibisyonuna

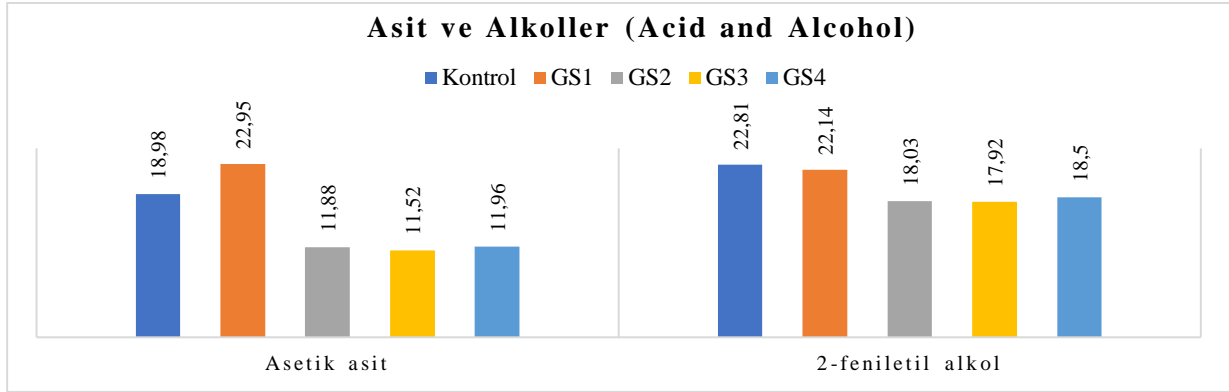
kadar ikincil fermantasyon aşamasında yer aldığı sonucunu düşündürmektedir. Fermente ürünlerde pH değerinin 4,5'in altına düşürülmesi ile *Enterobacteriaceae* gelişiminde sınırlayıcı faktör olabileceği bildirilmektedir (Özer ve Kalkan Yıldırım, 2018). Çalışmamız kapsamında da sirke örneklerinde fermantasyon sırasında ve sonunda *Enterobacteriaceae* saptanmamıştır. Ayrıca bu durum asetik asidin de laktik asit gibi diğer organik asitler ile beraber iyi bir koruyucu olmasından kaynaklı olabilir.

Gül sirkesi örneklerinde tespit edilen asit ve alkol ile terpen ve ester bileşiklerinin kimyasal gruplarına göre sınıflandırılmaları ve toplam % alanları Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir. Sirke örneklerinde 24 adet uçucu bileşen saptanmış, bunların 2'si alkol, 3'ü asit, 10'u ester, 8'i terpen ve 1'inin ise aldehit grubundan oluştuğu tespit edilmiştir. Gül sirkesi örneklerinde GC-MS ile öne

çıkan uçucu bileşenler; asetik asit, 2-feniletıl alkol, feniletıl asetat, etıl asetat, sitronelıl asetat, β -sitronellol, metıl öjenol ve gül-oksittir.

