

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**GELENEKSEL YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN İNCİR
SİRKESİNİN MİKROBİYOLOJİK, FİZİKSEL VE
KİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Gülden KILIÇ

Tez Danışmanı : Doç. Dr. İlkin ŞENGÜN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi : 10.08.2017

Bornova-İZMİR

2017

Gülden KILIÇ tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan ‘‘Geleneksel Yöntemlerle retilen İncir Sirkesinin Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal zellikleri’’ başlıklı bu alışma E Lisansüstü Eğitim ve ğretim Yönetmeliği ile E Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve ğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 10.08.2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oycokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri yeleri:

İmza

Jüri Başkanı

: Doç. Dr. İlkin şENGüN

.....

Raportör ye

: Prof. Dr. Duygu KIşLA

.....

ye

: Yrd. Doç. Dr. Seval DAğBAğLI

.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Geleneksel Yöntemlerle Üretilen İncir Sirkesinin Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

10/08/2017

Güliden KILIÇ

ÖZET

GELENEKSEL YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN İNCİR SİRKESİNİN MİKROBİYOLOJİK, FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

KILIÇ, Gülден

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İlkin ŞENGÜN

Ağustos 2017, 86 sayfa

Bu çalışmada, Aydın, Antep ve İzmir illerinden toplanan ev yapımı incir sirkelerinin mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında sirke örneklerinin mikrobiyolojik özelliklerini belirlemek amacıyla küf-maya, laktik asit bakterisi (LAB) ve asetik asit bakterisi (AAB) sayımları yapılmış, AAB sayımının yapıldığı petrilerden ayrıca izolatlar alınarak fenotipik olarak tanımlanmıştır. Örneklerde maya, LAB ve AAB sayılarının sırasıyla 1,44-7,10 log KOB/mL, 1,91-6,81 log KOB/mL ve 2,54-7,05 log KOB/mL arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında toplam 65 adet AAB izolatı tanımlanmıştır. Elde edilen izolatlar biyokimyasal tanımlama testleriyle fenotipik olarak tanımlanmış, izolatların %41,5'ini *Komagateibacter xylinus*, %21,5'ini *Asaia spp.*, %12,3'ünü *Acetobacter aceti*/A. *persici*, %4,61'ini *A. cerevisiae*/A. *malorum*, %4,61'ini *A. peroxydans*/A. *cibirangensis*, %4,61'ini *A. okinawensis*, %3'ünü *A. farinalis*, %3'ünü *Saccharibacter floricola*, %1,5'ini *Granulibacter bethesdensis*, %1,5'ini *A. ghanensis*, %1,5'ini ise *Gluconobacter thailandicus*'un oluşturduğu belirlenmiştir. Tanımlanan türler arasında yer alan *A. farinalis*, *G. thailandicus*, *Gr. bethesdensis* ve *Sa. floricola*, daha önce sirkeden izole edilmeyen türlerdir.

Çalışmanın son aşamasında sirke örneklerinin pH, Briks, toplam asitlik, uçar asit, uçmayan asit, kalıntı alkol, özgül ağırlık, kül, renk, toplam fenolik madde ve

antioksidan aktivite değerleri incelenmiştir. Örneklerin pH değerleri 3,51-3,75, Briks değerleri 1,30-21,2, toplam asitlik değerleri asetik asit cinsinden 1,93-4,87 g/100 mL, uçar asit miktarı 1,25-3,67 g/100 mL, uçmayan asit miktarı 0,24-1,20 g/100 mL, kalıntı alkol %2,04-3,09, zgl ağırlık 0,9955-0,9970, kül miktarı 2,6-11,5 g/L, renk değerleri L* 5,36-15,42; a* -1,65-8,51 ve b* 3,96-8,29, toplam fenolik madde miktarı 313,5-594,25 mg GAE/L ve antioksidan aktivite değerleri %10,38-73,79 arasında değişim göstermiştir.

Anahtar sözcükler: ncir sirkesi, asetik asit bakterileri, fenotipik tanımlama, kalite zellikleri.

ABSTRACT**MICROBIOLOGICAL, PHYSICAL AND CHEMICAL
PROPERTIES OF FIG VINEGAR PRODUCED BY TRADITIONAL
METHODS**

KILIÇ, Gül den

MSc in Food Eng.

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İlkin ŞENGÜN

August 2017, 86 pages

In this study, the microbiological, physical and chemical properties of home made fig vinegars collected from Aydın, Antep and İzmir were investigated. In the first stage of the study, in order to determine the microbiological characteristics of the vinegar samples, mold-yeast, lactic acid bacteria (LAB) and acetic acid bacteria (AAB) counts were determined and the isolates, which were collected from the plates used for AAB count, were identified phenotypically. Yeast, LAB and AAB numbers of the samples were in the range of 1.44-7.10 log CFU/mL, 1.91-6.81 log CFU/mL and 2.54-7.05 log CFU/mL, respectively.

In the second stage of the study, a total of 65 AAB isolates were identified phenotypically by biochemical identification tests. *Komagateibacter xylinus* was found to constitute 41.5% of the isolates, 21.5% of the isolates were identified as *Asaia* spp., 12.3% as *Acetobacter aceti*/A. *persici*, 4.61% as *A. cerevisiae*/A. *malorum*, 4.61% as *A. peroxydans*/A. *cibirangensis*, 4.61% as *A. okinawensis*, 3% as *A. farinalis*, 3% as *Saccharibacter floricola*, 1.5% as *Granulibacter bethesdensis*, 1.5% as *A. ghanensis* and 1.5% as *Gluconobacter thailandicus*. Among the identified species, *A. farinalis*, *G. thailandicus*, *Gr. bethesdensis* and *Sa. floricola* are the species that has not been isolated before from vinegar.

In the last stage of the study, pH, Brix, total acidity, volatile acidity, non-volatile acidity, residual alcohol, specific gravity, ash, color, total phenolic content and antioxidant activity of vinegar samples were investigated. The pH values of the samples were 3.51-3.75, Brix values 1.30-21.2, total acidity in terms of acetic acid 1.93-4.87 g/100 mL, volatile acidity 1.25-3.67 g/100 mL, non-volatile acidity 0.24-

1.20 g/100 mL, the residual alcohol contents 2.04-3.09%, the specific gravity 0.9955-0.9970, ash contents 2.6-11.5 g/L, the color values 5.36-15.42 L*; -1.65-8.51 a* and 3.96-8.29 b *, total phenolic contents 313.5-594.25 mg GAE/L and the antioxidant activities 10.38-73.79%.

Keywords: Fig vinegar, acetic acid bacteria, phenotypic identification, quality properties.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen ve vermiş olduğu manevi desteklerden dolayı tez danışmanım sayın Doç. Dr. İlkin ŞENGÜN'e, bilgilerinden yararlandığımız Prof. Dr. Yuzo Yamada'ya, laboratuvar çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen Tekn. Figen BECERİK'e, Tekn. Tülay ÜZEL'e, Tekn. Berna ŞENGÜL ERDOĞAN'a ve Berna ÖZTÜRK'e çok teşekkür ederim. Son olarak hayatım boyunca maddi-manevi destekleriyle hep yanımda olan annem Zeliha KILIÇ'a, babam Mustafa KILIÇ'a, ablalarıma ve kardeşim Mehmet Ali KILIÇ'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1 Sirke: Tanımlar ve Standartlar	3
2.2 Sirke Üretim Yöntemleri	5
2.2.1 Yavaş yöntem	6
2.2.2 Hızlı yöntem	7
2.2.3 Derin kültür yöntemi (submers yöntemi)	7
2.3 Sirke Çeşitleri	8
2.3.1 Meyve sirkeleri	9
2.3.2 Hububat sirkeleri	12
2.3.3 Geleneksel balsamik sirke	12

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.3.4 Diğer sirkeler	13
2.4 Sirkede Bulunan Mikroorganizma Grupları	14
2.4.1 Asetik asit bakterileri (AAB)	14
2.4.2 Mayalar	20
2.4.3 Küfler	22
2.4.4 Laktik asit bakterileri (LAB)	22
2.5 Sirke Özelliklerinin İncelendiği Çalışmalar	22
2.6 Sirkenin Sağlık Üzerine Etkileri	25
3.MATERYAL VE METOT	28
3.1 Materyal	28
3.2 Metot	29
3.2.1 Mikrobiyolojik analizler	29
3.2.2 Fiziksel ve kimyasal analizler	34
3.2.3 İstatistiksel analizler.....	37
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	38

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.1 İncir Sirkelerinin Mikrobiyolojik Özellikleri	38
4.2 İncir Sirkesinden AAB'lerinin İzolasyonu ve Fenotipik Olarak Tanımlanması	41
4.3 İncir Sirkelerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	57
4.3.1 pH	57
4.3.2 Briks.....	58
4.3.3 Toplam asit, uçar asit ve uçmayan asit	59
4.3.4 Alkol	60
4.3.5 Özgül ağırlık	61
4.3.6 Kül	61
4.3.7 Renk	61
4.3.8 Toplam fenolik madde	63
4.3.9 Antioksidan aktivite	64
5. SONUÇ.....	66
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	68
ÖZGEÇMİŞ.....	86

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Elma sirkesi üretimi	11
3.1 Geleneksel yöntemlerle incir sirkesi üretimi	29
3.2 Gallik asit standart kalibrasyon grafiği	36
4.1 İncir sirkelerinin renk özellikleri.....	62
4.2 İncir sirkelerinin toplam fenolik madde içerikleri	63
4.3 İncir sirkelerinde antioksidan aktivite.....	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Dünyanın değişik ülkelerinde farklı hammaddelerden üretilen bazı sirke çeşitleri	8
2.2 Asetik asit bakterilerinin karakteristik özellikleri.....	15
2.3 Farklı sirkelerden izole edilen AAB türleri	19
3.1 Sirke örnekleri ve üretim yerleri	28
4.1 İncir sirkelerinin mikrobiyolojik özellikleri	39
4.2 AAB'si izolatlarına ait bazı biyokimyasal analiz sonuçları	42
4.3 Karbohidrat testi sonuçları	49
4.4 AAB'si izolatlarına ait fenotipik tanımlama sonuçları	53
4.5 İncir sirkesinden izole edilen 65 adet izolatın tür düzeyinde dağılımları.....	56
4.6 İncir sirkelerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri	58

1. GİRİŞ

Sirke karbonhidrat içeren farklı hammaddelerden, mayalar ve asetik asit bakterileri (AAB) aracılığıyla üretilen özel bir üründür. Sirkede bulunan organik asitler (asetik asit, tartarik, malik, laktik, sitrik vb.), uçucu bileşikler, fenolik bileşikler, amino asitler, vitaminler ve melanoidinler sirkenin organoleptik özelliklerinde önemli rol oynamaktadır. Sirkede bulunan bu maddelerin antimikrobiyal, antioksidan, antidiyabetik, antitümör, antikarsinojenik, antienfeksiyon etkilerinin olduğu ve çeşitli sağlık uygulamalarında kullanıldığı bildirilmektedir (FDA, 1989; Karabiyikli and Sengun, 2017). Bu nedenledir ki sirke çok eski yıllardan bu yana çeşitli gıdalarda aroma verici ve koruyucu olarak ve aynı zamanda bazı hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Plessi, 2003).

Dünyanın değişik bölgelerinde farklı sirke çeşitleri üretilmektedir. Sirke üretiminde hammadde olarak meyve, tahıl ve şeker miktarı yüksek diğer gıdalar kullanılabileceği gibi şarap, bira gibi alkollü içecekler de kullanılabilmektedir (Plessi, 2003; Guizani and Mothershaw, 2006). Son yıllarda kendine özgü duysal özellikleri olan meyve ve sebze sirkeleri dünya pazarında daha çok görülmeye ve daha çok tüketilmeye başlamıştır (Shahidi et al., 2008).

İncir sirkesi, ülkemizde farklı bölgelerde geleneksel yöntemlerle üretilen karakteristik aromaya sahip özel bir üründür. Üretildiği bölgeye bağlı olarak değişim göstermekle birlikte genel olarak yaş incir veya kuru incirden, maya ve asetik asit fermentasyonu sonucu üretilmekte, bazı formülasyonlarda üzüm de kullanılabilmektedir. Literatürde farklı sirkelerin fiziksel, kimyasal ve biyoaktif özellikler açısından incelendiği birçok çalışma bulunmasına karşın incir sirkesi üzerine yapılmış sadece bir çalışma bulunmaktadır.

Bu çalışmada geleneksel yöntemlerle farklı bölgelerde üretilen incir sirkelerinin mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında incir sirkesinin mikrobiyal florasını belirlemek amacı ile küf-maya, laktik asit bakterisi (LAB) ve AAB'si sayımları yapılmış ve spesifik olarak incir sirkesi üretiminde rol alan AAB'leri izole edilip

fenotipik olarak tanımlanmıştır. Böylece incir sirkesinde bulunan ve fermantasyonda rol alan AAB'lerinin üretildiklere şehirlere bağlı olarak gösterdikleri çeşitlilik belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca incir sirkesinde pH, toplam asitlik, uçar asit, uçmayan asit, kalıntı alkol, kül, özgül ağırlık, renk, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriğini belirlemek adına fiziksel ve kimyasal analizler yapılmış ve elde edilen veriler TS 1880EN 13188/ D1:2016 sirke standardı ile karşılaştırılarak yorumlanmıştır.

Bu çalışma ile, ülkemize özgü geleneksel fermente bir ürün olan incir sirkesinin bazı kalite özellikleri belirlenmiş ve sirke fermantasyonunda rol alan AAB'lerinin izolasyon ve tanımlamaları yapılmıştır. Elde edilen AAB'si izolatları sayesinde, şu an evlerde geleneksel yöntemlerle üretilmekte olan incir sirkesinin standart kalitede endüstriyel üretiminin gerçekleştirilmesi ve ürün kalitesi ile kalitenin sürekliliğinin sağlanması için gerekli olan altyapı oluşturulmuştur.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Sirke karbonhidrat içeren farklı hammaddelerden, mayalar ve asetik asit bakterileri aracılığıyla üretilen özel bir üründür. Çok eski yıllardan bu yana çeşitli gıdalarda aroma verici ve koruyucu madde olarak kullanılan sirke, aynı zamanda bazı hastalıkların tedavisinde de geleneksel olarak kullanılmaktadır (Plessi, 2003). Günümüzde sirke yaygın bir şekilde yemek ve salatalarda, aynı zamanda turşu, mayonez, salça, salamura, hardal ve diğer benzeri gıda maddelerinin hazırlanmasında ve konserve edilmesinde kullanılmaktadır (Türker, 1963; Plessi, 2003; Tan, 2005).

Eski dönemlerde şarap ve bira gibi alkollü içeceklerin açık kapta kendi hallerine bırakılmaları durumunda sirkeleştiği, diğer bir deyişle alkolün asetik aside dönüştüğü gözlemlenmiş ve bu dönüşüm arzu edilmeyen bir durum olarak değerlendirilmiştir. Ancak zaman içerisinde insanlar bu olayın mekanizmasını incelemiş ve bir süre sonra da sirkeye gereksinim duyar hale gelmişlerdir. Eski yıllara ait eserler, sirkenin M.Ö. 2000’li yıllara dek uzanan bir tarihçesi olduğunu ve farklı toplumlar tarafından üretildiğini göstermektedir (Solieri and Giudici, 2009). Gerçek anlamda sirkeyi öncelikle Mısırlıların keşfetmiş oldukları düşünülmektedir. Bunun dışında İranlılar, Yunanlılar ve Romalılar tarafından sirkenin kullanıldığına dair önemli ipuçları bulunmaktadır (Rosma et al., 2016).

2.1 Sirke: Tanımlar ve Standartlar

Sirkenin tanımı, ülkelere ve tüzüklerine göre değişim göstermektedir. TSE 1880 EN 13188 standardında sirke; "Tarım kökenli sıvılar veya diğer maddelerden, iki aşamalı alkol ve asetik asit fermantasyonuyla, biyolojik yolla üretilen kendine özgü ürün" olarak tanımlanmaktadır. Aynı standartta sirke çeşitleri, üretiminde kullanılan hammaddelere göre; şarap sirkesi, meyve sirkesi, meyve şarabı sirkesi, elma şarabı sirkesi, beyaz sirke, tahıl sirkesi, malt sirkesi, aromalı sirke ve diğer sirkeler olarak belirtilmektedir (TSE, 2016). Ülkemizde üretilen sirkelerde toplam asit içeriğinin (suda serbest asetik asit cinsinden) 40 g/L’den az olmaması gerektiği, şarap sirkelerinde ise bu değerin 60 g/L’nin altına düşmemesi gerektiği, ayrıca kalıntı alkol oranının, şarap sirkesi dışındaki sirkelerde hacimce %0,5, şarap

sirkelerinde hacimce %1,5 ve özel sirkelerde hacimce %3'ten fazla olmaması gerektiği bildirilmektedir (TSE, 2016).

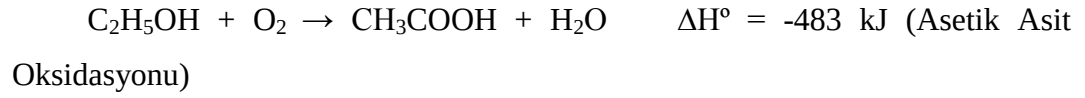
Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agricultural Organization, FAO)/Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) sirkeyi “nişasta ve/veya şeker içeren uygun hammaddeden önce alkol, daha sonra asit fermentasyonu olmak üzere iki aşamalı fermantasyon işlemiyle üretilen insan tüketimine uygun sıvı” olarak tanımlamaktadır. Sirkede kalıntı alkol içeriğinin şarap sirkesi ve diğer sirkelerde sırasıyla en fazla %1,5 ve %1 olması gerektiği bildirilmektedir (Guidici et al., 2017). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) sirkede asit içeriğinin en az %4 olması gerektiğini bildirmektedir. FDA ayrıca şarap, malt, şeker ve alkol gibi maddelerden elde edilen sirkelerin etiketlenmesi ile ilgili *Uyum Politikası Kılavuzları (Compliance Policy Guides)* oluşturmuştur (FDA, 1995).

Avrupa ülkelerinde ise her ülkenin kendi belirlediği kurallara göre sirke üretilmektedir. Bununla birlikte Avrupa’da üretilen sirkelerde asit içeriğinin minimum %5 (g/L), alkol içeriğinin maksimum %0,5 (L/L) olması gerektiği, şarap sirkesinin sadece asetik asit fermantasyonuyla şaraptan elde edilebileceği ve bu sirkelerde asit içeriğinin minimum %6 (g/L), alkol içeriğinin ise minimum %1,5 (L/L) olması gerektiği bildirilmiştir (EC, 1999).

Çin Ulusal Standardında (Chinese National Standard CNS) sirke kelimesi hem fermente hem de yapay sirkeler için kullanılmış ve asetik asit içeriğine bağlı olarak sirkeler üç sınıfa ayrılmıştır: %3,5-4,5; %4,5-6 ve >%6 asetik asit (g/L) (CNS, 2005). Ancak son yıllarda Çin Devlet İdaresi Kalite ve Teknoloji Bürosu (Chinese State Administration Bureau for Quality and Technology) tarafından yeni bir Ulusal Gıda Kodeksi yayınlanmış ve sirkeler olgunlaşmış ya da yapay sirkeler olarak sınıflandırılmıştır (Giudici et al., 2017).

2.2 Sirke Üretim Yöntemleri

Sirke üretimi, mayalar tarafından fermente edilebilir şekerlerin anaerobik şartlarda etil alkole dönüştürülmesi ve ikinci aşamada ortamda bulunan etil alkolün aerobik şartlarda asetik asit bakterileri (AAB) tarafından kullanılarak asetik asidin üretilmesi aşamalarını içermektedir.



Sirke üretiminde etil alkolün asetik aside dönüşümü iki biyokimyasal reaksiyon aracılığı ile gerçekleşmektedir. İlk aşamada alkol dehidrogenaz enzimi ile asetaldehite dönüştürülmekte ve bu reaksiyonda oksijen, hidrojen yakalayıcı görevi görmektedir. İkinci aşamada asetaldehit su ile birleşmekte ve asetaldehit hidrat meydana gelmektedir. Son aşamada ise ortamda bulunan asetaldehit hidrat, dehidrogenaz enzimi aracılığıyla oksijene iki hidrojen vermekte ve böylece asetik asit oluşmaktadır (Aktan ve Yıldırım, 2011).

Sirke üretim teknolojisi incelendiğinde 3 farklı fermantasyon yöntemi ile karşılaşılmaktadır: spontan fermantasyon, back-slopping ve starter kültür kullanılarak gerçekleştirilen fermantasyon. Spontan fermantasyon daha çok küçük ölçekli işletmeler için uygun bir yöntemdir. Ayrıca bazı özel meyve sularının işlenmesinde de spontan fermantasyondan yararlanılmaktadır (Solieri and Giudici, 2009). Bu yöntemde fermantasyonun kontrolünün zor olması kontaminasyon riskini de beraberinde getirmektedir. Bu tip fermantasyonlarda başlangıç aşamasında ortamda laktik asit bakterileri ve mayalar baskın olarak bulunmakta ve bu mikroorganizmalar sırasıyla laktik asit ve etanol üreterek ortamda bulunabilecek diğer kontaminant mikroorganizmaların gelişimini engellemektedirler. “Back slopping” yönteminde, daha önceki fermente ürün yeni üretim sıvısına belli oranda eklenerek ortamda sirkeleşmeden sorumlu mikroorganizmaların baskın şekilde bulunması sağlanır. Bu nedenle “back slopping” yöntemi ile sirke üretimi, spontan fermantasyona göre daha hızlı

gerçekleşmektedir. Bu yöntem aynı zamanda “Starter-kültür” yönteminin öncüsü niteliğindedir (De Vuyst, 2000). Bununla birlikte doğrudan asetik asit bakterilerinin ortama ilave edildiği “Starter kültür” yöntemi ile çok daha standart kalitede sirke eldesi mümkün olabilmekte, ancak burada kullanılacak olan starter kültürlerin geliştirilmesi ve doğru suşların seçimi titiz bir çalışmayı gerektirmektedir (Rosma et al., 2016).

Sirke üretiminde yavaş, hızlı ve derin kültür yöntemleri olmak üzere başlıca üç yöntem kullanılmaktadır. Üretim yöntemleri arasında derin kültür yöntemi diğer yöntemlere kıyasla daha hızlı ve ekonomik olmasına karşın, kalite açısından yavaş yöntem daha iyi sonuç vermektedir. Hızlı yöntem ve derin kültür yöntemi, hem ekonomik ve hem de üretim süresi açısından yavaş yöntemle göre daha avantajlı olduğundan ticari sirke üretiminde en çok tercih edilen yöntemlerdir (Morales et al., 2001; Tan, 2005; Aktan ve Yıldırım, 2011).

2.2.1 Yavaş yöntem

Yavaş yöntem sirke üretiminde kullanılan en eski yöntem olarak bilinmekle birlikte günümüzde de sirkenin geleneksel olarak üretiminde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu yöntemde AAB’leri, fermantasyon sıvısının üst yüzeyde yoğunlaşarak sirke anası da denen zarımsı bir yapı oluşturmakta ve alkollü sıvının zaman içerisinde sirkeye dönüşümünü sağlamaktadırlar. Burada fermantasyonun hızı, sıvı yüzeyinde biriken bakterilerin yoğunluğuna bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu yöntemde AAB’leri oksijen konsantrasyonunun yüksek olduğu yüzey ortamında daha yoğun şekilde gelişirler ve bu nedenle yöntem aynı zamanda ‘yüzey kültür yöntemi’ olarak da bilinir (Aktan ve Yıldırım, 2011; Giudici et al., 2017).

Bu yöntemle sirke üretmek için yaygın olarak fiçi veya tahta kaplar kullanılmaktadır. Sirke yapılacak sıvı içerisine bir miktar (1/3-1/4) pastörize edilmemiş sirke eklenmekte ve fermantasyon, asetik asit bakterilerinin optimum gelişme sıcaklıkları olan 28-30°C’de gerçekleştirilmektedir. Sirkeleşme sürecinde sıvı yüzeyinde bir süre sonra zar (sirke anası) meydana gelmekte, sirkeleşme sonunda ise bu zar kendiliğinden dibe çökmektedir. Fermantasyonun

tamamlandığı ve istenen özelliklerde sirkenin elde edildiğini belirlemek üzere alkol ve asit tayini ile yapılmaktadır. Bu yöntemle sirke üretimi 6–8 hafta sürmekte ve böylece iyi kalitede, yüksek seviyede aroma maddeleri içeren sirkeler üretilmektedir (Akbaş, 2008; Aktan ve Yıldırım, 2011).

2.2.2 Hızlı yöntem

Hızlı yöntemle sirke üretimi ilk olarak Almanlar tarafından kullanılmış olmasından dolayı Alman usulü olarak da isimlendirilmektedir. Bu yöntemle sirke üretiminde AAB'lerine geniş yüzeyler oluşturmak amacıyla fermantasyon kapları içerisine rende ile hazırlanan yongalar, mısır koçanı veya çalı demetleri (yaklaşık olarak 3-4 cm uzunluğunda, 1 mm kalınlığında, 3 cm genişliğinde) yerleştirilmektedir. Üretim sırasında gerekli olan oksijen miktarı kabın kenarlarındaki deliklerden sağlanmaktadır. Fermantasyon sıvısı yukarıdan aşağıya doğru akarken dolgu maddeleri ile oluşturulan geniş yüzeylerden geçerek süzülme ve bu alanlara yerleşmiş bulunan AAB'leri tarafından 8-10 günde sirkeye dönüştürülmektedir (Akbaş, 2008; Aktan ve Yıldırım, 2011).

2.2.3 Derin kültür yöntemi (submers yöntemi)

Derin kültür yönteminde sirke üretimi diğer yöntemlerin aksine yüzeyde değil sıvı içerisinde çoğalan ve dolgu materyali olmadan gelişen bakterilerle gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde esas, fermantasyon sıvısının ince hava kabarcıkları ile sürekli havalandırılması ve sonuçta yüksek oranda asetik asit içeren (minimum %8-14) sirke elde edilmesidir (Aktan ve Yıldırım, 2011; Giudici et al., 2017).

Derin kültür yöntemiyle sirke üretimi 'asetatör' denilen ve sıcaklık, süre, oksijen miktarı, asit ve alkol içeriği gibi parametrelerin kontrol edilebildiği metal biyoreaktörlerde gerçekleştirilmektedir (Aktan ve Yıldırım, 2011). İlk aşamada fermente edilecek hammaddeden etanol içeriği yaklaşık %2-3 olan sirke elde edilmekte, daha sonra bu sıvı ikinci bir reaktöre aktarılmakta ve burada etanolün asetik aside dönüşümü sağlanmaktadır. Ayrıca, bu yöntemle sirke tek biyoreaktör kullanılarak da üretilmekte, bu durumda fermantasyon sıvısının etanol içeriği

%0,3-0,5 olduğunda biyoreaktör boşaltılmaktadır. Bu yöntemle sirke üretimi 18-30 saat gibi kısa bir sürede gerçekleşmektedir (Garcia, 2009). Derin kültür yöntemi ile sirke üretimi Alman usulüne göre çok daha hızlı ve ucuz olduğu için endüstride daha çok kullanılmaktadır (De Ory et al., 2004).

2.3 Sirke Çeşitleri

Dünyanın değişik bölgelerinde farklı sirke çeşitleri üretilmektedir (Çizelge 2.1). Sirke üretiminde hammadde olarak meyve, tahıl ve şeker miktarı yüksek diğer gıdalar kullanılabileceği gibi şarap, bira gibi alkollü içecekler de kullanılabilir (Plessi, 2003; Guizani and Mothershaw, 2006). Son yıllarda kendine özgü duyuşal özellikleri olan meyve ve sebze sirkeleri dünya pazarında daha çok görülmeye ve daha çok tüketilmeye başlamıştır (Shahidi et al., 2008). Örneğin pirincin bol olduğu Çin ve Japonya’da pirinç sirkesi, şarapları ile ünlü Fransa’da şarap sirkesi ve İtalya’da Geleneksel Balsamik sirke yaygın olarak üretilen sirke çeşitleridir (Guizani and Mothershaw, 2006).

Çizelge 2.1 Dünyanın değişik ülkelerinde farklı hammaddelerden üretilen bazı sirke çeşitleri (Sengun, 2015’den adapte edilmiştir).

Sirke Çeşidi	Hammadde	Üretildiği Ülke
<i>Meyve Sirkeleri</i>		
Balsamik sirke	Üzüm şırası	İtalya
Çilek sirkesi	Çilek	İspanya
Dut sirkesi	Beyaz ya da kara dut	Türkiye
Elma sirkesi	Elma ya da elma şarabı	Dünya geneli
Hindistan cevizi sirkesi	Hindistan cevizi	Güneydoğu Asya
Hurma sirkesi	Hurma	Japonya, Güney Kore
İncir sirkesi	İncir	Türkiye
Vişne sirkesi	Vişne	Avrupa, ABD
Üzüm sirkesi	Üzüm	Türkiye, Orta Doğu
<i>Hububat Sirkeleri</i>		
Bira sirkesi	Arpa	Almanya
Kurosu	Pirinç	Japonya

(Siyah pirinç sirkesi)		
Siyah sirke	Buğday, darı	Çin, Doğu Asya
Pirinç sirkesi	Pirinç ya da sake	Japonya, Çin
<i>Diğer Sirkeler</i>		
Bal sirkesi	Bal	Avrupa, Afrika, Amerika
Beyaz distile sirke	Alkol	ABD, Çin
Kombucha sirkesi	Çay ve şeker	Asya
Malt sirkesi	Malt	Kuzey Avrupa
Peynir altı suyu sirkesi	Peynir altı suyu	Avrupa
<i>Sebze Sirkeleri</i>		
Domates sirkesi	Domates	Japonya, Doğu Asya
Soğan sirkesi	Soğan	Doğu Asya
<i>Şarap Sirkeleri</i>		
Şarap sirkesi	Düşük alkollü şaraplar	Dünya geneli
Palmiye suyu sirkesi	Palmiye şarabı	Afrika, Asya ve Güney Amerika

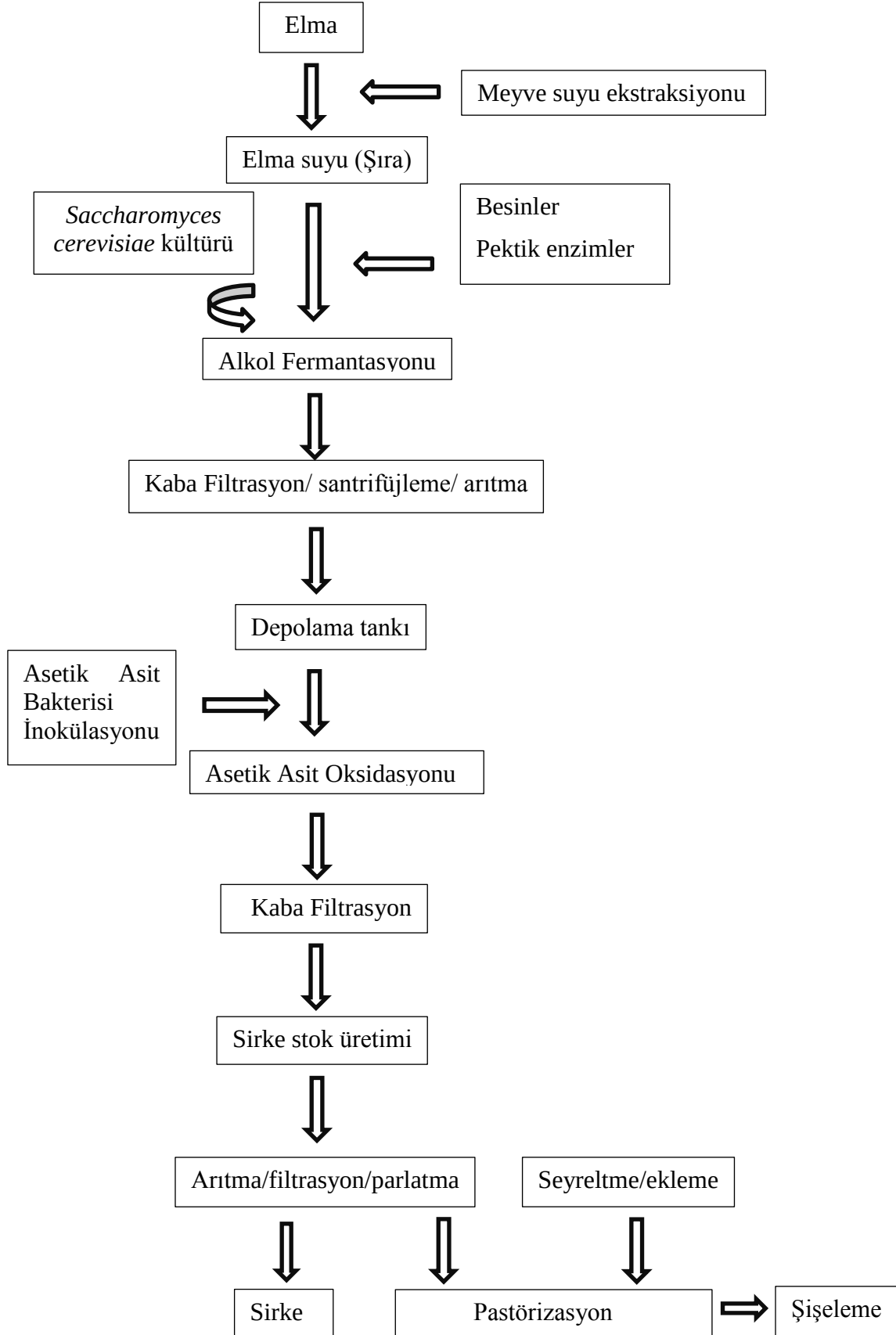
2.3.1 Meyve sirkeleri

Sirke üretiminde genellikle meyve atıkları ve kalitesi düşük meyveler kullanıldığından ekonomik bir ürün olarak değerlendirilmektedir (Solieri and Giudici, 2009). Bununla birlikte sağlıklı ve kaliteli sirke eldesi için üretimde kullanılacak olan meyvelerde pestisit kalıntısı, zararlı organizma, mikotoksin ya da diğer zararlı bileşiklerin bulunmaması gerekmektedir.

Sirke üretiminde kullanılacak olan meyvelerin asitlik ve şeker içeriği bakımından alkol fermantasyonuna uygun olması gerekmektedir. İdeal olarak sirke üretiminde kullanılacak olan meyvelerde şeker oranının yüksek olması gerekmekte, düşük şeker içeriğine sahip meyvelerin kullanılması durumunda ise meyve suyu konsantreleri ile ortamın şeker içeriği arttırılmaktadır. Örneğin elma sirkesi üretiminde kullanılacak olan elmaların şeker içeriğinin ideal olarak %10-13 seviyesinde olması istenir ki bu durumda elde edilecek sirkede asitlik değeri yaklaşık olarak %6,7-7,4 olmaktadır. Düşük şeker içerikli meyve suları (<%7-8 teorik etanol) ise konsantre elma suyu (%60-80 şeker içeriği) ile takviye

edilmektedir. Bunun dışında ortamda istenmeyen bileşiklerin oluşumuna neden olan basiller ve/veya laktik asit bakterilerinin (LAB) gelişimini engelleyebilmek adına meyve sularının düşük pH (yaklaşık 3,5) değerine sahip olması gerekmektedir (Giudici et al., 2017).

Meyve sirkesi üretiminde başta üzüm ve elma olmak üzere incir, Frenk üzümü, ahududu, dut, hurma, Hindistan cevizi, vişne, armut, erik gibi farklı meyveler kullanılmaktadır (Joshi and Thakur, 2000; Sengun, 2013). İlk aşamada *Saccharomyces* türü mayalar tarafından üretilen etanol, ikinci aşamada AAB'leri tarafından gerçekleştirilen oksidasyon sayesinde asetik aside dönüştürülmektedir. Fermantasyonunu tamamlayan sirkeler daha sonra dinlendirme, durultma, filtrasyon ya da jelatin ekleme gibi işlemlere tabi tutulmakta, son aşamada ise ortamda mevcut bulunan AAB'lerinin gelişimini önlemek amacıyla pastörizasyon işlemi uygulanmakta, bazı durumlarda ise ortama sülfite ya da askorbik asit gibi antioksidanlar da eklenerek paketlenmektedir (Şekil 2.1) (Sengun 2013; Rosma et al., 2016; Giudici et al., 2017).



Şekil 2.1 Elma sirkesi üretimi (Rosma et al., 2016'dan adapte edilmiştir)

2.3.2 Hububat sirkeleri

Sirke üretimi için pirinç, buğday, darı ve diğer nişasta içerikli tahıl türleri kullanılabilir. Ancak tahıllar maya ve bakteriler tarafından direk fermente edilemeyen karbonhidratları içerdiklerinden bu hammaddelerden alkollü içecek ve sirke üretimi diğer hammaddelere göre daha zor olmaktadır. Bu nedenle basit şekerleri açığa çıkarmak amacıyla hammadde öncelikle enzimlerle muamele edilmektedir. Bu aşamada polisakkaritler α -amilaz ve β -amilaz enzimleriyle maltoza hidroliz edilmekte, ortamda mevcut bulunan maltoz ise maltaz enzimiyle glikoza parçalanmaktadır (Giudici et al., 2017).

Tahıl sirkesi üretimi tahıl hazırlama (buhar uygulaması, ezme), sakarifikasyon (nişastanın basit şekerlere çevrilmesi), alkol ve asetik asit fermentasyonu, sirke ekstraksiyonu, olgunlaşma ve paketleme aşamalarını içermektedir. İlk olarak 12-24 saat süre ile ezme ve buhar uygulaması yapılarak nişasta hidrolizini kolaylaştıran jelleşme sağlanmaktadır. Çin usulü tahıl sirkesi üretiminde, hammaddenin basit bileşiklere dönüşümünü sağlayan enzimler salgılayan *Rhizopus*, *Mucor* gibi küfler kullanılmaktadır. Basit şekerleri içeren bu sıvı daha sonra alkol ve asetik asit fermentasyonuna bırakılmakta, istenen asitlik düzeyi elde edildikten sonra kaliteli sirke eldesi için sirke ekstraksiyonu uygulanmakta ve ortama farklı oranlarda tuz eklenerek AAB'lerinin gelişimi engellenmektedir. Son olarak sirkede arzu edilen fiziksel-kimyasal değişikliklerin oluşması, renk pigmentlerinin istenen seviyeye ulaşması ve duyu özelliklerinin gelişmesi amacıyla olgunlaşma işlemi uygulanmakta ve daha sonra ürün paketlenmektedir (Giudici et al., 2017).

2.3.3 Geleneksel balsamik sirke

Geleneksel balsamik sirke kahve renkli ve tatlımsı ekşi tada sahip bir sirke çeşidi olup üretim yöntemi açısından diğer sirkelerden farklılık göstermektedir. Tarihi ve üretim özelliklerinden dolayı koruma altına alınmış ürün (protected designation of origin) olarak da bilinmektedir. “Modena Geleneksel Balsamik Sirkesi” ve “Reggio Emilia Geleneksel Balsamik Sirkesi” koruma altına alınmış

geleneksel balsamik sirkelerdir (Disciplinare di produzione, 2000a, b; Giudici et al., 2017).

Balsamik sirke üretiminde öncelikle üzüm suyu kaynatılarak yoğunlaştırılır ve daha sonra elde edilen şıra özel fiçılar içerisinde alkol ve asetik asit fermantasyonuna bırakılarak önce şaraba ardından sirkeye dönüşmesi sağlanır. Fiçılar içerisinde bekletilen sirke zamanla su kaybederek daha konsantre hale gelir ve böylelikle olgunlaşma sağlanır. Sirkenin konsantre olması su içeriği, özgül ağırlık, viskozite, renk, Briks değeri, toplam asitlik ve pH gibi fiziksel ve kimyasal özellikler açısından büyük önem taşımaktadır. Yıllandırma aşamasında sirke içerisinde bazı kimyasal bileşikler oluşup reaksiyona girerek melanoidin adı verilen yüksek molekül ağırlıklı polimerleri oluştururlar (Giudici et al., 2017).

2.3.4 Diğer sirkeler

Avrupa ülkelerinde peynir altı suyu gibi süt ürünlerinden sırasıyla laktik asit fermantasyonu, alkol fermantasyonu ve asetik asit fermantasyonu ile sirke üretilebilmektedir. Peynir altı suyu, peynir üretiminden arta kalan sıvı olarak nitelendirilmekte ve nitrojen bileşikleri, vitaminler, mineraller ve laktoz içermektedir. Peynir altı suyu homofermentatif laktik asit bakterileri açısından oldukça zengin bir kaynaktır. Bu hammaddeden fosfat ve amino asit içeren ve diğer sirkelere göre daha yüksek pH değerine (pH 3,4) sahip olan sirkeler üretilmektedir (Giudici et al., 2017).

Diğer sirkeler başlığı altında nitelendirilen sirke çeşitlerinden bal sirkesi ise su ile seyreltilmiş bala amonyum sülfat, amonyum fosfat, potasyum bikarbonat, sodyum fosfat gibi mineral sağlayıcı maddeler eklenerek alkol ve asetik asit fermantasyonu ile üretilmektedir (Ilha et al., 2000; Alak, 2015). Peynir altı suyu sirkesi ve bal sirkesi hayvansal orjinli hammaddeden elde edilen sirkeler olarak sınıflandırılmaktadır (Giudici et al., 2017).

Asya ülkelerinde ise siyah ya da yeşil çaya şeker katılarak alkol ve asetik asit fermantasyonuyla sirke benzeri içecek olarak da isimlendirilen kombucha sirkesi üretilmektedir (Raspor and Goranovic, 2008).

2.4 Sirkede Bulunan Mikroorganizma Grupları

Sirke üretiminde asetik asit bakterileri ve mayalar önemli mikroorganizma gruplarını oluşturmaktadır. Bununla birlikte bazı küf ve laktik asit bakterisi türleri de sirke üretiminde rol alabilmektedir.