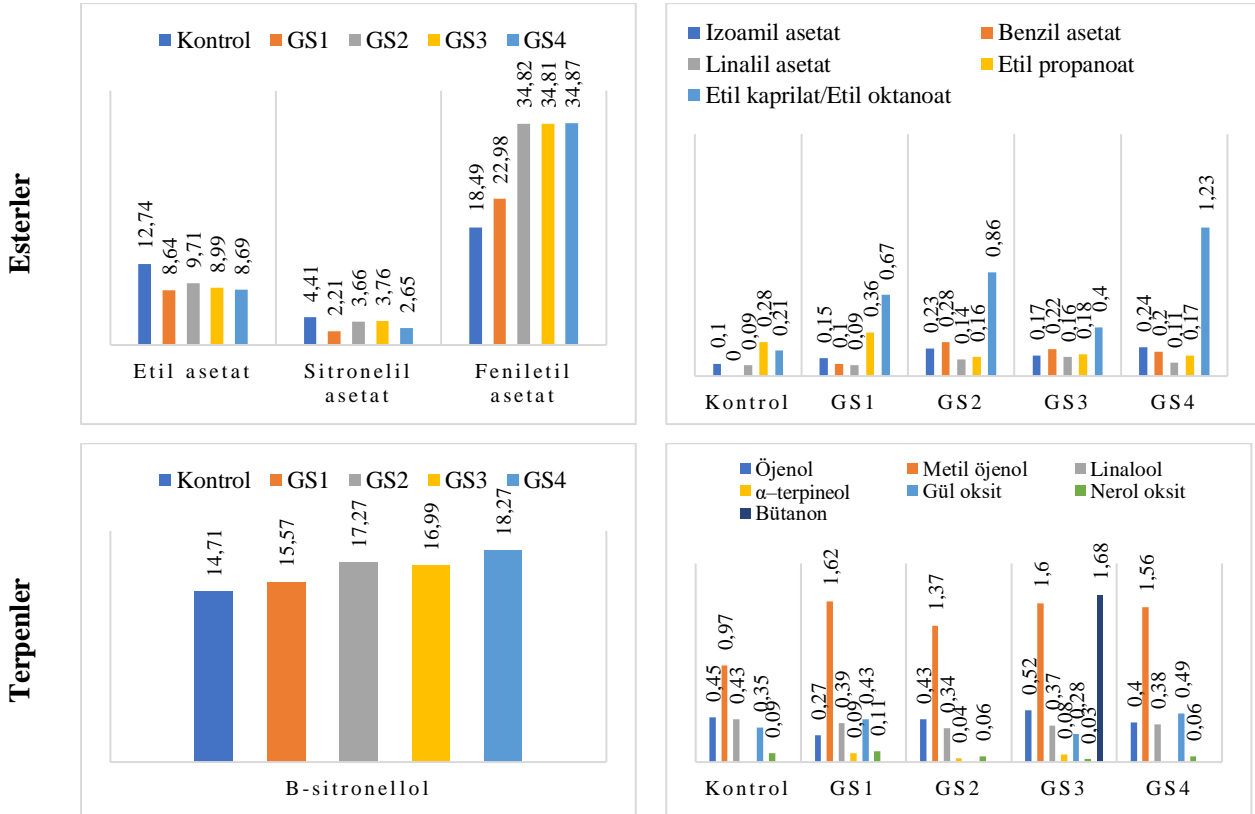
Laktik asit bakterilerinin yanı sıra mayaların da organik asit ürettiği bilinmektedir (Mukherjee vd. 2020). Çalışma kapsamında LAB ilave edilmeyen kontrol grubunda farklı miktarlarda organik asitlerin bulunması, gül sirkesinde doğal olarak bulunan mayalar tarafından da üretilebileceğini düşündürmüştür. Sirkenin ana ürünü, keskin ve ekşi tadın oluşmasında etkili olan asetik asit *L.*

plantarum içeren sirke grubunda %22,95 ile en yüksek oranda bulunmuştur. Bu durum aynı sirke grubunun asetik asit bakteri düzeyinin yüksek olması ile benzerlik göstermiştir. Çiçek, bal ve gül aromaları veren feniletıl alkol (eşik değeri; 0,2 mg/L) (FEMA, 2022) tespit edilen alkol grupları arasında en yüksek orana sahip bileşik olarak saptanmıştır. Bu çalışmada, LAB ilaveli gül sirke örneklerinde ester gruplarından feniletıl asetat ve etıl asetat bazı araştırmacıların sonuçlarına benzer şekilde en sık rastlanan ester bileşikleridir (Öztürk vd., 2015; Şengün ve Kılıç, 2019).



Şekil 1. LAB ilave edilen gül sirkesi örneklerinde GC-MS ile tespit edilen asit ve alkollerin kimyasal gruplarına göre sınıflandırılmaları (%alan)

Figure 1. Classification of acids and alcohols detected by GC-MS in rose vinegar samples added to the LAB according to their chemical groups (area%)



Şekil 2. LAB ilave edilen gül sirkesi örneklerinde GC-MS ile tespit edilen ester ve terpenlerin kimyasal gruplarına göre sınıflandırılmaları (%alan)

Figure 2. Classification of esters and terpenes detected by GC-MS in rose vinegar samples added to the LAB according to their chemical groups (area%)

Etil asetat bileşiğinin üzüm şaraplarında yaygın bulunan bir ester olduğu ve bakteriyel fermantasyon sırasında üretildiği bildirilmektedir (Ribereau-Gayon vd., 2006). Çiçek, meyve, bal ve gül tatları (eşik değeri; 0,09 mg/L) (FEMA, 2022) veren feniletıl asetat kontrol grubuna göre *Lc. lactis* ve *E. faecium* içeren sirke gruplarında yüksek oranda belirlenmiştir. Bu sonuç, seçilen suşların hetero ve homo fermentatif özellikleri ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu çalışma kapsamında sitronelıl asetat bileşiği gül sirkesi örneklerinde yaygın bulunan 3. ester bileşiğidir. Uçucu bileşen bulgularına göre narenciye ve gül aromaları veren β -sitronellol terpen bileşiği gül sirke örneklerinde yüksek oranda bulunarak aromaya katkıda bulunmuştur. Bunun yanında gül sirkesi örneklerinde gül oksit gibi gül bitkisine özgü terpen türevi bileşiklerde ortaya çıkmıştır. Bu durum LAB ilaveli sirke örneklerinin aromatik ve biyoaktif sirke üretimi için uygun hammadde içeriklerine sahip olabileceğini düşündürmektedir.

4. Sonuç

Bu çalışmada daha önceden farklı kaynaklardan izole edilen LAB, 16S rRNA dizi analizi ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. Başlatıcı kültür ve asit dirençliliği olan LAB'nin gül sirkesinin fermantasyonunda kullanımı; sirkenin mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal özelliklerini önemli düzeyde etkilemiştir. Kontrol grubuna kıyasla LAB ilave edilen sirke gruplarında bazı ester ve terpen miktarları daha yüksek oranda belirlenmiştir. Bu sonuç, kullanılan LAB'nin gül sirkesinin fonksiyonel özelliklerini desteklediğini göstermiştir. LAB ilave edilerek fermente edilen gül sirkesi örneklerinden elde edilen sonuçlar, *L. plantarum* içeren sirke grubunun depolama sonunda LAB ve asetik asit bakteri sayısının diğer sirke gruplarına göre daha yüksek düzeyde olduğunu göstermiştir. Gül sirkesi örneklerinin LAB düzeyi kullanılan suş çeşidine ve depolama süresine bağlı olarak değişmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan LAB suşları gül sirkesinin fermantasyonda mikrobiyal florayı kontrol altında tutup sirkede kalite parametrelerinin iyileştirilmesine ve fermantasyonun standartlaştırılmasına yardımcı olarak gül sirkesinin fonksiyonel özelliklerini destekleyebilir.

5. Teşekkür

Bu çalışma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur Gıda Tarım ve Hayvancılık

Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı Laboratuvarı imkânlarıyla gerçekleştirilmiştir.

6. Kaynaklar

Alizadeh, Z., and Fattahi, M. (2021). Essential oil, total phenolic, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity of cultivated damask rose (*Rosa damascena*) from Iran: with chemotyping approach concerning morphology and composition. *Scientia Horticulturae*, 288, 110341.

Alp, D. ve Öner, Z. (2014). Bazı laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençlilikleri ve aroma maddeleri oluşturma özelliklerinin belirlenmesi. *Gıda*, 39(6), 331-337.

AOAC. (1992). Association of official analytical chemists. Washington: Official Methods of Analysis.

Azizi, F., Najafi, M.B.H. and Dovom, M.R.E. (2017). The biodiversity of *Lactobacillus* spp. from Iranian raw milk Motal cheese and antibacterial evaluation based on bacteriocin-encoding genes. *AMB Express*, 7(1):1–10.

Baydar, N.G. and Baydar, H. (2013). Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 41, 375-380.

Bayram, Y., Özkan, K. and Sağdıç, O. (2020). Bioactivity, physicochemical and antimicrobial properties of vinegar made from persimmon (*Diospyros Kaki*) peels. *Sigma: Journal of Engineering and Natural Sciences*, 38(3):1643-1652.

Budak, N.H., Aykin, E., Seydim, A.C., Greene, A.K. and Güzel-Seydim, Z.B. (2014). Functional properties of vinegar. *Journal of Food Science*, 79(5), R757-R764.

Chen, Y., Huang, Y., Bai, Y., Fu, C., Zhou, M., Gao, B., ... and Xu, N. (2017). Effects of mixed cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* in alcoholic fermentation on the physicochemical and sensory properties of citrus vinegar. *LWT*, 84, 753-763.