2.4.1 Asetik asit bakterileri (AAB)

AAB'leri zorunlu aerobik mikroorganizmalar olup, alkolden asetik asit oluşturan, Gram (-), katalaz (+), oksidaz (-), spor oluşturmayan, elipsoidal ve çubuk şeklinde (0,4-1,0 mm genişliğinde ve 0,8-4,5 mm uzunluğunda), hücreleri tekli, çift veya zincir şeklinde bulunan, hareketli veya hareketsiz mikroorganizmalardır. Gelişme sıcaklıkları 5-45°C arasında, optimum gelişme sıcaklıkları ise 25-30°C arasında değişim göstermekte olup bazı türleri termotolerant özellik de gösterebilmektedir. AAB'leri 5,0-6,5 pH değerlerinde optimum gelişme göstermelerine rağmen düşük pH (3-4) değerlerinde de gelişebilmektedirler (Sievers and Swings, 2005). AAB'lerinin genel özellikleri Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2 Asetik asit bakterilerinin karakteristik özellikleri

Karakteristik	A.	Ac.	Am.	As.	B.	C.	E.	G.	Ga.	Gr.	K.	Ko.	N.	Ne.	Ng.	S.	Sa.	Sw.	T.
<i>Asit üretimi:</i>																			
Arabinoz	d	+	te	+	te	te	te	+	D	te	te	+	+	te	te	te	+	+	te
D-ksiloz	d	+	te	+	-	+	+	+	D	-	te	+	+	+	te	z	+	d	d
L-rhamnoz	-	-	te	d	te	-	te	-	-	te	te	-	z	te	te	te	-	-	te
D-glukoz	d	+	te	+	+	+	te	+	+	z	te	+	+	te	te	+	+	+	te
D-galaktoz	d	+	te	+	+	-	te	+	+	+	te	+	+	te	te	d	+	+	te
D-mannoz	d	+	te	+	Z	-	te	+	D	te	te	+	+	te	te	z/+	+	+	te
D-fruktoz	-	-	te	+	+	te	te	+	+	te	te	-	+	+	te	z	d	d	te
L-sorboz	-	te	te	+	-	te	te	+	D	te	te	-	-	-	te	-	-	te	te
Melibioz	-	d	te	+	-	-	te	+	-	te	te	+	+	d	te	+	+	te	te
Sakkaroz	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	te	d	+	+	te	z/+	+	te	d
Rafinoz	-	-	-	+	-	te	te	-	-	+	te	+	+	-	z	z	-	te	z
Mannitol	-	z	-	+	+	te	-	+	-	-	-	-	z	-	-	+	+	-	-
Sorbitol	-	-	-	+(g)	-	te	-	+	-	-	-	-	+(g)	-	-	-	-	+	-
Dulcitol	-	-	-	+(g)	te	-	-	z	-	-	te	+(g)	z	-	-	-	-	d	-
Gliserol	-	+	z	+	-	+	+	+	-	z/-	te	+	+	-	-	-	-	+	+
Etanol	+	+	+	-	-	te	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
EtOH'den asetik asit üretimi	+	+	+	-	-	te	+	+	+	z	+	+	+	z	-	z/+	z	+	+
Asetat Oksidasyonu	+	+	+	z/+	-	te	-	-	+	z	+	z	-	-	+	-	-	z	-
Laktat Oksidasyonu	+	-	z	z/+	-	te	-	-	+	+	+	z	-	-	-	-	z	z	-
%0,35 asetik asitte gelişme	+	+	+	-	te	te	te	+	+	+	+	+	+	-	z	-	-	+	+

Başlıca sirke, kakao ve kombucha gibi fermente ürünlerin üretiminde rol alan AAB'lerinin taksonomisi yıllar içerisinde büyük değişim göstermiştir. Yakın zamana kadar AAB'lerine ait sadece iki cins (*Acetobacter* ve *Gluconobacter*) bilinmesine karşın, günümüzde gelişen tanımlama yöntemleriyle birlikte toplam 18 AAB cinsi tanımlanmış ve şu şekilde adlandırılmıştır: *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Ameyamaea*, *Asaia*, *Bombella*, *Endobacter*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, *Granulibacter*, *Komagataeibacter*, *Kozakia*, *Neoasaia*, *Neokomagataea*, *Nguyenibacter*, *Saccharibacter*, *Swaminathania*, *Swingsia* ve *Tanticharoenia* (Malimas et al., 2017). Bu grup içerisinde en fazla türe sahip olan cins, 26 tür ile *Acetobacter* cinsindedir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarla AAB'lerinin mevcut taksonomisinin değişmeye devam ettiği de göz ardı edilmemelidir (Trček and Barja, 2015; Şengün ve Kılıç, 2016).

AAB'lerinin izolasyonu amacıyla geliştirilen Glucose Yeast Agar (GY), Glucose Yeast Extract CaCO₃ Agar (GYC), Reinforced AE-Medium (RAE) gibi birçok besiyeri bulunmasına rağmen, bu ortamlar tüm türlerin gelişimine imkan sağlayamamaktadır (Gullo et al., 2006; Zahoor et al., 2006; Sengun and Karabiyikli, 2011; Hidalgo et al., 2013; Mateo et al., 2014). Genel olarak AAB'lerinin metabolik aktiviteleri katı besiyerinde koloni çevresinde halkasal temiz zon oluşumu şeklinde gözlemlenmektedir (Cleenwerck and De Vos, 2008). İzole edilen AAB'leri Çizelge 2.2'de verilen bazı özelliklere bağlı olarak, farklı pH değerlerinde gelişme, farklı sıcaklık değerlerinde gelişme, etanolden asit üretimi, asetat ve laktat oksidasyonu ve bazı şeker fermantasyon testleri yapılarak fenotipik olarak tanımlanabilmektedir (Asai et al., 1964). Bununla birlikte AAB'lerinin izolasyonu amacı ile kullanılan besiyerleri kültüre edilemeyen türlerin (viable but non-cultivable-VNBC) belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır (Cleenwerck and De Vos, 2008; Sengun, 2015). Dolayısıyla AAB'lerinin kültüre edilebilme ve tanımlanmalarında mevcut olan zorlukların üstesinden gelebilmek adına son yıllarda ağırlıklı olarak moleküler yaklaşımlardan yararlanılmaktadır. Genel olarak AAB'lerinin moleküler düzeyde tanımlanması amacıyla DNA-rRNA hibridizasyonu, DNA-DNA hibridizasyonu ve Ribozomal RNA gen dizisi (5S rRNA, 16S rRNA ve 23S rRNA) yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Cleenwerck and De Vos, 2008; Trček and Barja, 2015; Şengün ve Kılıç, 2016).

Sirke üretiminde asetik asit fermantasyonunda rol oynayan AAB türlerinin başında *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter* ve *Komagataeibacter* cinsine ait türler gelmektedir (Giudici et al., 2017). *Acetobacter* cinsi sirkeden izole edilip tanımlanan ilk bakteri cinsidir (1898) ve bu yüzden de ‘sirke bakterisi’ olarak da bilinmektedir. *Acetobacter* cinsi etanolü güçlü, glukozu zayıf şekilde okside edebilmesine karşın asetat ve laktatı tamamen okside edebilmektedir. *Gluconobacter* cinsi (1968) ise genellikle etanolü zayıf, glukozu güçlü şekilde okside edebilmekte, bununla birlikte asetat ve laktat oksidasyonunu gerçekleştirememektedir (Giudici et al., 2017). Bu iki cins dışında sirkede sıkça bulunan diğer bir AAB’si cinsi ise *Gluconacetobacter*’tir. Bu cins *Gluconoacetobacter liquefaciens* ve *Ga. xylinus* olmak üzere iki alt gruba ayrılmış ve bu gruplar birbirinden genetik olarak (morfolojik, fizyolojik, ekolojik ve filogenetik temellere dayanmak üzere) ayırt edilebilmiştir (Franke et al., 1999; Yamada et al., 2000; Yamada and Yukphan, 2008). Sonraki yıllarda ise *Gluconacetobacter xylinus* türü *Komagataeibacter* cinsi olarak adlandırılmıştır (Yamada et al., 2012). *Komagataeibacter* cinsi yüksek asetik asit ve etanol konsantrasyonuna toleranslı ve aynı zamanda yüksek asitli sirke üretebilen AAB’si cinsi olarak bilinmektedir (Gullo et al., 2014).

Mevcut çalışmalar incelendiğinde, farklı sirke çeşitlerinden izole edilerek tanımlanan AAB’si türlerinin oldukça fazla çeşitlilik gösterdiği görülmektedir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3’de görüldüğü üzere sirkelerden izole edilen AAB’leri, sirke türüne bağlı olarak değişim göstermektedir. *A. pasteurianus* birçok sirke çeşidinde yaygın olarak bulunmaktadır. Bunun dışında *A. aceti*, *A. cerevisiae*, *A. oboediens*, *A. orleanensis*, *A. malorum*, *A. pomorum*, *A. syzygii*, *Ga. entanii* ve tabloda eski isimleri de geçen *K. europaeus*, *K. hansenii*, *K. intermedius*, *K. saccharivorans* ve *K. xylinus*, çeşitli sirkelerden en sık izole edilen AAB’si türleridir.

Çizelge 2.3 Farklı sirkelerden izole edilen AAB türleri

Sirke çeşidi	İzole edilen AAB'si	Kaynak
Geleneksel balsamik sirke	<i>A. pasteurianus</i> , <i>Ga. europaeus</i>	Gullo et al., 2009
Geleneksel Kore sirkesi	<i>A. pasteurianus</i> , <i>A. aceti</i>	Lee et al., 2015
Geleneksel Kore sirkesi	<i>A. pomorum</i>	Baek et al., 2014
Geleneksel şarap sirkesi	<i>Ga. xylinus</i> , <i>Ga. europaeus</i> , <i>Ga. intermedius</i>	Vegas et al., 2013
Geleneksel Türk sirkesi	<i>A. okinawensis</i> , <i>A. persici</i> , <i>A. indonesiensis</i> , <i>A. syzgaei</i> , <i>A. ghanensis</i> , <i>A. tropicalis</i> , <i>As. krungthepensis</i> <i>K. hansenii</i> , <i>K. europaeus</i> , <i>K. intermedius</i> , <i>K. xylinus</i> , <i>K. nataicola</i> , <i>K. oboediens</i> , <i>K. saccharivorans</i>	Yetiman and Kesmen, 2015
Hindistan cevizi suyu sirkesi	<i>A. pasteurianus</i> , <i>G. frateurii</i>	Perumpuli et al., 2014
Kayısı sirkesi (Çin)	<i>A. estunensis</i> , <i>A. ghanensis</i> , <i>A. orleonensis</i> , <i>A. pomorum</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>A. syzgaei</i>	Fu et al., 2013
Pirinç sirkesi	<i>A. pasteurianus</i>	Haruta et al., 2006
Shanxi yıllanmış sirke	<i>A. pasteurianus</i> , <i>A. indonesiensis</i> , <i>A. malorum</i> , <i>A. orientalis</i> , <i>A. senegalensis</i> , <i>G. oxydans</i>	Wu et al., 2012
Şarap sirkesi	<i>A. pasteurianus</i> , <i>K. europaeus</i>	Mas et al., 2014
Tatlı patates sirkesi	<i>A. aceti</i>	Chun et al., 2014
Zhenjiang aromatik sirke (Çin)	<i>A. tropicalis</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>Ga. europaeus</i>	Wang et al., 2015

* Tür isimleri kaynaklarda geçtiği şekilde verilmiştir. Bu nedenle tabloda hem yeni hem de eski isimlendirme aynı anda görülmektedir. *Ga. europaeus*, *Ga. intermedius* (*A. intermedius*) ve *Ga. saccharivorans* daha sonra *Komagataeibacter* cinsine dahil edilmiştir.

Fermente ürünlerin üretiminde starter kültür kullanımı kaliteli ve standart ürün elde etmek adına büyük önem taşımaktadır. Seçilmiş starter kültürler, ileri teknoloji uygulamalarının bir sonucudur ve bu kültürler genellikle şarap, bira, ekmek, fermente et ve süt ürünleri gibi fermente gıdaların üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Leroy and De Vuyst, 2004). Ancak sirke üretiminde starter kültür kullanımı yaygın bir uygulama değildir (Sokollek and Hammes, 1997; Giudici et al., 2017). Bununla birlikte sirke üretiminde rol oynayan mikroorganizmaların tanımlanması kaliteli ürün elde etmek, standart kalitede sirkenin endüstriyel üretiminin gerçekleştirilmesi ve ürün kalitesi ile kalitenin sürekliliğinin sağlanması için gerekli olan altyapıyı oluşturmak adına büyük önem arz etmektedir. Sirke üretiminde starter kültür olarak kullanılabilecek AAB'si türlerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Önceki çalışmalar kapsamında çilek, hurma, yaban mersini ve tatlı patates gibi farklı hammaddelerden üretilen sirkeler; fizyolojik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikler açısından incelenmiş, sirke üretiminde kullanılabilecek starter kültürler elde edilmeye çalışılmıştır (Matsui et al., 2004; Solieri and Giudici, 2009; Hidalgo et al., 2010a, 2010b, 2013). Örneğin geleneksel balsamik sirke üretiminde kullanılabilecek starter kültürlerin geliştirilmesinde; hammadde özellikleri, AAB'lerinin metabolik aktiviteleri, uygulanan teknoloji ve son ürünün istenen özellikleri gibi bazı kriterlerin belirlenmesi gerektiği vurgulanmıştır (Giudici et al., 2005). Geleneksel balsamik sirke üretiminde kullanılacak AAB'lerinin etanolü kullanabilme, etkili oksidasyon yapabilme, hızlı asetik asit üretme, yüksek asetik asit konsantrasyonuna tolerans gösterme, düşük pH'a direnç gösterme, aşırı oksidasyon yapmama ve daha spesifik olarak da yüksek şeker konsantrasyonuna tolerans gösterme ve geniş sıcaklık aralığında gelişebilme özelliklerine sahip olmaları gerektiği ve belirtilen bu özellikleri karşılayan iki AAB'si türü olarak *Gluconacetobacter europaeus* ve *Acetobacter malorum*'un geleneksel balsamik sirke üretiminde starter kültür olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (Gullo and Giudici, 2008).

2.4.2 Mayalar

Mayalar güncel taksonomide 700'den fazla tür içermektedir. Endüstride en önemli ve en çok bilinen maya türü *Saccharomyces cerevisiae*'dir (Giudici et al.,

2017). Sirke üretiminde hammaddede bulunan şekeri etil alkole dönüştürerek alkol fermantasyonunun gerçekleşmesini sağlayan *S. cerevisiae*, yüksek şeker ve düşük azot içeren ortamlarda gelişme yeteneğine sahiptir (Cocolin et al., 2004; Aykın, 2013). Bununla birlikte farklı hammaddelerden üretilen sirkelerde farklı maya cinsleri bulunabilmektedir. Örneğin, *Kluyveromyces* cinsinin, peynir altı suyu sirkesi, bal sirkesi ve geleneksel balsamik sirke üretiminde kullanılan konsantre üzüm şirasından izole edildiği belirlenmiştir (Giudici et al., 2017).

Yüksek kalitede şarap üretiminde, kullanılacak olan maya türünün büyük önem taşıdığı düşünülmektedir. Alkol fermantasyonunu gerçekleştiren mayanın, üretilen alkolün kompozisyonu ve ürünün duyuşal özellikleri üzerine etkileri olduğu bildirilmektedir (Gobbi et al., 2014). Bununla birlikte sirke üretiminde özel maya suşlarının kullanımının ve bu suşların sirkenin duyuşal kalitesi üzerine etkilerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Gobbi et al., 2014; Giudici et al., 2017).

Solieri ve arkadaşları (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, *Zygosaccharomyces* cinsine ait bazı türlerin geleneksel balsamik sirke üretimi için önemli olduğu, bu sirkenin üretiminde *Saccharomyces cerevisiae* dışında *Z. bailii*, *Z. bisporus*, *Z. cidri*, *Z. fermentati*, *Z. florentinus*, *Z. mellis*, *Z. microellipsoideus*, *Z. mrakii* ve *Z. rouxii* olmak üzere *Zygosaccharomyces* cinsine ait dokuz türün ve ayrıca *Hansenispora valbyensis*, *Hanseniaspora hosmophila*, *Candida stellata*, *Saccharomycodes ludwigii* türü mayaların rol aldığı tespit edilmiştir.

Alkol fermantasyonunda mayaların yararlı etkilerinin yanı sıra zararlı etkilerinin de olduğu, bazı maya türlerinin alkolü CO₂ ve H₂O'ya tamamen oksitleyerek sirke ve şarap üretimi için tehlike yaratabildiği bildirilmektedir. Örneğin *Pichia membranaefaciens*'in alkol fermantasyonu sırasında kötü koku ve yüzeyde film oluşumuna sebebiyet verdiği için sirke üretiminde kullanımının uygun olmadığı bildirilmektedir (Giudici et al., 2017).

2.4.3 Küfler

Sirke üretiminde küfler özellikle salgıladıkları enzimler dolayısıyla önem taşımaktadır. Tahıl sirkesi üretiminde kullanılan *Rhizopus*, *Mucor* gibi bazı küf türleri, amilaz, glukoamilaz gibi enzimler salgılayarak hammaddenin basit bileşiklere dönüşmesini sağlamaktadır. Bu cinslere ek olarak *Aspergillus* cinsinin bazı türleri de sirke üretiminde kullanılabilir. *Aspergillus*, nişasta ve selüloz dahil çok sayıda doğal bileşiği kullanarak sitrik asit üretebilmektedir. *Aspergillus oryzae* çoğu doğu ülkesinde alkollü içki ve sirke üretiminde pirinç ununun fermentasyonunda rol almaktadır (Giudici et al., 2017). Bunların dışında *Rhizopus* cinsinin de fumarik ve laktik asit gibi organik asitler üretebildiği, *R. oryzae*'nin sake ve sirke gibi alkol içeren içeceklerin eldesinde önemli rol aldığı bildirilmektedir (Giudici et al., 2017).

2.4.4 Laktik asit bakterileri (LAB)

Sirke üretiminde yer alan diğer bakteri türleri laktik asit bakterileridir (LAB). LAB'leri genellikle fermente et ve süt ürünlerinin üretiminde rol oynamaktadır. Sirke üretiminde LAB'lerine genellikle ihtiyaç duyulmamaktadır. Ancak *Kluyveromyces* cinsinin bazı türleri hariç mayalar laktozu fermente edememekte ve bu nedenle sirke üretiminde ortamda laktozun bulunduğu durumlarda LAB'lerine ihtiyaç duyulmaktadır. Örneğin peynir altı suyu sirkesi gibi bazı özel sirkelerin üretiminde LAB'leri laktozun hidrolizini sağlayarak glukoz ve galaktoza dönüştürmekte ve alkol fermentasyonunun gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır (Giudici et al., 2017). *Lactobacillus*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Streptococcus* gibi cinslerin Çin'de üretilen tahıl sirkelerinden, *Lactobacillus casei*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. brevis* gibi türlerin ise pirinç sirkесinden izole edilen LAB'leri olduğu bildirilmektedir (Haruta et al., 2006; Peng et al., 2015).

2.5 Sirke Özelliklerinin İncelendiği Çalışmalar

Farklı sirke çeşitlerinin fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin incelendiği bazı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar kapsamında,

hammaddede bulunan fenolik bileşiklerin sirke üretimi sırasında yeni antioksidan etkili fenolik bileşiklere dönüştüğü ve elde edilen son ürünün önemli fonksiyonel özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (Shahidi et al., 2008; Martins et al., 2011).

Kore’de yapılan bir çalışmada şarap sirkesi üretimi sırasında fizikokimyasal özellikler ve uçucu bileşenlerde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Sirke üretiminde kullanılan hammadde serbest amino asit, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içeriği sırasıyla 7,51 mg/100mL, 58,23 mg GAE/100 mL ve 9,93 mg GAE/100 mL iken, sirkede bu değerlerin sırasıyla 20,45 mg/100mL, 84,15 mg GAE/100 mL ve 17,22 mg GAE/100 mL seviyelerine ulaştığı belirlenmiştir (Jo et al., 2015).

Ghosh ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, hurma suyu, hurma şarabı ve hurma sirkesinde B3 ve B5 vitaminleri, askorbik asit, folik asit, Cu, Zn ve Na miktarları incelenmiş ve en yüksek değerlerin hurma sirkesinde bulunduğu tespit edilmiştir. Benzer diğer bir çalışmada, dut sirkesi üretim aşamalarında antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içerikleri incelenmiş, en yüksek değerlerin dut sirkesinde bulunduğu ve üretim sırasında meydana gelen bu artışın hammadde şekere bağlı bulunan gallik asitin alkol ve asetik asit oluşumu sırasında açığa çıkmasına bağlı olarak oluştuğu bildirilmiştir (Budak, 2015).

Diğer bir çalışmada, tahıl sirkesi (Çin) fermantasyonu sırasında aromatik bileşikler, fenol, aldehit, keton, hidrokarbon ve heterosiklik bileşiklerin artış gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma kapsamında ayrıca sirkede bulunan karakteristik aroma bileşikleri etil asetat, isoamil asetat, fenietil asetat, β - feniletıl alkol ve 4-vinygvasikol, organik asitler ise asetik asit, süksinik asit, malik asit ve laktik asit olarak tanımlanmıştır (Qi et al., 2013).

Ubeda ve arkadaşları (2011) 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 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.

Farklı ülkelerde (İtalya, Fransa, İspanya, İsveç) marketlerde satışa sunulan sirkelerin incelendiği diğer bir çalışmada, toplam 65 adet sirke örneği (49 şarap sirkesi, 12 elma sirkesi, 4 alkol sirkesi) kimyasal özellikler açısından karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Elma sirkesinin kuru madde miktarı ve fenolik madde içeriğinin diğer örneklerle kıyasla daha yüksek olduğu, şarap sirkesinin ise potasyum içeriği bakımından daha zengin olduğu belirlenmiştir. Sirke örnekleri içerdikleri organik asitler açısından incelendiğinde, şarap sirkesinde tartarik asit miktarının, elma sirkesinde malik ve laktik asit miktarının, alkol sirkesinde ise sitrik asit miktarının daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Gerbi et al., 1998).

Chun ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, Makgeolli (pirinç sirkesi) ve Makgeolli'nin (tatlı patates sirkesi) bazı kalite özellikleri incelenmiştir. Makgeolli'de (pirinç sirkesi) toplam fenolik madde içeriği 24,73 mg GAE/L ve DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %6,72 olarak bulunurken, Makgeolli'de (tatlı patates sirkesi) bu değerler sırasıyla 327,14 mg GAE/L ve %67,63 olarak belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca Makgeolli'nin (pirinç sirkesi) daha yüksek aroma ve asitliğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Spinosa ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, sirke üretimi amacıyla fermente pirinç (pirinç şarabı (*Oryza sativa* L.)) kullanılmıştır. Elde edilen pirinç sirkesinde toplam asitliğin %6,85, alkol içeriğinin %0,17, mineral ve kuru madde miktarının ise sırasıyla %1,26 ve %1,78 olduğu belirlenmiştir. Örneklerde ayrıca *cis*-akonitik asit (6 mg/L), maleik asit (3 mg/L), *trans*-akonitik asit (3 mg/L), shikimik asit + sukkinik asit (4 mg/L), laktik asit (300 mg/L), formik asit (180 mg/L), okzalik asit (3 mg/L), fumarik asit (3 mg/L) ve itakonik asit (1 mg/L) tespit edilmiştir.

Farklı sirke çeşitleri üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda tüm Dünya'da artış göstermiş olmasına karşın, ülkemize özgü sirkelerin incelendiği sınırlı sayıda

çalışma bulunmaktadır. Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 20 adet geleneksel ev yapımı sirke (10 üzüm sirkesi, 6 elma sirkesi, 1 nar sirkesi, 1 elma-limon sirkesi, 1 enginar sirkesi, 1 alıç sirkesi) ile 5 adet endüstriyel sirkenin (1 üzüm sirkesi, 1 elma sirkesi, 1 limon sirkesi, 1 vişne sirkesi, 1 nar sirkesi) fizikokimyasal, antioksidan, antimikrobiyal ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Sirke örneklerinde en düşük pH değerinin (2,70) Niğde iline ait geleneksel üzüm sirkesinde, en yüksek asitlik değerinin (%7,20 asetik asit) Tokat iline ait geleneksel elma sirkesinde, en yüksek Briks değerinin (20,80) ise Tokat iline ait geleneksel üzüm sirkesinde olduğu belirlenmiştir. Sirke örnekleri ayrıca biyoaktif özellikler açısından da incelenmiş toplam fenolik madde (2228,79 mg GAE/L), toplam flavonoid (349,05 mg kateşin/L) ve antiradikal aktivite (DPPH) (%89,53) değerlerinin en yüksek olduğu örneklerin geleneksel üzüm sirkeleri olduğu belirlenmiştir. Geleneksel sirke örneklerinde 61 uçucu bileşen bulunduğu, en sık rastlanan uçucu bileşenlerin α -terpinol, etil asetat ve feniletil alkol olduğu saptanmıştır. Çalışmada ayrıca endüstriyel sirkelerin antimikrobiyal etkilerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Ozturk et al., 2015).

2.6 Sirkenin Sağlık Üzerine Etkileri

Sirkenin sağlığa yararlı etkileri, içeriğinde bulunan organik asitler, amino asitler, fenolik bileşikler ve melanoidinler gibi biyoaktif maddelerden kaynaklanmaktadır. Sirkede bulunan biyoaktif maddelerin antidiyabetik, antimikrobiyal, antioksidan, antitümör, antikarsinogenik, antienfeksiyon, kardiyovasküler etkilerinin olduğu ve çeşitli sağlık uygulamalarında kullanıldığı bildirilmektedir (Karabiyikli and Sengun, 2017). Fermantasyon sırasında hammaddede bulunan fenolik bileşikler yeni antioksidan etkili fenolik bileşiklere dönüştürülmekte ve bu değişiklikler sirkenin sağlığa yararlı etkilerinin artmasına neden olmaktadır (Shahidi et al., 2008; Martins et al., 2011).

Sirke kan şekeri seviyesini olumlu yönde etkilemekte ve son yıllarda diyabetik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarla sirke tüketiminin insülin-dirençli insidanslarda postprandiyal glisemiye plasebo değerlerine kıyasla %64 oranında düşürdüğü belirlenmiştir (Johnston et al., 2004). Bununla birlikte %0,3 ve % 2 asetik asit çözeltisinin tüketiminin kandaki glukoz

seviyesini önemli seviyede düşürdüğü belirlenmiştir (Xibib et al., 2003; Sakakibara et al., 2006). Mor tatlı patates sirkesinden izole edilen yeni bir doğal α -glukosidaz inhibitörü olan Caffeoylsophorose'un, farelerde hipoglisemik etkisinin olduğu belirlenmiştir (Matsui et al., 2014). Ayrıca sirkelerin antiglisemik etkisinin standart antidiyabetik ilaçlarla karşılaştırılabilir olduğu da bildirilmektedir (Yusoff et al., 2015).

Sirkenin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkisinin bulunduğu birçok çalışma ile belirlenmiştir. Elma sirkesinin farelerde kolesterol seviyesini düşürdüğü, düşük yoğunluklu lipoprotein (low density lipoprotein (LDL)) oksidasyonunu inhibe ettiği ve kardiyovasküler hastalıkları önlediği kanıtlanmıştır (Laranjinha et al., 1994; Budak et al., 2011). Sorgum sirkesinde bulunan alditol ve monosakkaritlerin, kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde faydalı olabilecek antiplatelet agregasyon aktivitesini başlattığı bildirilmektedir (Li et al., 2014). Komesu (Japonya pirinç sirkesi) ve Kurosu (siyah pirinç sirkesi)'nun antihipertansif ve antienflamatuar etkilerinin olduğu, aynı zamanda bu sirkelerde bulunan organik asitlerin kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli rol aldığı belirtilmektedir (Jing et al., 2015).

Çeşitli sirkelerin önemli seviyede antioksidan aktiviteye sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir. Bu aktivitenin, sirke içerisinde bulunan biyoaktif bileşenlerden kaynaklandığı ve bu bileşenlerin kullanılan sirke çeşidine bağlı olarak değiştiği bildirilmektedir (Karabiyikli and Sengun, 2017). Örneğin Kurosu'nun şarap ve elma sirkesinden daha zengin fenolik bileşenler içerdiği, dolayısıyla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Nishidai et al., 2000). Benzer şekilde, yulaf sirkesinin tokotrienol, fenolik bileşenler, flavonoidler, fitik asit, sterol ve avenantiraminler gibi fitokimyasallar içerdiği ve pirinç sirkesinden daha güçlü serbest radikal giderme aktivitesine ve lipid peroksidasyon inhibisyon etkisine sahip olduğu belirlenmiştir (Qiu et al., 2010). Genellikle tahıl ve meyve sirkelerinin, pişirme ve yıllardırma aşamalarında oluşan ve sirkedeki makromolekül bileşen olan melanoidinleri içermesi nedeni ile daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları bildirilmektedir (Tagliazucchi et al., 2010; Yang et al., 2014).

Çeşitli çalışmalarla sirkenin antikarsinojenik etkisi kanıtlanmıştır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, yüksek antioksidan aktiviteye ve zengin fenolik madde içeriğine sahip olan Kurosu'nun, kullanılan doza bağlı olarak kanser hücrelerinin gelişimini engellediği belirlenmiştir (Nanda et al., 2004). Antikanser özelliği kanıtlanmış bir bileşik olan triptofolun, Japonya siyah soya sirkesinden izole edildiği bildirilmektedir (Inagaki et al., 2007; Baba et al., 2013).

Ayrıca farklı sirkelerin kan lipid-seviyesini düşürücü etkisi olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Siyah sirke, domates sirkesi ve nar sirkesinin lipid düşürücü etkisinin bulunduğu ve antiobezite tedavisinde kullanılabilecek fonksiyonel bir ürün olduğu bildirilmektedir (Lee et al., 2013; Park et al., 2014; Chou et al., 2015).

Yapılan araştırmalar, sirkenin antibakteriyel, antienfeksiyon ve antioksidan etkilerinin, yapısında bulunan organik asitler, polifenol ve melanoidinlerden kaynaklandığını, zengin asetik asit içeriğinin ise kan glukozunun kontrolü, lipid metabolizmasının düzenlenmesi ve kilo kaybına neden olduğunu ortaya koymuştur (Chen et al., 2016).

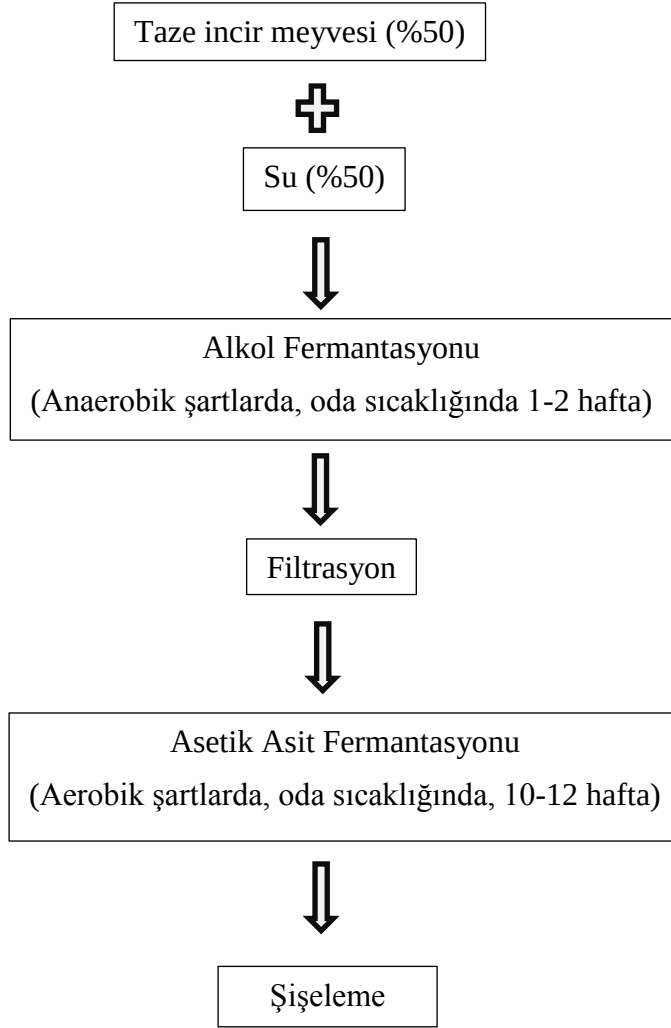
3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Çalışmada tez materyali olarak geleneksel yöntemlerle evde üretilmiş incir sirkeleri kullanılmıştır. Sirke örnekleri Türkiye'nin farklı illerinden temin edilmiştir (Çizelge 3.1). Örnekler sirkeleşme sürecini tamamlar tamamlamaz analizlerde kullanılmak üzere Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. İncir sirkesi üretimine ait akış şeması Şekil 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Sirke örnekleri ve üretim yerleri

Örnek kodu	Üretim yeri ve tarihi	Sirkelere ait fotoğraflar
A	AYDIN (Temmuz-Eylül 2015)	
B	GAZİANTEP (Temmuz-Eylül 2016)	
C	İZMİR (Ağustos-Ekim 2016)	
D	İZMİR (Ağustos-Ekim 2016)	



Şekil 3.1 Geleneksel yöntemle incir sirkesi üretimi (A ve C kodlu örneklerin üretiminde siyah incir, B ve D örneklerinde sarı incir kullanılmıştır).

3.2 Metot

3.2.1 Mikrobiyolojik analizler

Sirke örneklerinin mikrobiyolojik durumunu belirlemek amacıyla örneklerde küf-maya, laktik asit bakterisi ve asetik asit bakterisi sayımları yapılmıştır. Örnekler öncelikle 9 mL % 0,1'lik Peptonlu Suya (PW, pH 6,8±0,2, Oxoid Ltd. Basignstoke, Hampshire, England, L37, CM0009) aktarılarak desimal dilüsyonlar hazırlanmış ve daha sonra uygun dilüsyonlardan petrilere paralel ekimler yapılmıştır.

3.2.1.1 Küf-maya sayımı

Örneklerde küf ve maya sayısını belirlemek amacıyla uygun dilüsyonlardan %10'luk tartarik asitle (Merck KGaA, Darmstadt, Germany, Art-802) asitlendirilmiş Potato Dextrose Agar (PDA, pH 5,6±0,2, Oxoid-CM0139) besiyerine dökme plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petriler 25°C'de 3-5 gün inkübe edilmiştir (FDA-BAM, 2001).

3.2.1.2 Laktik asit bakterisi (LAB) sayımı

LAB sayımı için uygun dilüsyonlardan Man Rogosa and Sharp Agar (MRS, pH 6,2±0,2, Merck-VM040261) besiyerine dökme plak yöntemine göre ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler anaerobik şartlarda 30°C'de 3-5 gün inkübe edilmiştir (ISO 15214, 1998).

3.2.1.3 Asetik asit bakterisi (AAB) sayımı

AAB sayımı amacıyla sirke örneklerinin uygun dilüsyonlarından Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate Agar [GYC, %10 glikoz (Merck-K46444342), %1 maya ekstraktı (Oxoid-LP0021), %2 kalsiyum karbonat (Carlo Erba Reagents S.A.S, Via R. Merendi, 22 20010 Cornaredo, Italy, 327059), %1,5 agar (Oxoid-LP0011), pH 6,8±0,2] besiyerine yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petriler 30°C'de 5-10 gün inkübe edilmiştir. Süre sonunda petrilerde oluşan krem rengi ve çevresinde temiz presipitasyon zonu bulunan koloniler tipik AAB kolonisi olarak değerlendirilmiştir (De Vero et al., 2006).

3.2.1.4 AAB'lerinin izolasyonu ve izolatların muhafazası

AAB'lerinin izolasyonu amacıyla sayım yapılan GYC agar petrilerinden, koloni sayısının karekökü kadar koloni tanımlama amacıyla seçilmiştir. Seçilen kolonilerin saflığını belirlemek üzere GYC agar petrilerine çizme plak yöntemine göre ekimler yapılmış ve inkübasyon sonunda oluşan kolonilerde kültürel ve morfolojik incelemeler yapılmıştır (Gullo et al., 2006).

AAB'lerinin kısa süreli muhafazası amacıyla izolatlar önce GYC sıvı besiyerinde geliştirilmiş (30°C/48 saat), daha sonra mevcut sıvı kültürden öze ile, yatık GYC agar tüplerine çizim yapılmış ve tüpler 30°C'de inkübe edilmiştir. Elde edilen slant kültürler +4°C'de muhafaza edilerek analizlerde kullanılmıştır. AAB'leri +4°C'de canlılıklarını sadece bir ay sürdürebildiklerinden, kültürler ayda bir kez pasaj yapılmıştır (Sievers and Swings, 2005; Kersters et al., 2006; Komagata et al., 2014).

AAB'lerinin uzun süreli muhafazasında öncelikle izolatlar GYC sıvı besiyerinde geliştirilmiş ve elde edilen sıvı kültürler, içerisinde %30 gliserol (Sigma-Aldrich 3050 Spruce St. St. Louis, MO 63103, SZBB0800V) bulunan GYC sıvı besiyeri ile bire bir oranında karıştırılmıştır. Elde edilen %15'lik gliserol stoklar -18 °C'de muhafaza edilmiştir (De Vero et al., 2017).

3.2.1.5 AAB'si izolatlarının fenotipik olarak tanımlanması

AAB izolatlarına öncelikle Gram boyama ve katalaz testleri uygulanmıştır. Gram negatif ve katalaz pozitif özellik gösteren toplam 65 izolata fenotipik tanımlama testleri uygulanmıştır.

AAB izolatlarının fenotipik tanımlama testlerinde pozitif kontrol olarak *Acetobacter aceti* NBRC 14818, *Gluconobacter oxydans* NBRL 14819, *Asaia bogorensis* NBRL 16594, *Gluconoacetobacter liquafaciens* NBRL 12388, *Komagataibacter xylinus* NBRL 15237 (Biotec) kullanılmıştır. Referans kültürler Prof. Dr. Yuzo Yamada aracılığıyla Tayland Biyolojik Kaynak Araştırma Merkezinden (Thailand Bioresource Research Center) temin edilmiştir.

Gram boyama

24 saatlik sıvı kültürden yatık GYC Agar tüplerine öze ile ekimi yapılan izolatlar 30°C'de 24-48 saat inkübe edilmiş, daha sonra bu izolatların Gram reaksiyonları, gram boyama yapılarak belirlenmiştir (Harrigan and McCance, 1976).

Katalaz testi

Temiz bir lam üzerine 1 damla %10'luk H_2O_2 (Honeywell Riedel-de Haen AG, Seelze, Germany, 18304) çözeltisi alınmış, üzerine yatık GYC agar besiyerinde geliştirilmiş 24 saatlik kültürden bir öze dolusu aktarılarak süspanse edilmiştir. Hava kabarcıklarının oluşumu pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Harrigan and McCance, 1976).

Farklı pH değerlerinde gelişme

AAB izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişebilme özelliklerini belirlemek amacıyla GYC besiyerinde geliştirilen taze kültürlerden, pH'sı 1N HCl (J.T. Baker Chemical Co. 222 Red School Lane Phillipsburg, New Jersey 08865, UN1789)/1N NaOH (J.T. Baker-UN1823) veya 0,1 N HCl/0,1N NaOH ile 3,5 ve 10,0'a ayarlanmış GYC sıvı besiyerlerine ekim yapılmış ve tüpler 30°C'de 3-10 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda besiyerinde bulanıklık oluşturan izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Pitiwittayakul et al., 2016).

Farklı sıcaklıklarda gelişme

AAB izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişebilme özelliklerini belirlemek amacıyla GYC besiyerinde geliştirilen taze kültürlerden, GYC sıvı besiyerine (pH 6,8±0,2) ekim yapılmış ve tüpler 37°C ve 42°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta 3-10 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda bulanıklığın gözlemlendiği tüpler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Pitiwittayakul et al., 2016).

Asetat ve laktat oksidasyonu

AAB'lerinin asetat ve laktatı okside edebilme özelliklerini belirlemek amacıyla GYC besiyerinde geliştirilen taze kültürlerden, içerisinde 3 g pepton, 2 g maya ekstraktı, 2 g sodyum laktat (Alfasol, Alfa Kimya A.Ş. İstanbul, Türkiye, 14F309025) ya da sodyum asetat (Sigma-Aldrich-32H07761), 1000 mL distile su, %0,002 indikatör brom timol mavisi (Riedel de Haen-458068) bulunan besiyerine (pH 6,8±0,2) ekim yapılmış ve tüpler 30°C'de 7 gün inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda besiyerinde meydana gelen renk değişimine bağlı olarak izolatların asetat ve laktatı okside edebilme özellikleri belirlenmiştir (Asai et al., 1964).

Etanolden asit üretimi

AAB'lerinin etanolden asit üretebilme özelliklerini belirlemek amacıyla GYC besiyerinde geliştirilen taze kültürlerden, içerisinde 5 g maya ekstraktı, 10 g etanol, 1000 mL distile su ve indikatör olarak %0,002 brom kresol moru (Riedel de Haen-23220) bulunan besiyerine (pH 6,8±0,2) ekim yapılmış ve tüpler 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda tüplerde asit oluşumu ve besiyeri renginin mordan sarıya dönmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Asai et al., 1964).

Karbohidrat testleri

AAB izolatlarının farklı karbon kaynaklarını fermente edebilme özelliklerini belirlemek amacıyla GYC besiyerinde geliştirilen taze kültürlerden, içerisinde 5 g maya ekstraktı, 10 g karbon kaynağı, 1000 mL distile su ve indikatör olarak %0,002 brom kresol moru bulunan besiyerine (pH 6,8±0,2) ekim yapılmış ve tüpler 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda tüplerde asit oluşumu, besiyeri renginin mordan sarıya dönüşümü, pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Asai et al., 1964).

Bu amaçla kullanılan karbon kaynakları:

L(+)-arabinoz (Merck-K13600292)

D-galaktoz (Difco Laboratories, Detroit MI, 48232-7058 USA, 661310)

D(-)-mannitol (Difco-1168410A)

D(+)-melibioz (Sigma-Aldrich-63630)

D(+)-ksiloz (Merck-444M835992)

L(-)-sorboz (Merck-6342362)

D(+)-sakkaroz (Riedel de Haen-60590)

D-Fruktoz (Difco-1583681)

Mannoz (Difco-3035635)

Sorbitol (Merck-M309158)

Gliserol (Sigma-Aldrich-SZBB0800V)

3.2.2 Fiziksel ve kimyasal analizler

3.2.2.1 pH

Sirke örneklerinin pH değeri, Nel Mod 821 marka pH metre ile paralel ölçümler yapılarak belirlenmiştir (AOAC, 2007).

3.2.2.2 Toplam asitlik

Toplam asitlik titrimetrik yöntemle belirlenmiş, sonuçlar asetik asit cinsinden g/100 mL olarak ifade edilmiştir (AOAC, 2007).

3.2.2.3 Uçmayan asit

Uçmayan asit miktarı, sirke örneklerinde mevcut bulunan uçar asidin, destilasyon yöntemiyle uçurulmasından sonra kalan asidin fenolftalein (BDH Chemicals Ltd. Poole, England, 20088) belirteci kullanılarak 0,1 N NaOH (J.T.Baker-UN1823) ile titre edilmesiyle belirlenmiştir (AOAC, 2007).

3.2.2.4 Uçar asit

Uçar asit miktarı, toplam asit miktarından, uçmayan asit miktarı çıkarılarak hesaplanmıştır (AOAC, 2007).

3.2.2.5 Briks değeri

Sirke örneklerinin Briks değerleri saf su ile kalibre edilen refraktometre (Hanna HI 96801) cihazı kullanılarak belirlenmiştir (AOAC, 2007).

3.2.2.6 Kalıntı alkol

Sirke örneklerinde kalıntı alkol miktarı piknometrik yöntemle belirlenmiştir (AOAC, 2007).

3.2.2.7 Kül

Kül tayini 525°C’de kül fırını kullanılarak belirlenmiştir. 25 mL sirke örneği darası alınmış krozelere konulmuş, 100°C’de ön ısıtma yapılarak suyu uçurulan örnekler 525°C’deki kül fırınına (Carbolite Gero Ltd., Germany) yerleştirilmiştir. Sonuçlar g/L cinsinden ifade edilmiştir (AOAC, 2007).

3.2.2.8 Özgül ağırlık

Sirkede özgül ağırlık piknometrik yöntemle 20°C’deki yoğunluk belirlenerek hesaplanmıştır (AOAC, 2007).

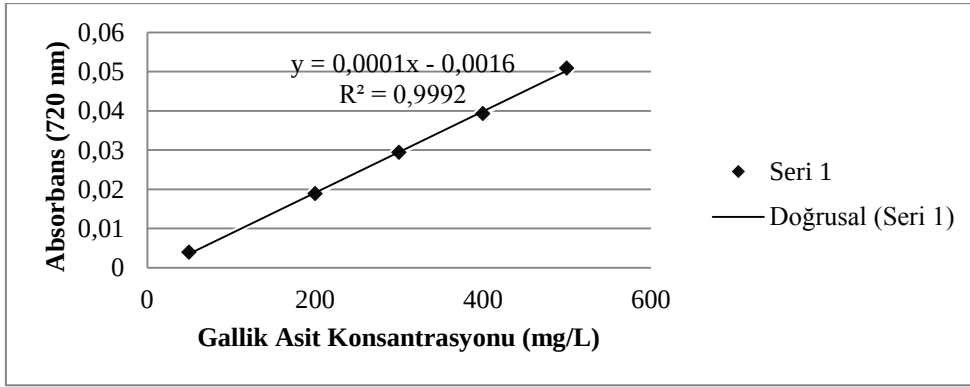
3.2.2.9 Renk

Sirke örneklerinde renk özellikleri HunterLab Colorflex (Management Company, USA) renk ölçüm cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerin L*, a*, b* değerleri, cihazın siyah ve beyaz standart levhaları ile kalibre edildikten sonra ölçülmüştür (Rommel et al., 1990).