Edalati, M.R., Najafi, M.B.H., Mortazavi, S.A., Alegría, Á., Nassiri, M.R., Bassami, M.R., and Mayo B. (2012a). Microbial diversity of the

traditional Iranian cheeses Lighvan and Koozeh, as revealed by polyphasic culturing and culture-independent approaches. *Dairy Science Technology*, 92(1):75–90.

Edalatian, M. R., Habibi Najafi, M.B., Mortazavi, A. and Mayo, B. (2012b). The biodiversity and evolution of lactic flora during ripening of the Iranian semisoft Lighvan cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1), 81–89.

Ertürkmen, P. ve Öner, Z. (2015). Beyaz peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin başlatıcı (starter) kültür özelliklerinin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(3), 9-16.

FDA-BAM (Food and Drug Administration-Bacteriological Analytical Manual) (2001). Aerobic Plate Count. Available from: <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/lab-ora-torymethods/ucm063346.htm> [Accessed 25 July 2017].

FEMA. (2022). The flavor and extract manufacturers association.

Galal, T.M., Al-Yasi, H.M., Fawzy, M.A., Abdelkader, T.G., Hamza, R.Z., Eid, E.M. and Ali, E. F. (2022). Evaluation of the phytochemical and pharmacological potential of taif's rose (*Rosa damascena* Mill var. *trigintipetala*) for possible recycling of pruning wastes. *Life*, 12(2), 273.

Giudici, P., De Vero, L. and Gullo, M. (2017). Vinegars. Chapter 10. In *Acetic acid bacteria: Fundamentals and Food Applications* (Ed. Şengün, I.Y.). CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 261-287p.

Güçer, Y. (2016). *Bazı üzüm çeşitlerinde farklı proses uygulamalarının üzüm şirasının aroma bileşenleri üzerindeki etkisi* (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara

Hamza, R.Z., Al-Yasi, H.M., Ali, E.F., Fawzy, M.A., Abdelkader, T.G. and Galal, T.M. (2022). Chemical characterization of Taif Rose (*Rosa damascena* Mill var. *trigintipetala*) waste methanolic extract and its hepatoprotective and antioxidant effects against cadmium chloride (CdCl₂)-induced hepatotoxicity and potential anticancer activities against liver cancer cells (HepG₂). *Crystals*, 12(4), 460.

Hidalgo, C., Vegas, C., Mateo, E., Tesfaye, W., Cerezo, A.B., Callejón, R.M., ... and Torija, M. J. (2010). Effect of barrel design and the inoculation of *Acetobacter pasteurianus* in wine vinegar

production. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1-2), 56-62.

Karabıyıklı, S. and Şengün, I.Y. (2017). Beneficial effects of acetic acid bacteria and their food products. Chapter 13. In *acetic acid bacteria: Fundamentals and Food Applications* (Ed. Şengün, I. Y.). CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 221-242p.

Labban, L. and Thallaj, N. (2020). The medicinal and pharmacological properties of Damascene Rose (*Rosa damascena*): A review. *International Journal of Herbal Medicine*, 8, 33-37.

Lei, M. (2000). Function of microorganisms and enzymes in vinegar production by solid state fermentation. *Chinese Condiment*, 9, 20-22.

Lertworapreecha, N., Poonsuk, K. and Chalermchakit, T. (2011). Selection of potential *Enterococcus faecium* isolated from Thai native chicken for probiotic use according to the in vitro properties. *Songklanakarın Journal of Science and Technology*, 33 (1).

Maragkoudakis, P., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B. and Tsakalidou, E. (2006). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16, 189-199

Mileva, M., Ilieva, Y., Jovtchev, G., Gateva, S., Zaharieva, M. M., Georgieva, A., ... and Najdenski, H. (2021). Rose flowers A delicate perfume or a natural healer?. *Biomolecules*, 11(1), 127.

Moein, M., Etemadfard, H. and Zarshenas, M. M. (2016). Investigation of different Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) oil samples from traditional markets in Fars (Iran); focusing on the extraction method. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 51-58.