3.2.2.10 Toplam fenolik madde içeriği

Toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. 75 mL saf su üzerine filtreden (0,2 µm, Sartorius Stedim) geçirilmiş 1 mL sirke örneği ve 5 mL %10’luk Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich-BCBR8781V) çözeltisi eklenerek karıştırılmış ve oda sıcaklığında 3 dakika

bekletilmiştir. Daha sonra karışıma 10 mL doymuş Na_2CO_3 (75 g/L, Horasan Boya ve Kimya Sanayi, İstanbul, Türkiye) çözeltisi eklenmiş ve karışım saf su ile 100 mL'ye tamamlandıktan sonra oda sıcaklığında 90 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda çift ışık yollu spektrofotometrede (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) 760 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. Standart çözelti olarak gallik asit (Merck-M842649) çözeltisi kullanılmıştır (Şekil 3.2). Sonuçlar, gallik asit eşdeğeri (mg GAE/L) olarak ifade edilmiştir (Cemeroğlu, 2013).



Şekil 3.2 Gallik asit standart kalibrasyon grafiği

3.2.2.11 Antioksidan aktivite

Sirke örneklerinde antioksidan aktivitenin tespiti amacıyla Singh ve arkadaşlarının (2002) belirlediği yöntem, modifiye edilerek kullanılmıştır. Filtre edilen (0,2 μm , Minisart Syringe Filter, Sartorius Stedim, Germany) 0,1 mL sirke örneği ile metanolde (Pür kimya, Purkem Kimya Sanayi, İstanbul, Türkiye, 197015) çözdürülerek hazırlanan 5 mL 0,1 mM DPPH (Sigma-Aldrich-STB68201) çözeltisi vorteks (Fisons, Whirlimixer, US, 4097-2) kullanılarak karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında karanlıkta 15 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 517 nm dalga boyunda çift ışık yollu spektrofotometrede (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) okuma yapılmıştır. Kontrol olarak metanol kullanılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilen formülle yüzde absorbans değeri hesaplanarak ifade edilmiştir.

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

A_k : kontrol absorbans değeri, A_{δ} : örnek absorbans değeri

3.2.3 İstatistiksel analizler

Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 15.0 paket programı kullanılmıştır (SPSS, 2004). Sonuçların ortalamaları arasındaki farklar Duncan's Multiple Range testi ile $P \leq 0,05$ önem seviyesinde tespit edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 İncir Sirkelerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Farklı şehirlerden toplanan ev yapımı incir sirkelerinin mikrobiyolojik özellikleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Sirke örneklerinde küf-maya sayısını belirlemek amacı ile asitlendirilmiş PDA petrilere ekim yapılmış, ancak bu petrilere herhangi bir küf gelişimi gözlemlenmediği için sonuçlar maya sayısı olarak ifade edilmiştir. Sirke örnekleri maya sayısı açısından değerlendirildiğinde, en düşük maya sayısının A kodlu sirke örneğinde (1,44 log KOB/mL), en yüksek sayının ise C kodlu sirke örneğinde (7,10 log KOB/mL) olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Yapılan çalışmalarda, mayaların alkol fermantasyonu sırasında yaklaşık olarak 10^2 ile 10^6 KOB/mL seviyelerine ulaştığı ve bu durumun sirke üretimi için uygun olduğu bildirilmektedir (Solieri et al., 2006).

Sirke üretiminde yüksek şeker ve düşük azot içeren ortamlarda gelişme yeteneğine sahip olan *S. cerevisiae*, hammaddede bulunan şekeri etil alkole dönüştürerek alkol fermantasyonunun gerçekleşmesini sağlamaktadır (Cocolin et al., 2004; Aykın, 2013). Bununla birlikte farklı hammaddelerden üretilen sirkelerde farklı maya cinsleri bulunabilmektedir. Örneğin *Kluyveromyces* cinsinin, peynir altı suyu sirkesi, bal sirkesi ve geleneksel balsamik sirke üretiminde kullanılan konsantre üzüm şirasından izole edildiği, *Zygosaccharomyces* cinsine ait bazı türlerin geleneksel balsamik sirke üretimi için önemli olduğu bildirilmektedir (Solieri et al., 2006; Giudici et al., 2017). Ancak *Pichia membranaefaciens* gibi sirke üretimi sırasında kötü koku ve yüzeyde film oluşumuna neden olan bazı mayaların fermantasyon ortamında bulunmaları istenmemektedir (Giudici et al., 2017).

Çizelge 4.1 İncir sirkelerinin mikrobiyolojik özellikleri

	log KOB/mL			
	A	B	C	D
Maya Sayısı	1,44±0,08 ^a	6,03±0,01 ^c	7,10±0,01 ^d	3,42±0,01 ^b
LAB Sayısı	1,91±0,05 ^a	6,61±0,12 ^c	6,81±0,15 ^c	5,86±0,01 ^b
AAB Sayısı	2,54±0,05 ^a	6,74±0,19 ^c	7,05±0,10 ^c	4,69±0,01 ^b

*AAB: Asetik asit bakterisi, LAB: Laktik asit bakterisi. Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0,05$).

Sirke örneklerinde LAB ve AAB sayılarının sırasıyla 1,91-6,81 log KOB/mL ve 2,54-7,05 log KOB/mL aralığında değişim gösterdiği, en düşük sayıların A örneğinde ve en yüksek sayıların ise C örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; maya, LAB ve AAB sayılarının en az A kodlu sirke örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Bu durum A kodlu sirke örneğinde asetik asit fermantasyonunun tamamlandığı ve dolayısıyla ortamın asitlik değerinin artmasıyla birlikte tüm mikroorganizma gruplarının sayılarında azalma sağlandığını göstermektedir. B, C ve D kodlu sirke örneklerinde ise asetik asit fermantasyonunun tam olarak bitmediği, ortamda yeterli seviyede asetik asit oluşmadığı ve bu yüzden maya, LAB ve AAB sayılarının A kodlu sirke örneğine göre çok daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.1).

Sirkede bulunan LAB'leri özellikle alkol fermantasyonu aşamasında önemli bir rol oynamakta ve ürettiği laktik asit ile ortam asitliğini arttırarak ürün güvenliğini sağlarken aynı zamanda da lezzet gelişimine katkıda bulunmaktadır (Rosma et al., 2016). Ancak sirkede bulunan LAB'lerinin incelendiği sadece birkaç çalışma bulunmaktadır (Haruta et al., 2006; Wu et al., 2012).

Sirkede bulunan AAB popülasyonunun genel olarak 10^8 hücre/mL seviyelerinde olduğu bildirilmektedir (Torija et al., 2010). Ancak bu sayı, yürütmüş olduğumuz bu çalışmada incir sirkesi örneklerinden elde edilen sonuçlarla kıyaslandığında daha yüksek kalmaktadır. Bu durumun, AAB'lerinin

birçok türünün kültüre edilememe özelliğinden dolayı mevcut besi ortamında gelişip koloni oluşturmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Literatürde incir sirkesinin mikrobiyolojik özelliklerinin incelendiği sadece bir çalışma bulunmaktadır. Sengun (2013) tarafından yapılan bu çalışmada, geleneksel yöntemlerle Türkiye'nin farklı illerinde üretilen ev yapımı incir sirkeleri incelenmiş, örneklerde küf-maya sayılarının <1 ile $6,49 \log \text{ KOB/mL}$, LAB sayılarının $0,81$ ile $8,20 \log \text{ KOB/mL}$ ve AAB sayılarının ise $2,68$ ile $6,51 \log \text{ KOB/mL}$ arasında değiştiği belirlenmiştir. Çalışma kapsamında sirke örnekleri patojen mikroorganizmalar açısından da incelenmiş ve yeterli asitlik değerine sahip olmayan örnekler de dahil olmak üzere hiçbir sirke örneğinde *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* ve *Bacillus cereus*'un bulunmadığı tespit edilmiştir (Sengun, 2013).

Türkiye'de geleneksel yöntemlerle üretilen farklı sirke çeşitlerinin mikrobiyolojik özelliklerinin incelendiği diğer bir çalışmada, küf-maya sayılarının <10 ile $2,9 \times 10^6 \text{ KOB/mL}$ arasında değiştiği, LAB sayılarının <10 ile $5,6 \times 10^6 \text{ KOB/mL}$ arasında, AAB sayılarının ise <10 ile $1,1 \times 10^9 \text{ KOB/mL}$ arasında değiştiği belirlenmiştir (Ozturk et al., 2015). Bu çalışma kapsamında incelenen sirke örnekleri içerisinde genel olarak ev yapımı sirkelerin mikrobiyal yüklerinin endüstriyel sirkelere kıyasla daha yüksek olduğu, en yüksek LAB ve AAB sayılarının Niğde'de geleneksel olarak üretilen elma sirkesinde bulunduğu belirtilmiştir. Endüstriyel olarak üretilen sirkelerde bir örnek dışında diğer tüm sirke örneklerinde küf-maya, LAB ve AAB sayılarının tespit seviyesinin altında kalması, doğal olarak bu tip sirkelerin üretiminde uygulanan pastörizasyon işleminden kaynaklanmaktadır.

Farklı sirkeler üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, sirke üretiminde kullanılan hammadde ve fermantasyon işlemlerinin, ürünün mikrobiyolojik kalitesini etkilediğini ortaya koymaktadır. Sirkede meydana gelen bozulmalar, genellikle küf ve maya gibi istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesi sonucunda, ortam asitlik değerinin düşmesi neticesinde gerçekleşmektedir (Giudici et al., 2017).

4.2 İncir Sirkesinden AAB'lerinin İzolasyonu ve Fenotipik Olarak Tanımlanması

AAB'si sayımı yapılan petrilere, Bölüm 3.2.1.5'te belirtildiği şekilde, toplam 71 adet izolat elde edilmiştir. Elde edilen izolatlara öncelikle Gram boyama ve katalaz testi uygulanmıştır. AAB'lerinin karakteristik özelliklerinden biri de pH 3,5'de gelişim gösterebilmeleridir (Malimas et al., 2017). Bu nedenle mevcut izolatların pH 3,5'de gelişebilme özellikleri de incelenmiş ve sonuç olarak Gram negatif, katalaz pozitif özellik gösteren ve ayrıca pH 3,5'de gelişebilen izolatlar potansiyel AAB'si olarak değerlendirilmiştir. Örnek bazında bakıldığında A kodlu sirke örneğinden 17 izolat, B kodlu sirke örneğinden 36 izolat, C kodlu sirke örneğinden 8 ve D kodlu sirke örneğinden 4 izolat olmak üzere toplam 65 izolat AAB'si olarak değerlendirilmiştir.

Elde edilen izolatların cins ve tür bazında tanımlamalarını yapabilmek amacıyla referans kültürler kontrol olarak kullanılmak suretiyle bazı fenotipik tanımlama testleri yapılmıştır. Çizelge 4.2'de AAB'si izolatlarının farklı sıcaklıklarda gelişme (37°C ve 42°C), farklı pH değerlerinde gelişme (3,5 ve 10), etanolden asit üretimi, asetat ve laktat oksidasyonunu gerçekleştirme özellikleri verilmiştir.

Çizelge 4.2 AAB'si izolatlarına ait bazı biyokimyasal analiz sonuçları

İzolat	Farklı Sıcaklıklarda		Farklı pH'larda		Etanolden		Asetat Oksidasyonu	Laktat Oksidasyonu
	Gelişme		Gelişme		Üretimi			
	37°C	42°C	3,5	10				
<i>Acetobacter aceti</i> NBRC 14818	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Gluconobacter oxydans</i> NBRL 14819	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Asaia bogorensis</i> NBRL 16594	-	-	+	+	-	±	±	±
<i>Gluconoacetobacter liquafaciens</i> NBRL 12388	-	-	+	-	+	+	+	+
<i>Komagateibacter xylinus</i> NBRL 15237	+	+	+	+	+	+	+	+
AA1	+	+	+	+	-	-	±	±
AA2	-	-	+	+	-	-	±	±
AA3	-	-	+	+	-	±	±	±

Çizelge 4.2'nin devamı

İzolat	Farklı Sıcaklıklarda		Farklı pH'larda		Etanolden Asit Üretimi		Asetat Oksidasyonu	Laktat Oksidasyonu
	Gelişme		Gelişme		Asit			
	37°C	42°C	3,5	10				
AA4	+	-	+	+	-		±	±
AA5	-	-	+	+	+		±	±
AA6	-	-	+	+	-		±	±
AA7	+	+	+	+	-		±	±
AA8	+	+	+	+	-		±	±
AA9	+	+	+	+	-		±	±
AA10	+	+	+	+	-		+	+
AA11	+	-	+	+	-		+	+
AA13	+	-	+	+	±		±	±
AA14	+	+	+	+	-		±	±
AA15	+	-	+	-	-		±	±
AA16	+	-	+	+	-		±	±
AA17	+	-	+	-	±		±	±
AA18	-	-	+	+	±		±	±

Çizelge 4.2'nin devamı

İzolat	Farklı Sıcaklıklarda			Farklı pH'larda		Etanolden		Asetat Oksidasyonu	Laktat Oksidasyonu
	Gelişme		42°C	Gelişme		Asit Üretimi			
	37°C			3,5	10				
BA1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA3	+	-	+	+	-	+	+	+	+
BA4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA5	+	-	+	+	-	+	+	+	+
BA6	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA8	+	-	+	+	+	+	+	+	+
BA9	+	-	+	+	-	+	+	+	+
BA10	+	-	+	+	-	+	+	+	+
BA11	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA12	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA15	+	-	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge 4.2'nin devamı

İzolat	Farklı Sıcaklıklarda		Farklı pH'larda		Etanolden		Asetat Oksidasyonu	Laktat Oksidasyonu
	Gelişme		Gelişme		Asit Üretimi			
	37°C	42°C	3,5	10				
BA30	+	+	+	+	+	+	+	+
BA31	+	+	+	+	+	+	+	+
BA32	+	+	+	+	+	+	+	+
BA33	+	+	+	+	+	+	+	+
BA34	+	+	+	+	+	+	+	+
BA35	+	+	+	+	+	+	+	+
BA37	+	+	+	+	+	+	+	+
BA38	+	+	+	+	+	+	+	+
BA39	+	+	+	+	+	+	+	+
CA1	+	-	+	-	+	+	+	+
CA2	+	-	+	-	+	+	+	+
CA3	+	-	+	-	+	+	+	+
CA4	+	-	+	-	+	+	+	+
CA5	+	-	+	-	+	+	+	+

Çizelge 4.2'nin devamı

İzolat	Farklı Sıcaklıklarda		Farklı pH'larda		Etanolde		Asetat Oksidasyonu	Laktat Oksidasyonu
	Gelişme		Gelişme		Üretimi			
	37°C	42°C	3,5	10	Asit			
CA7	+	-	+	-	+	-	-	-
CA8	+	-	+	-	+	+	+	+
CA9	+	-	+	-	+	+	+	+
DA2	+	-	+	+	+	+	+	+
DA3	+	+	+	+	+	+	+	+
DA4	+	+	+	+	+	+	+	+
DA5	+	-	+	+	+	+	+	+

+: pozitif, -: negatif, ±: zayıf.

İzolatların cins düzeyinde tanımlanması, asetat ve laktat oksidasyonu testleri ve etanolden asit üretimi testleri ile belirlenmiştir (Asai et al., 1964; Malimas et al., 2017). Asetat ve laktat oksidasyonunu gerçekleştirerek besiyeri rengini hızlıca maviye çeviren izolatların *Acetobacter* cinsine ait oldukları, asetat ve laktat oksidasyonunu yavaş şekilde gerçekleştiren fakat besiyerinin rengini sarıya çeviren izolatların *Komagateibacter* cinsine ait oldukları, asetat ve laktat oksidasyonunu gerçekleştirmeyen izolatların ise *Gluconobacter* cinsine ait oldukları bildirilmektedir (Malimas et al., 2017). Ayrıca etanolden asit üreten izolatların *Acetobacter*, *Komagateibacter*, *Granulibacter*, *Gluconobacter* cinslerine ait olduğu, etanolden asit üretmeyen veya düşük seviyede üreten izolatların *Asaia* veya *Saccharibacter* cinslerine ait olduğu bildirilmektedir (Malimas et al., 2017). Test sonuçları bu bilgiler ışığında değerlendirildiğinde, 65 izolattan %30,7'sinin *Acetobacter*, %41,5'inin *Komagateibacter*, %21,5'inin *Asaia*, %3'ünün *Saccharibacter*, %1,5'inin *Gluconobacter* ve %1,5'inin ise *Granulibacter* cinsine ait olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

İzolatların tür düzeyinde tanımlamalarını yapabilmek için, tüm izolatlara karbohidrat testleri uygulanmıştır. Çizelge 4.3'te izolatlara uygulanan karbohidrat testlerine ait sonuçlar yer almaktadır.

Çizelge 4.3 Karbohidrat testi sonuçları

İzolat	Mannitol	Sorboz	Galaktoz	Ksiloz	Arabinoz	Sakkaroz	Melibioz	Fruktoz	Maltoz	Sorbitol	Gliserol
<i>Acetobacter aceti</i>	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
NBRC 14818											
<i>Gluconobacter</i>											
<i>oxydans</i> NBRL	-	±	±	+	±	-	±	-	-	-	-
14819											
<i>Asaia bogorensis</i>											
NBRL 16594	±	+	+	+	+	+	+	±	-	±	±
<i>Gluconoacetobacter</i>											
<i>liquafaciens</i> NBRL	-	±	±	+	±	-	±	-	-	-	-
12388											
<i>Komagataeibacter</i>											
<i>xylinus</i> NBRL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15237											
AA1	-	±	-	±	±	-	-	-	-	-	-
AA2	-	±	-	±	±	-	-	-	-	-	-
AA3	-	±	-	±	±	-	-	-	-	-	-

Çizelge 4.3'ün devamı

İzolat	Mannitol	Sorboz	Galaktoz	Ksiloz	Arabinoz	Sakkaroz	Melibioz	Fruktoz	Maltoz	Sorbitol	Gliserol
BA15	+	+	+	+	±	+	-	+	+	±	-
BA16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA34	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA35	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BA38	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
BA39	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CA1	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
CA2	-	-	±	+	±	-	±	-	-	-	-

Çizelge 4.3'ün devamı

İzolat	Mannitol	Sorboz	Galaktoz	Ksiloz	Arabinoz	Sakkaroz	Melibioz	Fruktoz	Maltoz	Sorbitol	Gliserol
CA3	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
CA4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CA5	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
CA7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CA8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CA9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DA2	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
DA3	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
DA4	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
DA5	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

+: pozitif, -: negatif, ±: zayıf.

AB'lerinin farklı karbon kaynaklarından asit üretme özelliğine bağlı olarak tür düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır (Lisdiyant et al., 2000; Yamada et al., 2000; Jojima et al., 2004; Greenbeng et al., 2006; Malimas et al., 2008; Iino et al., 2012; Spitaels et al., 2014; Yamada, 2014; Pitiwittayakul et al., 2015; Tanasupawat et al., 2004; Malimas et al., 2017). Bu çalışma kapsamında da incir sirkesinden izole edilen 65 adet AAB'si izolatının fenotipik özelliklere dayalı tanımlaması yapılmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 AAB'si izolatlarına ait fenotipik tanımlama sonuçları

İzolat	
kodu	Cins/Tür ismi
AA1	<i>Sa. floricola</i>
AA2	<i>Sa. floricola</i>
AA3	<i>Asaia</i> sp.
AA4	<i>Asaia</i> sp.
AA5	<i>Gr. bethesdensis</i>
AA6	<i>Asaia</i> sp.
AA7	<i>Asaia</i> sp.
AA8	<i>Asaia</i> sp.
AA9	<i>Asaia</i> sp.
AA10	<i>Asaia</i> sp.
AA11	<i>Asaia</i> sp.
AA13	<i>Asaia</i> sp.
AA14	<i>Asaia</i> sp.
AA15	<i>Asaia</i> sp.
AA16	<i>Asaia</i> sp.
AA17	<i>Asaia</i> sp.
AA18	<i>Asaia</i> sp.
BA1	<i>K. xylinus</i>
BA2	<i>A. cerevisiae/A. malorum</i>
BA3	<i>A. aceti/A. persici</i>
BA4	<i>K. xylinus</i>

Çizelge 4.4'ün devamı

İzolat	
kodu	Cins/Tür ismi
BA5	<i>A. ghanensis</i>
BA6	<i>K. xylinus</i>
BA7	<i>K. xylinus</i>
BA8	<i>A. aceti/A. persici</i>
BA9	<i>A. aceti/A. persici</i>
BA10	<i>A. aceti/A. persici</i>
BA11	<i>K. xylinus</i>
BA12	<i>K. xylinus</i>
BA15	<i>A. aceti/A. persici</i>
BA16	<i>K. xylinus</i>
BA17	<i>K. xylinus</i>
BA18	<i>K. xylinus</i>
BA19	<i>K. xylinus</i>
BA20	<i>K. xylinus</i>
BA21	<i>K. xylinus</i>
BA22	<i>K. xylinus</i>
BA23	<i>K. xylinus</i>
BA24	<i>K. xylinus</i>
BA25	<i>K. xylinus</i>
BA26	<i>K. xylinus</i>
BA27	<i>K. xylinus</i>
BA28	<i>K. xylinus</i>
BA29	<i>K. xylinus</i>
BA30	<i>K. xylinus</i>
BA31	<i>K. xylinus</i>
BA32	<i>K. xylinus</i>
BA33	<i>A. cerevisiae/A. malorum</i>
BA34	<i>K. xylinus</i>
BA35	<i>K. xylinus</i>

Çizelge 4.4'ün devamı

İzolat	
kodu	Cins/Tür İsmi
BA37	<i>K. xylinus</i>
BA38	<i>A. cerevisiae/A. malorum</i>
BA39	<i>K. xylinus</i>
CA1	<i>A. aceti/ A. persici</i>
CA2	<i>A. aceti/ A. persici</i>
CA3	<i>A. aceti/ A. persici</i>
CA4	<i>A. peroxydans/A. cibirangensis</i>
CA5	<i>A. okinawensis</i>
CA7	<i>G. thailandicus</i>
CA8	<i>A. peroxydans/ A. cibirangensis</i>
CA9	<i>A. peroxydans/A. cibirangensis</i>
DA2	<i>A. okinawensis</i>
DA3	<i>A. farinalis</i>
DA4	<i>A. farinalis</i>
DA5	<i>A. okinawensis</i>

*A.: *Acetobacter*, K.: *Komagataeibacter*, Gr.: *Granulibacter*, G.: *Gluconobacter* Sa.: *Saccharibacter*

A kodlu sirke örneğinden izole edilen AAB'lerinin ağırlıklı olarak *Asaia* cinsine ait türleri içerdiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu örneğe ait 3 adet izolat *Gr. bethesdensis* ve *Sa. floricola* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.4). Sirkede bulunan AAB'lerinin tanımlandığı önceki çalışmalar incelendiğinde, bu iki AAB'si türünün daha önce sirkeden izole edilmeyen türler olduğu görülmektedir.

B kodlu sirke örneğinden izole edilen AAB'si izolatlarının çoğunlukla *K. xylinus* referans kültürüyle benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir. B kodlu sirkeden izole edilen diğer izolatlar ise *A. aceti/A. persici*, *A. cerevisiae/A. malorum*, *A. ghanensis* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.4).

C kodlu sirke örneğinden izole edilen 8 AAB'si izolatının üçünün *A. cibirangensis/A. peroxydans* türlerine, diğer üçünün *A. aceti/A. persici* türlerine,

birinin *A. okinawensis* türüne, diğer bir izolatın ise *G. thailandicus* türüne ait olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

D kodlu sirke örneğinden izole edilen 4 AAB'si izolatının ikisinin *A. okinawensis* türüne ait olduğu, diğer ikisinin ise *A. farinalis* türüne ait olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.5'de dört farklı incir sirkesinden izole edilen izolatların tür düzeyinde dağılımları verilmiştir.

Çizelge 4.5 İncir sirkesinden izole edilen 65 adet izolatın tür düzeyinde dağılımları

AAB izolatları	A	B	C	D
<i>A. aceti/A. persici</i>	-	%62,5	%37,5	-
<i>A. cerevisiae/A. malorum</i>	-	%100	-	-
<i>A. cibirangensis/A. peroxydans</i>	-	-	%100	-
<i>A. farinalis</i>	-	-	-	%100
<i>A. ghanensis</i>	-	%100	-	-
<i>A. okinawensis</i>	-	-	%33,3	%66,6
<i>Asaia</i> spp.	%100	-	-	-
<i>G. thailandicus</i>	-	-	%100	-
<i>Gr. bethesdensis</i>	%100	-	-	-
<i>K. xylinus</i>	-	%100	-	-
<i>Sa. floricola</i>	%100	-	-	-

Bu çalışma kapsamında tanımlanan izolatlar genel olarak değerlendirildiğinde, izolatların %12,3'ünü *A. aceti/A. persici*, %4,61'ini *A. cerevisiae/A. malorum*, %4,61'ini *A. cibirangensis/A. peroxydans*, %3'ünü *A. farinalis*, %1,5'ini *A. ghanensis*, %4,61'ini *A. okinawensis*, %21,5'ini *Asaia* spp., %1,5'ini *G. thailandicus*, %1,5'ini *Gr. bethesdensis*, %41,5'ini *K. xylinus* ve %3'ünü *Sa. floricola*'nın oluşturduğu belirlenmiştir.

Türkiye'de geleneksel yöntemlerle üretilen elma ve üzüm sirkelerinin incelendiği bir çalışmada, AAB izolatları *A. okinawensis*, *A. persici*, *A.*

indonesiensis, *A. szzygii*, *A. ghanensis*, *A. tropicalis*, *As. krungthepensis*, *K. hansenii*, *K. europaeus*, *K. intermedius*, *K. xylinus*, *K. nataicola*, *K. oboediens*, *K. saccharivorans* olarak tanımlanmıştır (Yetiman and Kesmen, 2015). Yapılan diğer bir çalışmada Kore’de geleneksel olarak üretilen sirkelerde *A. pasteurianus*, *A. aceti* (Lee et al., 2015) ve *A. pomorum* (Baek et al., 2014) türlerinin bulunduğu belirlenmiştir. Gullo ve arkadaşları (2009), geleneksel balsamik sirke’de bulunan AAB’si türlerinin *A. pasteurianus* ve *Ga. europaeus* olduğunu bildirmişlerdir. Wu ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışmada Shanxi yıllanmış sirkesinde bulunan AAB türleri *A. pasteurianus*, *A. indonesiensis*, *A. malorum*, *A. orientalis*, *A. senegalensis* ve *G. oxydans* olarak tanımlanmıştır. Çin’de üretilen Kayısı sirkesinde ise *A. estunensis*, *A. ghanensis*, *A. orleonensis*, *A. pomorum*, *A. pasteurianus*, *A. szzygii* türlerinin bulunduğu belirlenmiştir (Fu et al., 2013). Geleneksel olarak Çin’de üretilen sirkelerden biri olan Zhenjiang aromatik sirkesinde bulunan türler ise *A. tropicalis*, *A. pasteurianus* ve *Ga. europaeus* olarak tanımlanmıştır (Wang et al., 2015).

Yapılan tüm bu çalışmalar, farklı sirkelerde, kullanılan hammadde ve üretim yöntemlerine bağlı olarak, AAB’lerinin de farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. *A. pasteurianus* birçok sirke çeşidinde yaygın olarak bulunmakta, *A. aceti*, *A. cerevisiae*, *A. oboediens*, *A. orleanensis*, *A. malorum*, *A. pomorum*, *A. szzygii*, *Ga. entanii*, *K. europaeus*, *K. hansenii*, *K. intermedius*, *K. saccharivorans* ve *K. xylinus* ise çeşitli sirkelerden en sık izole edilen AAB’si türleri olarak karşımıza çıkmaktadır.

4.3 İncir Sirkelerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

4.3.1 pH

İncir sirkelerinin pH değerleri 3,51 ile 3,75 arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.6). Sirke örneklerinde en yüksek pH değerinin A kodlu sirke örneğinde ($3,75 \pm 0,21$), en düşük pH değerinin ise C kodlu sirke örneğinde ($3,51 \pm 0,02$) bulunduğu belirlenmiştir ($P > 0,05$). Meyve sirkelerinde istenmeyen aromatik maddelerin oluşmasına neden olan bazı mikroorganizma gruplarının engellenebilmesi için pH değerinin yaklaşık 3,5 gibi düşük değere sahip olması

gerektiği bildirilmektedir (Giudici et al., 2017). Elde edilen sonuçlar içerisinde C kodlu örneğin bu kritere uygunluk gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.6). Sengun (2013) tarafından incir sirkeleri üzerine yapılan bir önceki çalışmada, sirke örneklerinde pH değerinin 3,05 ile 3,73 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun dışında farklı tekniklerle üretilen dut sirkesinde pH değerinin 3,08 olduğu (Budak, 2015), geleneksel yöntemlerle üretilen üzüm sirkelerinde pH değerinin 2,70 ile 3,90 arasında, elma sirkelerinde ise 2,71 ile 3,50 arasında değişim gösterdiği (Ozturk et al., 2015) bildirilmiştir.

Çizelge 4.6 İncir sirkelerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

	A	B	C	D
pH	3,75±0,21 ^a	3,57±0,03 ^a	3,51±0,02 ^a	3,67±0,01 ^a
Briks	21,2±0,00 ^d	1,80±0,00 ^b	1,30±0,00 ^a	2,30±0,00 ^c
Toplam Asitlik (g/100 mL)*	4,87±0,33 ^c	3,17±0,14 ^b	2,16±0,09 ^a	1,93±0,13 ^a
Uçar Asit (g/100 mL)*	3,67±0,33 ^d	2,69±0,14 ^c	1,92±0,09 ^b	1,25±0,13 ^a
Uçmayan Asit (g/100 mL)*	1,20±0,00 ^d	0,48±0,00 ^b	0,24±0,00 ^a	0,68±0,00 ^c
Kalıntı Alkol (%, 20°C)	2,04±0,00 ^a	2,52±0,00 ^b	2,59±0,00 ^b	3,09±0,00 ^c
Özgül Ağırlık	0,9970±0,0 ^c	0,9963±0,0 ^b	0,9962±0,0 ^b	0,9955±0,0 ^a
Kül (g/L)	11,5±0,00 ^d	3,6±0,00 ^c	3,2±0,00 ^b	2,6±0,00 ^a

*: Asetik asit cinsinden. Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0,05$).

4.3.2 Briks

Sirke örneklerinin Briks değerleri 1,30 ile 21,2 arasında değişim göstermiş olup, en yüksek Briks değerinin A kodlu sirke örneğinde (21,2±0,00) olduğu açık şekilde görülmektedir (Çizelge 4.6). Araştırmacılar Briks değerini sirkede çözünen kuru madde değeri olarak tanımlamış ve farklı sirke örneklerinde Briks değerlerinin kullanılan hammaddeye ve üretim tekniğine bağlı olarak değişim gösterebileceğini bildirmişlerdir (Saiz-Abajo et al., 2004). Alkol ve şarap

sirkelerinde Briks değerinin sırasıyla 3,30 - 3,40 ve 3,80 - 5,00 aralığında değişim gösterdiği, dut sirkesinde Briks değerinin 3,10 olduğu, geleneksel elma ve üzüm sirkelerinde ise bu değerin 1,02 ile 20,80 arasında değiştiiği bildirilmektedir (Saiz-Abajo et al., 2004; Budak, 2015; Ozturk et al., 2015). Bununla birlikte üretim yöntemi açısından diğer sirkelerden oldukça farklılık gösteren geleneksel balsamik sirkesinin en önemli karakteristik özelliklerinden biri, Briks değerinin diğer sirkelere kıyasla oldukça yüksek olmasıdır (Giudici et al., 2017). Örneğin Masino ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada geleneksel balsamik sirkenin Briks değerinin 55,00'in üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Masino et al., 2008).

4.3.3 Toplam asit, uçar asit ve uçmayan asit

İncir sirkesi örneklerinde toplam asitlik değerlerinin 1,93 ile 4,87 g asetik asit/100 mL arasında değiştiiği belirlenmiştir (Çizelge 4.6). En yüksek asitlik değerinin A kodlu sirke örneğinde ($4,87 \pm 0,33$ g asetik asit/100 mL), en düşük asitlik değerinin ise D kodlu sirke örneğinde ($1,93 \pm 0,13$ g asetik asit/100 mL) olduğu belirlenmiştir. TSE standardına göre ülkemizde üretilen sirkelerde toplam asit içeriğinin 40 g/L'den az olmaması gerekmektedir (TSE, 2016). Dolayısıyla, bu çalışma kapsamında incelenen sirke örnekleri içerisinde toplam asitlik içeriği açısından standarda uygunluk gösteren tek örneğin A kodlu sirke örneği olduğu görülmektedir.

Çalışma kapsamında incir sirkesi örneklerinde uçar asit ve uçmayan asit miktarları da belirlenmiştir. Sirke örneklerinin uçar asit miktarları, toplam asitlik miktarları ile paralellik göstermiş, en yüksek uçar asit miktarı A örneğinde bulunurken ($3,67$ g asetik asit/100 mL), en düşük miktar D örneğinde ($1,25$ g asetik asit/100 mL) tespit edilmiştir. Bununla birlikte uçmayan asit miktarı A kodlu sirke örneğinde $1,20$ g asetik asit/100 mL olarak bulunurken, B, C ve D kodlu sirke örneklerinde sırasıyla $0,48$; $0,24$ ve $0,68$ g asetik asit/100 mL olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Önceki çalışma kapsamında incelenen incir sirkelerinin uçar asit ve uçmayan asit miktarlarının sırasıyla, $1,97$ - $6,46$ g asetik asit/100 mL ve $0,07$ - $0,53$ g asetik asit/100 mL arasında değiştiiği belirlenmiştir (Sengun, 2013). Yapılan diğer bir çalışmada, 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 (Akbaş ve Cabaroğlu, 2010).

Sengun (2013) tarafından incir sirkeleri üzerine yapılan çalışmada, sekiz farklı incir sirkesine ait toplam asitlik değerlerinin 2,10 ile 6,97 g asetik asit/100 mL aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Üzüm sirkesinin asitlik değerlerinin incelendiği diğer bir çalışmada, 12 farklı üzüm sirkesinde toplam asitlik değerlerinin 3,96 ile 5,36 g asetik asit/100 mL arasında değiştiği belirlenmiştir (Akbaş ve Cabaroğlu, 2010). Başka bir çalışmada, Türkiye’de üretilen geleneksel elma ve üzüm sirkelerindeki toplam asitlik miktarlarının 0,56 ile 7,20 g asetik asit/100 mL arasında değişen değerlere sahip olduğu bildirilmiştir (Ozturk et al., 2015). Tüm bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, kontrolsüz şartlarda geleneksel yöntemlerle evlerde üretilen sirkelerde çoğu zaman istenen asitlik seviyelerine ulaşamadığı görülmektedir.

4.3.4 Alkol

Sirkede bulunan alkol miktarı önemli kalite kriterlerinden birisidir. İdeal bir sirke üretiminde ortamda bulunan etanolün hemen hemen tamamının asetik aside dönüşmesi beklenmektedir ve bu durumda sirke veriminin yüksek olduğundan bahsedilebilir. Pratikte konsantrasyon verimi %95-98 seviyelerinde bulunur, %2-5 oranındaki kısım büyük oranda buharlaşma neticesinde kaybolan kısımdır (Aktan ve Kalkan, 2011; Giudici et al., 2017). TSE standardında kalıntı alkol oranının şarap sirkesi dışındaki sirkelerde %0,5’ten, şarap sirkelerinde ise %1,5’ten fazla olmaması gerektiği bildirilmektedir (TSE, 2016). Bu çalışma kapsamında incelenen incir sirkesi örneklerinde kalıntı alkol miktarı %2,04 ile 3,09 arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.6). Elde edilen sonuçlar standart değerler ile karşılaştırıldığında (TSE, 2016), incelenen sirke örneklerinin kalıntı alkol miktarı açısından standarda uygunluk göstermedikleri görülmektedir. Benzer şekilde Şahin ve Kılıç (1981) tarafından yapılan çalışmada da incelenen 23 adet sirke örneğinin altısında alkol miktarının hacimce %1,5’in üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

4.3.5 Özgöl ağırlık

Örneklerin özgöl ağırlık miktarları 0,9955 ile 0,9970 aralığında değişim göstermiştir (Çizelge 4.6). Sengun (2013) tarafından yapılan çalışmada incir sirkelerinin özgöl ağırlığının 1,0002 ile 1,1448 arasında olduğu belirlenmiştir. Şahin ve arkadaşları (1977) tarafından yapılan bir çalışmada, üzüm sirkelerinde özgöl ağırlığın 1,0100 ile 1,0119 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Hint kamışı sirkesinin (bamboo vinegar) özgöl ağırlık değerinin orijinal sirkede 1,0246 ile 1,0257 arasında, damıtılmış sirkede 1,0130 ile 1,0095 arasında, eter-ekstraktı sirkede 1,0031 ile 0,9666 arasında değiştiği bildirilmektedir (Mu et al., 2003). Dolayısıyla bu çalışmada incelenen incir sirkesi örneklerinin özgöl ağırlıklarının, önceki çalışma kapsamında incelenen sirke örneklerine kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir.

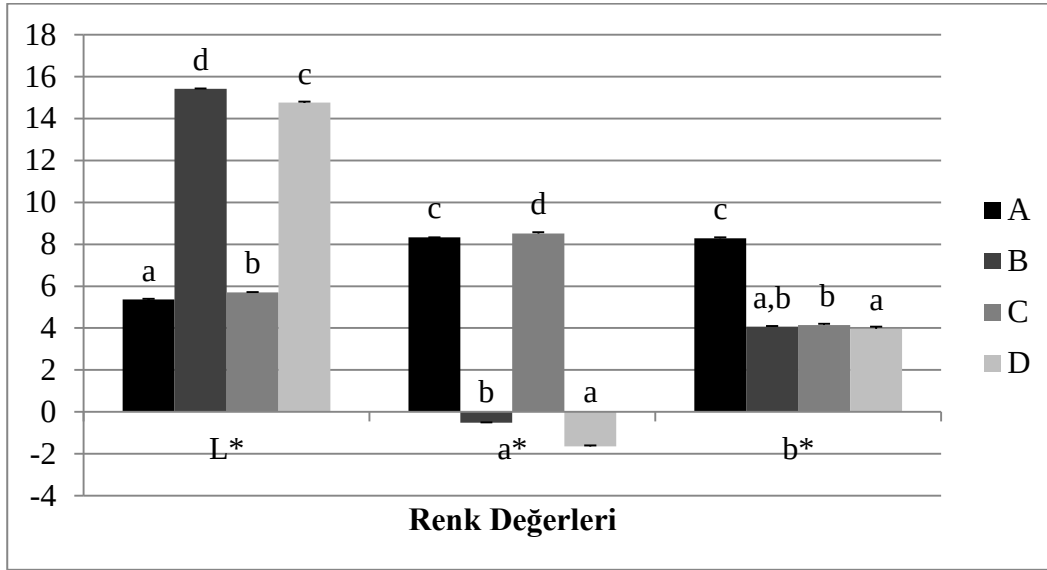
4.3.6 Kül

Kül miktarı sirkede yanmadan kalan inorganik yapıdaki maddelerin toplamını göstermektedir. Yapılan çalışmada incir sirkesi örneklerinin kül miktarları 2,6 g/L ile 11,5 g/L arasında değişim göstermiştir. En yüksek kül miktarı A kodlu sirke örneğinde iken en düşük kül miktarı D kodlu sirke örneğinde belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Sengun (2013) tarafından yapılan bir önceki çalışmada, 8 farklı incir sirkesi örneğinde kül miktarının 1,11 ile 5,60 g/L arasında değiştiği tespit edilmiştir. İncir sirkesi dışında diğer sirkelerde kül miktarının üzüm sirkelerinde 0,74 ile 3,56 g/L arasında, bal sirkelerinde 0,11 ile 2,72 g/L arasında ve şarap sirkelerinde 2,03 ile 2,61 g/L arasında değiştiği bildirilmiştir (Gerbi et al., 1998; Akbaş ve Cabaroğlu, 2010; Alak, 2015). İncir sirkesinde kül miktarının diğer sirkeler ile kıyaslandığında çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuç, incir meyvesinin mineral maddeler açısından zengin bir kaynak olması ile ilişkilendirilebilir.

4.3.7 Renk

İncir sirkelerinin renk özellikleri Şekil 4.1'de verilmiştir. Sirkelerde L*, a*, b* değerleri sırasıyla A örneğinde 5,36, 8,32, 8,29, B örneğinde 15,42, -0,52,

4,07, C örneğinde 5,70, 8,51, 4,15 ve D örneğinde 14,75, -1,65, 3,96 olarak bulunmuştur (Şekil 4.1).

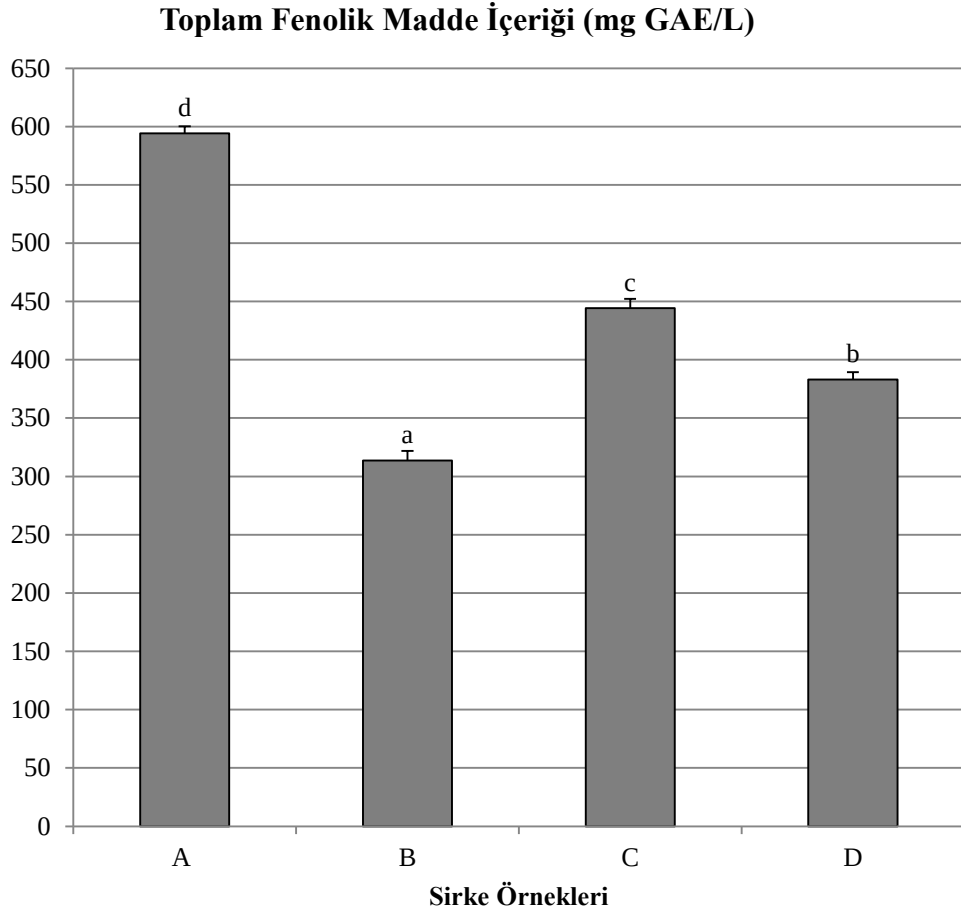


Şekil 4.1 İncir sirkelerinin renk özellikleri (Çubuklar üzerinde yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0,05$). İstatistiksel analiz L^* , a^* , b^* değerleri için ayrı ayrı değerlendirilmiştir).