Muñoz-Quezada, S., Chenoll, E., Vieites, J.M., Genovés, S., Maldonado, J., Bermúdez-Brito, M., ... and Gil, A. (2013). Isolation, identification and characterisation of three novel probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I4036) from the faeces of exclusively breast-fed infants. *British Journal of Nutrition*, 109 (2), 51-62.

Mukherjee, A., Verma, J.P., Gaurav, A.K., Chouhan, G.K., Patel, J.S. and Hesham, A.E.L. (2020). Yeast a potential bio-agent: future for plant growth and postharvest disease management for sustainable agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(4), 1497-1510.

- Nie, J., Li, Y., Xing, J., Chao, J., Qin, X. and Li, Z. (2019). Comparison of two types of vinegar with different aging times by NMR-based metabolomic approach. *Journal of Food Biochemistry*, 43(5), e12835.
- Öztürk, I., Çalışkan, O., Tornuk, F., Özcan, N., Yalçın, H., Başlar, M. and Sağdıç, O. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 63(1), 144–151.
- Özdemir, G.B. (2019). *Alıç sirkesinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi*. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, (Yüksek Lisans Tezi), 83 sy.
- Özdemir, G.B., Özdemir, N., Ertekin-Filiz, B., Gökırmaklı, Ç., Kök-Taş, T. and Budak, N. H. (2022). Volatile aroma compounds and bioactive compounds of hawthorn vinegar produced from hawthorn fruit (*Crataegus tanacetifolia* (lam.) pers.). *Journal of Food Biochemistry*, 46(3), e13676.
- Özdemir, N. and Budak, N.H. (2022). Bioactive compounds and volatile aroma compounds in rose (*Rosa damascena* Mill.) vinegar during the aging period. *Food Bioscience*, 50, 102062.
- Özdemir, N., Pashazadeh, H., Zannou, O. and Koca, I. (2022). Phytochemical content, and antioxidant activity, and volatile compounds associated with the aromatic property, of the vinegar produced from rosehip fruit (*Rosa canina* L.). *LWT*, 154, 112716.
- Özer, C. and Kalkan Yıldırım, H. (2018). Production of pickles by mixed culture fermentation. *The American Journal of Chemical Applied*, 5, 57-68.
- Reis, N.A., Saraiva, M.A., Duarte, E.A., de Carvalho, E.A., Vieira, B.B. and Evangelista-Barreto, N.S. (2016). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from human milk. *Journal of Applied Microbiology*, 121 (3), 811-20.
- Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. (2006). Alcohols and other volatile compounds. *Handbook of Enology*, 51-64. John Wiley and Sons, Ltd.
- Ricci, A., Cirlini, M. and Levante, A. (2018). Volatile profile of elderberry juice: Effect of lactic acid fermentation using *L. plantarum*, *L. rhamnosus* and *L. casei* strains. *Food Research International*. 105:412–22.
- Sanchez-Palomo, E., Diaz-Maroto, M. C. and Perez-Coello, M. S. (2005). Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS. *Talanta*, 66(5), 1152-1157.
- Şengün, I.Y., Kılıç, G., Charoenyingcharoen, P., Yukphan, P. and Yamada, Y. (2022). Investigation of the microbiota associated with traditionally produced fruit vinegars with focus on acetic acid bacteria and lactic acid bacteria. *Food Bioscience*, 47, 101636.
- Şengün, I.Y., Kılıç, G. and Ozturk, B. (2020). Screening physicochemical, microbiological and bioactive properties of fruit vinegars produced from various raw materials. *Food Science and Biotechnology*, 29(3): 401–408.
- Wu, J.J., Ma, Y.K., Zhang, F.F. and Chen, F. S. (2012). Biodiversity of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in the fermentation of “Shanxi aged vinegar”, a traditional Chinese vinegar. *Food Microbiology*, 30(1), 289-297.
- Xie, J., Li, M.X., and Du, Z.Z. (2022). Chemical compounds, anti-aging and antibacterial properties of *Rosa rugosa* Purple branch. *Industrial Crops and Products*, 181, 114814.
- Younis, I.Y., El-Hawary, S.S., Eldahshan, O.A., Abdel-Aziz, M.M. and Ali, Z.Y. (2021). Green synthesis of magnesium nanoparticles mediated from *Rosa floribunda* charisma extract and its antioxidant, antiaging and antibiofilm activities. *Scientific Reports*, 11(1), 1-15.