Sirkelerde parlaklığı gösteren L^* değerinin en yüksek olduğu örnek B kodlu sirke örneği olmuştur ($P<0,05$). Kırmızılık ve yeşilliği gösteren a^* değeri en yüksek C kodlu sirke örneğinde ($P<0,05$), sarılık ve maviliği gösteren b^* değeri ise en yüksek A kodlu sirke örneğinde ($P<0,05$) bulunmuştur. 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 (Ozturk et al., 2015). 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 (Alak, 2015). Yapılan çalışmalar, farklı sirkelerin renk özelliklerinin önemli farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Sirkede önemli bir kalite özelliği olan renk, kullanılan hammadde ve üretim aşamalarına bağlı olarak değişmektedir (Palacios et al., 2002; Lopez et al., 2005; Giudici vd., 2017).

4.3.8 Toplam fenolik madde

Çalışma kapsamında farklı şehirlerde yetişen incirlerden geleneksel yöntemlerle üretilmiş sirke örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri incelenmiştir. Sirke örneklerinin toplam fenolik madde içeriği 313,5 mg GAE/L ile 594,25 mg GAE/L arasında değişim göstermiş olup, en yüksek fenolik madde içeriğinin A kodlu sirke örneğinde, en düşük fenolik madde içeriğinin ise B kodlu sirke örneğinde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 İncir sirkelerinin toplam fenolik madde içerikleri (Çubuklar üzerinde yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0,05$)).

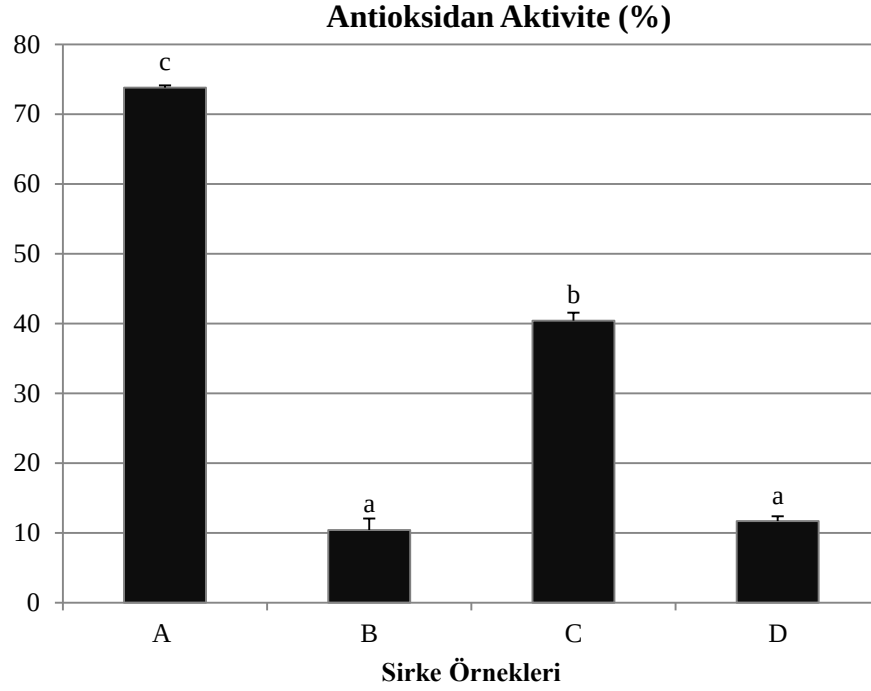
Literatürde farklı sirke örneklerinin fenolik madde içeriklerinin belirlenmesine yönelik olarak yapılmış bazı çalışmalar bulunmaktadır. Aykın ve

arkadaşları (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, elma ve nar sirkelerinin fenolik madde içerikleri incelenmiş, elma sirkesinin fenolik madde içeriği 4684.50 mg GAE/L olarak bulunurken nar sirkesinde bu değer 32761.33 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda fenolik madde içeriği üzüm sirkelerinde 2000-3000 mg GAE/L, İspanyol şarabı sirkelerinde (sherry vinegar) 200-1000 mg GAE/L ve biber yaprağı sirkesinde 3092 mg GAE/100 g olarak belirlenmiştir (Alonso et al., 2004; Budak and Guzel-Seydim, 2010; Song et al., 2014). Genel bir değerlendirme yapıldığında, farklı sirkelerin fenolik madde içeriklerinin özellikle kullanılan hammaddeye bağlı olarak değişim gösterdiği görülmektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, incir sirkesinin fenolik madde içeriği açısından önemli bir kaynak olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışma kapsamında ayrıca, fenolik maddeler açısından zengin bir meyve olan incirden üretilen sirkelerde, incirin yetiştiği bölge ve kullanılan üretim yöntemine bağlı olarak fenolik madde içeriğinin de değişim gösterdiği belirlenmiştir.

4.3.9 Antioksidan aktivite

İncir sirkesi örneklerinin antioksidan aktivite değerleri fenolik madde içeriklerine paralellik göstermiş, en yüksek antioksidan aktivite A kodlu sirke örneğinde (%73,79), en düşük aktivite ise B kodlu sirke örneğinde (%10,38) tespit edilmiştir (Şekil 4.3).

Yapılan çalışmalarda farklı hammaddelerden elde edilen sirkelerin antioksidan aktivite değerlerinin değişiklik gösterdiği belirlenmiş olup, biber yaprağı sirkesinin antioksidan aktivitesinin %92,2 olduğu, geleneksel üzüm sirkelerinin antioksidan aktivitesinin %4,93 ile %89,53 arasında değişim gösterdiği, geleneksel elma sirkesinin ise %0,53 ile %68,89 arasında değişen değerlerde antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Song et al., 2014; Ozturk et al., 2015).



Şekil 4.3 İncir sirkelerinde antioksidan aktivite (Çubuklar üzerinde yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0,05$)).

Bu çalışmaların dışında sirke üretim prosesleri süresince ürünün antioksidan aktivite ve fenolik madde içeriklerinin arttığı çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Budak (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, dut suyu, dut şarabı ve dut sirkesinin toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla 477,83, 609,17 ve 972,71 mg GAE/L olarak belirlenmiştir. Çalışma kapsamında örneklerin antioksidan aktivite değerleri oksijen radikal absorbans kapasitesi olarak incelenmiş ve dut suyu, dut şarabı ve dut sirkesinin antioksidan kapasiteleri sırasıyla 17,1, 18,04, 1068 $\mu\text{mol/ml}$ olarak belirlenmiştir (Budak, 2015). Jo ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan başka bir çalışmada, toplam fenolik madde içeriği üzüm şarabında 58,23 mg GAE/100 mL, üzüm sirkesinde ise 84,15 mg GAE/100 mL olarak belirlenmiş, ayrıca örneklerin antioksidan aktivite değerinin fenolik madde içeriği ile ilişkili olduğu ve üzüm şarabında antioksidan aktivite değerinin %59,96 iken üzüm sirkesinde bu değer %61,20 olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, sirke üretimi sırasında sağlığa yararlı etkileri ile bilinen fenolik maddelerin artış gösterdiğini ortaya koymaktadır.

5. SONUÇ

İncir sirkesi, ülkemizde farklı bölgelerde geleneksel yöntemlerle üretilen özel bir sirke çeşididir. Bu tez çalışmasında Aydın, Antep ve İzmir illerinde geleneksel yöntemlerle üretilen incir sirkelerinin mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri araştırılmıştır. Çalışma kapsamında incir sirkesinin mikrobiyal florasını belirlemek amacı ile küf-maya, LAB ve AAB sayımları yapılmış ve spesifik olarak incir sirkesi üretiminde rol alan AAB'leri izole edilip fenotipik olarak tanımlanmıştır. Sirke örneklerinin fiziksel, kimyasal ve biyoaktif özelliklerini belirlemek üzere pH, Briks, toplam asitlik, uçar asit, uçmayan asit, kalıntı alkol, kül, özgül ağırlık, renk, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite analizleri yapılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında ev ortamında geleneksel yöntemlerle üretilen incir sirkelerinin (A, B, C ve D kodlu) mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Maya, LAB ve AAB sayılarının en yüksek C kodlu sirke örneğinde (sırasıyla 7,10; 6,81 ve 7,05 log KOB/mL) olduğu, en düşük sayıların ise A kodlu sirke örneğinde bulunduğu (sırasıyla 1,44; 1,91 ve 2,54 log KOB/mL) belirlenmiştir. Bununla birlikte B ve C kodlu sirke örnekleri arasında LAB ve AAB sayıları açısından istatistiksel olarak bir fark olmadığı belirlenmiştir ($P>0,05$).

Çalışmanın ikinci aşamasında AAB'si sayımı amacıyla kullanılan GYC petrilerinde oluşan tipik AAB'si kolonileri izole edilip fenotipik olarak tanımlanmıştır. Tanımlama amacıyla izolatlar ilk olarak Gram boyama, katalaz ve pH 3,5'te gelişme testleri yapılmış ve izolatlardan 65'inin potansiyel AAB'si olduğu belirlendikten sonra bu izolatlar diğer tanımlama testleri uygulanmıştır. Asetat-laktat oksidasyonu ve etanolden asit üretme testlerine bağlı olarak izolatlar cins düzeyinde tanımlanmış ve 20 izolatın *Acetobacter*, 27 izolatın *Komagateibacter*, 14 izolatın *Asaia*, 2 izolatın *Saccharibacter*, 1 izolatın *Gluconobacter* ve 1 izolatın *Granulibacter* cinsine ait olduğu tespit edilmiştir. Tür düzeyinde tanımlama yapmak üzere izolatlar farklı sıcaklıklarda gelişebilme, farklı pH değerlerinde gelişebilme ve karbohidrat testleri uygulanmış ve tanımlanan izolatların %41,5'ini *Komagateibacter xylinus*, %21,5'ini *Asaia* spp., %12,3'ünü *Acetobacter aceti*/A. *persici*, %4,61'ini A. *cerevisiae*/A. *malorum*,

%4,61'ini *A. peroxydans*/*A. cibirangensis*, %4,61'ini *A. okinawensis*, %3'ünü *A. farinalis*, %3'ünü *Saccharibacter floricola*, %1,5'ini *Granulibacter bethesdensis*, %1,5'ini *A. ghanensis*, %1,5'ini ise *Gluconobacter thailandicus*'un oluşturduğu belirlenmiştir. Uygulanan testlerle *Asaia* cinsine ait izolatların tür düzeyinde tanımlanmaları mümkün olmamıştır. Tanımlanan türler arasında yer alan *A. farinalis*, *G. thailandicus*, *Gr. bethesdensis* ve *Sa. floricola*, daha önce sirke üzerine yapılan çalışmalarda izole edilmeyen türlerdir.

Çalışmanın son aşamasında sirke örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri incelenmiştir. Örnekler içerisinde en yüksek pH, Briks, toplam asitlik, uçar asit, özgül ağırlık ve kül miktarlarının A kodlu sirke örneğinde bulunduğu tespit edilirken, en düşük kalıntı alkol miktarının da A kodlu sirke örneğinde bulunduğu belirlenmiştir. Örnekler içerisinde toplam asitlik açısından TS 1880EN 13188/ D1:2016 sirke standardına uygunluk gösteren tek örneğin A kodlu sirke örneği olduğu, kalıntı alkol miktarı açısından ise hiçbir örneğin standarda uygunluk göstermediği tespit edilmiştir. Sirkelerde en yüksek L* değerinin B kodlu sirke örneğinde ($P<0,05$), en yüksek a* değerinin C kodlu sirke örneğinde ($P<0,05$) ve en yüksek b* değerinin A kodlu sirke örneğinde ($P<0,05$) olduğu belirlenmiştir. Sirke örneklerinde toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin en yüksek A kodlu sirke örneğinde (sırasıyla 594,25 mg GAE/L ve %73,79), en düşük ise B kodlu sirke örneğinde (sırasıyla 313,5 mg GAE/L ve %10,38) olduğu tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında farklı iklimlerde yetişen incirlerden geleneksel yöntemlerle üretilen sirkelerin mikrobiyolojik, kimyasal, fiziksel ve biyoaktif özellikleri arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Çalışma kapsamında incir sirkesinde bulunan ve fermentasyonda rol alan AAB'lerinin üretildikleri yerlere bağlı olarak gösterdikleri çeşitlilik belirlenmiş ve böylece sirke üretiminde starter kültür olarak kullanılabilecek potansiyel sirke kültürlerinin izolasyonu sağlanmıştır. Fenotipik tanımlama sonuçları, incir sirkesinde bulunan bazı AAB türlerinin daha önce sirkeden izole edilmeyen türler olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte mevcut sonuçların ileride yapılacak genotipik tanımlama çalışmaları ile doğrulanması gerekmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akbaş, M.**, 2008, Ülkemizde Üretilen Üzüm Sirkelerinin Bileşimleri ve Gıda Mevzuatına Uygunlukları Üzerine Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, 58 s (yayımlanmamış).
- Akbaş, M. ve Cabaroğlu, T.**, 2010, Ülkemizde üretilen bazı üzüm sirkelerinin bileşimleri ve gıda mevzuatına uygunlukları üzerine bir araştırma, *Gıda Dergisi*, 35(3):183-188 s.
- Aktan, N. ve Yıldırım, H.K.**, 2011, Sirke Teknolojisi, Sidas Yayınevi, İzmir, 83 s.
- Alak, G.D.**, 2015, Bal ve Bal Sirkelerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, 113 s (yayımlanmamış).
- Alonso, A.M., Castro, R., Rodriguez, M.C., Guillen, D.A. and Barroso, C.G.**, 2004, Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from Sherry wines and correlation with their content in polyphenols, *Food Research International*, 37:715-721 pp.
- AOAC**, 2007, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 18th edition, AOAC International, USA, 326 p.
- Asai, T., Iizuka, H. and Komagata, K.**, 1964, The flagellation and taxonomy of genera *Gluconobacter* and *Acetobacter* with reference to the existence of intermediate strains, *Journal of General and Applied Microbiology*, 10:95-126 pp.
- Aykın E.**, 2013, Farklı Sirkelerden Üretilen Sirke Analarının Biyoaktif Bileşenlerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi (yayımlanmamış).
- Aykın, E., Budak, N.H. and Güzel-Seydim, Z.B.**, 2015, Bioactive components of mother vinegar, *Journal of the American College of Nutrition*, 34:80-89 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Baba, N., Higashi, Y. and Kanekura, T.,** 2013, Japanese black vinegar “Izumi” inhibits the proliferation of human squamous cell carcinoma cells via necroptosis, *Nutrition and Cancer*, 65:1093-1097 pp.
- Baek, C.H., Park, E.H., Baek, S.Y., Jeong, S.T., Kim, M.K., Kwon, J.H., Jeong, Y.J. and Ye, S.H.,** 2014, Characterization of *Acetobacter pomorum* KJY8 isolated from Korean traditional vinegar, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(12):1679-1684 pp.
- 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.
- Budak, H.B. and Guzel-Seydim, Z.B.,** 2010, Antioxidant activity and phenolic content of wine vinegars produced by two different techniques, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90:2021-2026 pp.
- Budak, N.H., Kumbul Doguc, D., Savas, C.M., Seydim, A.C., Kok Tas, T., Ciris, M.I. and Guzel-Seydim, Z.B.,** 2011, Effects of apple cider vinegars produced with different techniques on blood lipids in high-cholesterol-fed rats, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59:6638-6644 pp.
- Cemeroğlu, B.,** 2013, Gıda Analizleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, 480 s.
- Chen, H., Chen, T., Giudici, P. and Chen, F.,** 2016, Vinegar functions on health: Constituents, sources, and formation mechanisms, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15:1124-1138 pp.
- Chou, C.H., Liu, C.W., Yang, D.J., Wu, Y.H.S. and Chen, Y.C.,** 2015, Amino acid, mineral and polyphenolic profiles of black vinegar, and its lipid-lowering and antioxidant effects *in vivo*, *Food Chemistry*, 168: 63-69 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chun, J.E., Baik, M.Y. and Kim, B.Y.,** 2014, Manufacture and quality evaluation of purple sweet potato *makgeolli* vinegar using a 2-stage fermentation, *Food Science and Biotechnology*, 23(4):1145-1149 pp.
- Cleenwerck, I. and De Vos, P.,** 2008. Polyphasic taxonomy of acetic acid bacteria: an overview of the currently applied methodology, *International Journal of Food Microbiology*, 125(1):2-14 pp.
- CNS (Chinese National Standard),** 2005, Edible Vinegar, No.14834, N5239, Ministry of Economic Affairs, Taiwan, Republic of China.
- Cocolin, L., Pepe, V., Comitini, F., Comi, G. and Ciani, M.,** 2004, Enological and genetic traits of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from former and modern wineries, *FEMS Yeast Research*, 5:237-245 pp.
- De Ory, I., Romero, L.E. and Cantero, D.,** 2004, Operation in semi-continuous with a closed pilot plant scale acetifier for vinegar production, *Journal of Food Engineering*, 63:39-45 pp.
- De Vero, L., Gala, E., Gullo, M., Solieri, L., Landi, S. and 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 pp.
- De Vero, L., Gullo, M. and Giudici, P.,** 2017, Preservation of acetic acid bacteria, *Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications*, Sengun I.Y. (Eds.), Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 193-209 pp.
- De Vuyst, L.,** 2000, Technology aspects related to the application of functional starter cultures, *Food Technology and Biotechnology*, 38:105-112 pp.
- Disciplinare di produzione,** 2000a, Aceto Balsamico Tradizionale di Modena. MiPAF 15/05/2000. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana*.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Disciplinare di produzione**, 2000b, Aceto Balsamico Tradizionale di Reggio Emilia. MiPAF 15/05/2000. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana*.
- EC (Council Regulation)**, 1999, No 1493/1999 of 17 May 1999 on the common organisation of the market in wine, *Official Journal of the European Communities* L179: 1-84 pp.
- FDA (Food and Drug Administration)**, 1995, Compliance Policy Guides (CPG) Sec. 525.825. *Vinegar, Definitions—Adulteration with Vinegar Eels*. Available from: <https://www.fda.gov/iceci/compliancemanuals/compliancepolicyguidancemanual/ucm074471.htm>. Accessed: July 2017.
- FDA (Food and Drug Administration)**, 1989, Acetic acid - use in foods - labeling of foods in which used. <https://www.fda.gov/iceci/compliancemanuals/compliancepolicyguidancemanual/ucm074577.htm>. Accessed: July 2017.
- FDA-BAM (Food and Drug Administration-Bacteriological Analytical Manual)**, 2001, Yeasts, molds and mycotoxins. Chapter:18, April 2001. <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>. Accessed: July 2017.
- Franke, I.H., Fegan, M., Hayward, C., Leonard, G., Stackebrandt, E. and Sly, L.I.**, 1999, Description of *Gluconacetobacter sacchari* sp. nov., a new species of acetic acid bacterium isolated from the leaf sheath of sugar cane and from the pink sugar-cane mealy bug, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49:1681-1693 pp.
- Fu, L., Chen, S., Yi, J. and Hou, Z.**, 2013, Effects of different fermentation methods on bacterial cellulose and acid production by *Gluconacetobacter xylinus* in Cantonese-style rice vinegar, *Food Science and Technology International*, 20(5):321-331 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- García-García, I., Santos-Dueñas, I.M., Jiménez-Ot, C., Jiménez-Hornero, J.E. and Bonilla-Venceslada, J.L.,** 2009, Vinegar engineering, Vinegars of The World, Solieri L. and Giudici P. (Eds.), Springer, Milan, 97-120 pp.
- Gerbi, V., Zeppa, G., Beltramo, R., Carnacini, A. and Antonelli, A.,** 1998, Characterization of white vinegars of different sources with artificial neural networks, *Journal Science Food Agriculture*, 78:415-425 pp.
- Ghosh, S., Chakraborty, R., Chatterjee, A. and Raychaudhuri, U.,** 2014, Optimization of media components for the production of palm vinegar using response surface methodology, *Journal Institute of Brewing and Distilling*, 120:550-558 pp.
- Giudici, P., De Vero, L. and Gullo, M.,** 2017, Vinegars, Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications, Sengun, I.Y. (Eds.), Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 261-287 pp.
- Giudici, P., Solieri, L., Pulvirenti, A. and Cassanelli, S.,** 2005, Strategies and perspectives for genetic improvement of wine yeasts, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 66:622-628 pp.
- Gobbi, M., De Vero, L., Solieri, L., Comitini, F., Oro, L., Giudici, P. and Ciani, M.,** 2014, Fermentative aptitude of non-*Saccharomyces* wine yeast for reduction in the ethanol content in wine, *European Food Research and Technology*, 239:41-48 pp.
- Greenberg, D.E., Porcella, S.F., Stock, F., Wong, A., Conville, P.S., Murray, P.R., Holland, S.M. and Zelazny, A.M.,** 2006, *Granulibacter bethesdensis* gen. nov., sp. nov., a distinctive pathogenic acetic acid bacterium in the family Acetobacteraceae, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56:2609-2616 pp.
- Guizani, N. and Mothershaw, A.,** 2006, Fermentation: General principles, Handbook of Food Science, Technology and Engineering, Hui, Y.H. (Eds.), Taylor & Francis, London, 63 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gullo, M. and Giudici, P.,** 2008, Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection, *International Journal of Food Microbiology*, 125(1):46-53 pp.
- Gullo, M., Caggia, C., De Vero, L. and Giudici, P.,** 2006, Characterization of acetic acid bacteria in “traditional balsamic vinegar”, *International Journal of Food Microbiology*, 106:209-212 pp.
- Gullo, M., De Vero, L. and Giudici, P.,** 2009, Succession of selected strains of *Acetobacter pasteurianus* and other acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar, *Applied of Environmental Microbiology*, 75(8):2585-2589 pp.
- Gullo, M., Verzelloni, E. and Canonico, M.,** 2014, Aerobic submerged fermentation by acetic acid bacteria for vinegar production: Process and biotechnological aspects, *Process Biochemistry*, 49:1571-1579 pp.
- Harrigan, W. F. and McCance, M.E.,** 1976, Laboratory Methods In Food And Dairy Microbiology, Academic Press, London, 452 pp.
- Haruta, S., Ueno, S., Egawa, I., Hashiguchi, K., Fujii, A., Nagano, M., Ishii, M. and Igarashi, Y.,** 2006, Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis, *International Journal of Food Microbiology*, 109:79-87 pp.
- Hidalgo, C., Garcia, D., Romero, J., Mas, A., Torija, M.J. and Mateo, E.,** 2013, *Acetobacter* strains isolated during the acetification of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) wine, *Applied Microbiology*, 57(3):227-232 pp.
- Hidalgo, C., Mateo, E., Cerezo, A.B., Torija, M.J. and Mas, A.,** 2010a, Technological process for production of persimmon and strawberry vinegars, *International Journal of Wine Research*, 2:55-61 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hidalgo, C., Vegas, C., Mateo, E., Tesfaye, W., Cerezo, A., Callejón, R., Poblet, M., Guillamón, J., Mas, A. and Torija, M.,** 2010b, Effect of barrel design and the inoculation of *Acetobacter pasteurianus* in wine vinegar production, *International Journal of Food Microbiology*, 141(1):56-62 pp.
- Iino, T., Suzuki, R., Kosako, Y., Ohkuma, M., Komagata, K. and Uchimura, T.,** 2012, *Acetobacter okinawensis* sp. nov., *Acetobacter papayae* sp. nov., and *Acetobacter persicus* sp. nov., Novel acetic acid bacteria isolated from stems of sugarcane, fruits and a flower in Japan, *Journal of General and Applied Microbiology*, 58:235-243 pp.
- Ilha, E.C., Santanna, E., Torres, R.C., Porto, A.C. and Meinert, E.M.,** 2000, Utilization of bee (*Apis mellifera*) honey for vinegar production at laboratory scale, *Acta Cientifica Venezolana*, 51:231-235 pp.
- Inagaki, S., Morimura, S., Gondo, K., Tang, Y., Akutagawa, H. and Kida, K.,** 2007, Isolation of tryptophol as an apoptosis-inducing component of vinegar produced from boiled extract of black soybean in human monoblastic leukemia U937 cells, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71:371-379 pp.
- ISO 15214:1998.,** 1998, International organization for standardization, microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria-colony count technique at 30°C. Switzerland.
- Jing, L., Yanyan, Z. and Junfeng, F.,** 2015, Acetic acid in aged vinegar affects molecular targets for thrombus disease management, *Food and Function*, 6:2845-2853 pp.
- Jo, Y., Baek, J.Y., Jeong, I.Y., Jeong, Y.J., Yeo, S.H., Noh, B.S. and 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 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Johnston, C.S., Kim, C.M. and Buller, A.J.**, 2004, Vinegar improves insulin sensitivity to a high-carbohydrate meal in subjects with insulin resistance or type 2 diabetes, *Diabetes Care*, 27:281-282 pp.
- Jojima, Y., Mihara, Y., Suzuki, S., Yokozeki, K., Yamanaka, S. and Fudou, R.**, 2004, *Saccharibacter floricola* gen. nov., sp. nov., a novel osmophilic acetic acid bacterium isolated from polen, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54:2263-2267 pp.
- Joshi, V.K. and Thakur, N.S.**, 2000, Vinegar: Composition And production, L.R. Verma, V.K. Joshi (eds), Postharvest Technology Of Fruits And Vegetables, New Delhi: The Indus Publication, 1128-1170 pp.
- Karabiyikli, S. and Sengun, I. Y.**, 2017, Beneficial effects of acetic acid bacteria and their food products, Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications, Sengun I.Y. (Eds.), Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 221-242 pp.
- Kerstens, K., Lisdiyanti, P., Komagata, K. and Swings, J.**, 2006, The family Acetobacteraceae: The genera *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter* and *Kozakia*, The Prokaryotes, Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H. and Stackebrandt E. (Eds.), Springer, New York, 163-200 pp.
- Komagata, K., Iino, T. and Yamada, Y.**, 2014, The family Acetobacteraceae, The Prokaryotes, Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria, Rosenberg, E., De Long, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E. and Thompson F. (Eds.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 3-78 pp.
- Laranjinha, J.A.N., Almeida, L.M. and Madeira, V.M.C.**, 1994, Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: Antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation, *Biochemical Pharmacology*, 48:487-494 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lee, J.H., Cho, H.D., Jeong, J.H., Lee, M.K., Jeong, Y.K., Shim, K.H. and Seo, K.I.**, 2013, New vinegar produced by tomato suppresses adipocyte differentiation and fat accumulation in 3T3-L1 cells and obese rat model, *Food Chemistry*, 141:3241-3249 pp.
- Lee, K.W., Shim, J.M., Kim, G.M., Shin, J-H. and Kim, J.H.**, 2015, Isolation and characterization of *Acetobacter* species from a traditionally prepared vinegar, *Microbiology and Biotechnology Letters*, 43(3):219-226 pp.
- Leroy, F. and De Vuyst, L.**, 2004, Lactic acid bacteria as functional starter cultures fro the food fermentation industry, *Trends in Food Science & Technology*, 15:67-68 pp.
- Li, J., Yu, G. and Fan, J.**, 2014, Alditols and monosaccharides from sorghum vinegar can attenuate platelet aggregation by inhibiting cyclooxygenase-1 and thromboxane-A2 synthase, *Journal of Ethnopharmacology*, 155:285-292 pp.
- Lisdiyanti, P., Kawasaki, H., Seki, T., Yamada, Y., Uchimura, T. and Komagata, K.**, 2000, Systematic study of the genus *Acetobacter* with descriptions of *Acetobacter indonesiensis* sp. nov., *Acetobacter tropicalis* sp. nov., *Acetobacter orleanensis* (Henneberg 1906) comb. nov., *Acetobacter lovaniensis* (Frateur 1950) comb. nov. and *Acetobacter estunensis* (Carr 1958) comb. nov, *Journal of General and Applied Microbiology*, 46:147-165 pp.
- Lopez, F., Pescador, P., Güell, C., Morales, M.L., García-Parrilla, M.C. and Troncoso, A.M.**, 2005, Industrial vinegar clarification by cross-flow microfiltration: effect on colour and polyphenol content, *Journal of Food Engineering*, 68(1):133-136 pp.
- Malimas, T., Vu, H. T. L., Muramatsu, Y., Yukphan, P., Tanasupawat, S. ve Yamada, Y.**, 2017, Systematics of acetic acid bacteria, *Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications*, Sengun I.Y. (Eds.), Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 261-287 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Malimas, T., Yukphan, P., Takahashi, M., Kaneyasu, M., Potacharoen, W., Tanasupawat, S., Nakagawa, Y., Tanticharoen, M. and Yamada, Y.,** 2008, *Asaia lannaensis* sp. nov., a new acetic acid bacterium in the Alphaproteobacteria. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 72:666-671 pp.
- Martins, S., Mussatto, S.I., Martinez-Avila, G., Montanez-Saenz, J., Aguilar, C.N. and Teixeira, J.A.,** 2011, Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation, *Biotechnology Advances*, 29:365-373 pp.
- Mas, A., Torija, M.J., Parrilla, M.C.G. and Troncoso, A.M.,** 2014, Acetic acid bacteria and the production and quality of wine vinegar, *The Scientific World Journal Volume*, 6 pp.
- Masino, F., Chinnici, F., Bendini, A., Montevecchi, G. and Antonelli, A.,** 2008, A study on relationships among chemical, physical, and qualitative assessment in traditional balsamic vinegar, *Food Chemistry*, 106(1):90-95 pp.
- Mateo, E., Valera, M.J., Torija, M.J. and Mas, A.,** 2014, Cellulose production and cellulose synthase gene detection in acetic acid bacteria, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(3):1349-1361 pp.
- Matsui, T., Ebuchi, S., Fukui, K., Matsugano, K., Terahara, N. and Matsumoto, K.,** 2004, Caffeoyslphorose, a new natural alphasglucosidase inhibitor, from red vinegar by fermented purple-fleshed sweet potato, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68:2239-2246 pp.
- Matsui, T., Ebuchi, S., Fukui, K., Matsugano, K., Terahara, N. and Matsumoto, K.,** 2014, Caffeoyslphorose, a new natural a-glucosidase inhibitor, from red vinegar by fermented purple-fleshed sweet potato, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68:2239-2246 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Morales, M.L., Tesfaye, W., Garcia-Parrilla, M.C., Casas, J.A. and Troncosso, A.M.,** 2001, Sherry wine vinegar: Physicochemical changes during the acetification process, *Journal Science and Food Agriculture*, 81:611-619 pp.
- Mu, J., Uehara, T. and Furuno, T.,** 2003, Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radicle growth of seed plants, *Journal Wood Science*, 49:262-270 pp.
- Nanda, K., Miyoshi, N., Nakamura, Y., Shimoji, Y., Tamura, Y., Nishikawa, Y., Uenakai, K., Kohno, H. and Tanaka, T.,** 2004, Extract of vinegar ‘Kurosu’ from unpolished rice inhibits the proliferation of human cancer cells, *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 23:69-76 pp.
- Nishidai, S., Nakamura, Y. and Torikai, K.,** 2000, Kurosu, a traditional vinegar produced from unpolished rice, suppresses lipid peroxidation *in vitro* and in mouse skin, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 64:1909-1914 pp.
- Ozturk, I., Caliskan, O., Tornuk, F. and Sagdic, O.,** 2015, Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional homemade Turkish vinegars, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 63:144-151 pp.
- Palacios, V., Valcarcel, M., Caro, I. and 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 pp.
- Park, J.E., Kim, J.Y., Kim, J., Kim, Y.J., Kim, M.J., Kwon, S.W. and Kwon, O.,** 2014, Pomegranate vinegar beverage reduces visceral fat accumulation in association with AMPK activation in overweight women: A double-blind, randomized and placebo-controlled trial, *Journal of Functional Foods*, 8:274-281 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Peng, Q., Yang, Y., Guo, Y. and Han, Y.,** 2015, Analysis of bacterial diversity during acetic acid fermentation of tianjin duliu aged vinegar by 454 pyrosequencing, *Current Microbiology*, 71(2):195-203 pp.
- Perumpuli, P.A.B.N., Watanabe, T. and Toyama, H.,** 2014, Identification and characterization of thermotolerant acetic acid bacteria strains isolated from coconut water vinegar in Sri Lanka, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 78(3):533-541 pp.
- Pitiwittayakul, N., Theeragool, G., Yukphan, P., Chaipitakchonlatarn, W., Malimas, T., Muramatsu, Y., Tanasupawat, S., Nakagawa, Y. and Yamada, Y.,** 2016, *Acetobacter suratthanensis* sp. nov., an acetic acid bacterium isolated in Thailand, *Annual Microbiology*, 66:1157-1166 pp.
- Pitiwittayakul, N., Yukphan, P., Chaipitakchonlatarn, W., Yamada, Y. and Theeragool, G.,** 2015, *Acetobacter thailandicus* sp. nov., for a strain isolated in Thailand, *Annals of Microbiology*, 65:1855-1863 pp.
- Plessi, M.,** 2003, Vinegar, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Caballero, B., Trugo, L.C., Finglas, P.M. (Eds.), Academic Press, Oxford, 5996-6003 pp.
- Qi, W., Wang, C., Cao, X., Zhao, G., Wang, C. and Hou, L.,** 2013, International conference on agricultural and natural resources engineering, *IERI Procedia*, 5:332-338 pp.
- Qiu, J., Ren, C., Fan, J. and Li, Z.,** 2010, Antioxidant activities of aged oat vinegar *in vitro* and in mouse serum and liver, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90:1951-1958 pp.
- Raspor, P. and Goranovic, D.,** 2008, Biotechnological applications of acetic acid bacteria, *Critical Reviews in Biotechnology*, 28:101-124 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rommel, A., Heatherbell, D.A. and 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 pp.
- Rosma, A., Nadiyah, A.H.S., Raj, A., Supwat, T., Sharma, S. and Joshi, V.K.,** 2016, Acetic acid fermented product, Indigenous fermented Foods of South Asia, Joshi V.K. (Eds.), CRC Press, Taylor & Francis Group, Florida, 598-635 pp.
- Saiz-Abajo, M.J., Gonzales-Saiz, J.M., and Pizarro, C.,** 2004, Classification of wine and alcohol vinegar samples based on near-infrared spectroscopy, feasibility study on the detection of adulterated vinegar samples, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(25):7711-7719 pp.
- Sakakibara, S., Yamauchi, T., Oshima, Y., Tsukamoto, Y. and Kadowaki, T.,** 2006, Acetic acid activates hepatic AMPK and reduces hyperglycemia in diabetic KK-A (y) mice, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 344:597-604 pp.
- Sengun I.Y. and Karabiyikli S.,** 2011, Importance of acetic acid bacteria in food industry, *Food Control*, 22:647-656 pp.
- Sengun, I.Y.,** 2013, Microbiological and chemical properties of fig vinegar produced in Turkey, *African Journal of Microbiology Reserach*, 7:2332-2338 pp.
- Sengun, I.Y.,** 2015, Acetic acid bacteria in food fermentations, Fermented Foods: Part 1. Biochemistry and Biotechnology, Montet, D. and Ray, R.C. (Eds.), CRC Press, Boca Raton, USA, 91-111 pp.
- Shahidi, F., McDonald, J., Chandrasekara, A. and Zhong, Y.,** 2008, Phytochemicals of foods, beverages and fruit vinegars: chemistry and health effects, *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17:380-382 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sievers, M. and Swings, J.**, 2005, Family II. Acetobacteraceae Gillis and De Ley 1980, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The *Proteobacteria*, Part C, The Alpha-, Beta-, Delta- and Epsilonproteobacteria, Garrity, G.M., Brenner, D.J., Krieg, N.R. and J.T. Staley (Eds.), Springer, New York, 41-95 pp.
- Singh, R.P., Chidambara Murthy, K.N. and 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 pp.
- Sokollek, S.J. and Hammes. W.P.**, 1997, Description of a starter culture preparation for vinegar fermentation, *Systematic and Applied Microbiology*, 20:481-491 pp.
- Solieri, L. ve Giudici, P.**, 2009, Vinegars Of The World, Springer, Berlin, 1-14 pp.
- Solieri, L., Landi, S., De Vero, L. and Giudici, P.**, 2006, Molecular assessment of indigenous yeast population from traditional balsamic vinegar, *Journal of Applied Microbiology*, 101:63-71 pp.
- Song, Y.R., Shin, N.S. and Baik, S.H.**, 2014, Physicochemical properties, antioxidant activity and inhibition of α -glucosidase of a novel fermented pepper (*Capsicum annuum* L.) leaves-based vinegar, *International Journal of Food Science and Technology*, 49:2491-2498 pp.
- Spinosa, W.A., Santos Junior, V.D., Galyan, D., Fiorio, J.L. and Gomez, R.J.H.C.**, 2015, Vinegar rice (*Oryza sativa* L.) produced by submerged fermentation process from alcoholic fermented rice, *Food Science and Technology*, 35(1):196-201 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Spitaels, F., Li, L., Wieme, A., Balzarini, T., Cleenwerck, I., Van Landschoot, A., De Vuyst, L. and Vandamme, P.,** 2014, *Acetobacter lambici* sp. nov., isolated from fermenting lambic beer, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64:1083-1089 pp.
- SPSS,** 2004. Statistical Package, SPSS for Windows, Ver. 13.0, Chicago, SPSS, Inc.
- Şahin, İ., Yavaş, İ. and Kılıç, O.,** 1977, The effects of various adjunct materials and grinding process on the fermentation time and yield, in production of dried grape vinegars, *Gıda Dergisi*, 2:95-110 pp.
- Şahin, İ. ve Kılıç, O.,** 1981, Kuru üzüm ve şarap sirkelerinin bileşimleri ve kontrol yöntemleri üzerinde araştırma, *Gıda Dergisi*, 6(6):5-15 s.
- Şengün, İ.Y. ve Kılıç, G.,** 2016, Asetik asit bakterilerinin izolasyonu, tanımlanması ve güncel taksonomisi, *Biodicon-Biological Diversity and Conservation*, 9(1):154-162 s.
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., and Conte, A.,** 2010, Contribution of melanoidins to the antioxidant activity of traditional balsamic vinegar during aging, *Journal Food Biochemistry*, 34:1061-1078 pp.
- Tan, S.C.,** 2005, Vinegar Fermentation, MSc Thesis, University of Lousiana, 123 pp (unpublished).
- Tanasupawat, S., Thawai, C., Yukphan, P., Moonmangmee, D., Itoh, T., Adachi, O. and Yamada, Y.,** 2004, *Gluconobacter thailandicus* sp. nov., an acetic acid bacterium in the α -Proteobacteria, *Journal of General and Applied Microbiology*, 50:159-167 pp.
- Torijs, C., Mateo, E., Guillamon, J.M. and Mas, A.,** 2010, Identification and quantification of acetic acid bacteria in wine and vinegar by TaqMan-MGB probes, *Food Microbiology*, 27:257-265 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Trček, J. and Barja, F.**, 2015, Updates on quick identification of acetic acid bacteria with a focus on the 16S–23S rRNA gene internal transcribed spacer and the analysis of cell proteins by MALDI-TOF mass spectrometry, *International Journal of Food Microbiology*, 196:137-144 pp.
- TSE (Türk Standartları Enstitüsü)**, 2016, Sirke-Tarım kökenli sıvılardan elde edilen ürün-tarifler, özellikler, işaretleme (Vol. TS 1880 EN 13188/D1:2016), Ankara.
- Türker, İ.**, 1963, Sirke Teknolojisi ve Teknikte Laktik Asit Fermantasyonları, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 181 s.
- Ubeda, C., Hidalgo, C., Torija, M. J., Mas, A., Troncoso, A. M. and Morales, M.L.**, 2011, Evaluation of antioxidant activity and total phenols index in persimmon vinegars produced by different processes, *Food Science and Technology*, 44(7):1591-1596 pp.
- Vegas, C., González, A., Mateo, E., Albert Mas, A., Poblet, M. and Torija, M.J.**, 2013, Evaluation of representativity of the acetic acid bacteria species identified by culture-dependent method during a traditional wine vinegar production, *Food Research International*, 51(1):404-411 pp.
- Wang, Z.M., Lu, Z.M., Yu, Y.J., Li, G.Q., Shi, J.S. and Xu, Z.H.**, 2015, Batch-to-batch uniformity of bacterial community succession and flavor formation in the fermentation of Zhenjiang aromatic vinegar, *Food Microbiology*, 50:64-69 pp.
- 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*, 30:289-297 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Xibib, S., Meilan, H., Moller, H., Evans, H.S., Dixin, D., Wenjie, D. and Jianbang, L.,** 2003, Risk factors for oesophageal cancer in Linzhou, China: A case-control study, *Asian-Pacific Journal of Cancer Prevention*, 4:119-124 pp.
- Yamada, Y.,** 2014, Transfer of *Gluconacetobacter kakiaceti*, *Gluconacetobacter medellinensis* and *Gluconacetobacter maltaceti* to the genus *Komagataeibacter* as *Komagataeibacter kakiaceti* comb. nov., *Komagataeibacter medellinensis* comb. nov. and *Komagataeibacter maltaceti* comb. nov, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64:1670-1672 pp.
- Yamada, Y. and Yukphan, P.,** 2008, Genera and species in acetic acid bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 125:15-24 pp.
- Yamada, Y., Katsura, K., Kawasaki, H., Widyastuti, Y., Saono, S., Seki, T., Uchimura, T. and Komagata, K.,** 2000, *Asaia bogorensis* gen. nov., sp. nov., an unusual acetic acid bacterium in the α -Proteobacteria, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50:823-829 pp.
- Yamada, Y., Yukphan, P., Lan Vu, H.T., Muramatsu, Y., Ochaikul, D., Tanasupawat, S. and Nakagawa, Y.,** 2012, Description of *Komagataeibacter* gen. nov., with proposals of new combinations (*Acetobacteraceae*), *The Journal of General and Applied Microbiology*, 58:397-404 pp.
- Yang, L., Wang, X., and Yang, X.,** 2014, Possible antioxidant mechanism of melanoidins extract from Shanxi aged vinegar in mitophagy-dependent and mitophagy-independent pathways, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62:8616-8622 pp.
- Yetiman, A.E. and Kesmen, Z.,** 2015, Identification of acetic acid bacteria in traditionally produced vinegar and mother of vinegar by using different molecular techniques, *International Journal of Food Microbiology*, 204:9-16 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yusoff, N.A., Yam, M.F., Beh, H.K., Razak, K.N.A., Widyawati, T., Mahmud, R., Ahmad, M. and Asmawi, M.Z.,** 2015, Antidiabetic and antioxidant activities of *Nypa fruticans* Wurmb. vinegar sample from Malaysia, *Asian-Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8:595-605 pp.
- Zahoor, T., Siddique, F. and Farooq, U.,** 2006, Isolation and characterization of vinegar culture (*Acetobacter aceti*) from indigenous sources, *British Food Journal*, 108:429-439 pp.

ÖZGEÇMİŞ

Türkiye cumhuriyeti vatandaşı olan Gülden KILIÇ 1990 yılında Nizip (Gaziantep)' te doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Gaziantep'te tamamladı. 2008 yılında Gaziantep Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümüne girdi. Lisans eğitimini 2013 yılında tamamladıktan sonra 2015 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Bilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.