

# **Spektroskopik Tekniklerin Sirke Üretimine İzlenmesi ve Sirkenin Tağışışının Tespitinde Kullanımı**

**Program Kodu: 1002**

**Proje No: 1190066**

Proje Yürütücüsü:  
**Prof.Dr. F. Banu ÖZEN**

Bursiyer:

**Çağrı ÇAVDAROĞLU**

MART 2021  
İZMİR

## ÖNSÖZ

Spektroskopik yöntemler, gıdalarda tağşış belirleme çalışmalarında hızlı sonuç verebilmeleri ve minimum seviyede atık üretme gibi özelliklerinden dolayı tercih edilmektedirler. Ayrıca bu teknikler, kemometrik yöntemlerle beraber kullanıldığında gıdaların içeriklerindeki çeşitli bileşiklerin aynı anda belirlenebilmesini de sağlayabilmektedirler. Tübitak tarafından desteklenen bu proje (Tübitak TOVAG 119O066) ile spektroskopik tekniklerden ikisi, orta bölge kızılötesi (mid-IR) ve UV-görünür bölge spektroskopileri, üzüm sirkesinin asetik asit ve alkol kaynaklı sirke ile tağşışının tespitinde ve yine üzüm sirkesinin geleneksel ve derin kültür yöntemleri ile üretimi sırasında elde edilen içerik parametrelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Bu alışma bir doktora tezinin konusunu oluşturmaktadır. Bu projede üzüm sirkesinin üretimi sırasında örnek toplamamıza olanak sağlayan S.S. TARİŞ Üzüm Tarım Satış Kooperatifleri Birliği Sirke Pekmez İşletmesine, kimyasal analizlerde yardımcı olan İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Tümlerişik Araştırma Merkezleri ve maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ŞEKİLLER.....	iii
TABLolar.....	iv
ÖZET .....	v
ABSTRACT.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ .....	2
2.1 Sirke ve Üretimi .....	2
2.2 Sirkede Tağış Belirleme .....	5
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	8
3.1 Sirke Üretimi ve Örnekleme .....	8
3.2 Kimyasal Analizler.....	8
3.2.1 Brix, pH ve toplam asitlik ölçümleri .....	8
3.2.3 Toplam fenol içeriği.....	9
3.2.4 Toplam flavonoid içeriği .....	9
3.2.5 Fenol profilinin belirlenmesi .....	9
3.2.6 Organik asit, şeker ve etanol içeriği.....	9
3.2.7 UV-görünür bölge (UV-Vis) spektroskopi.....	9
3.2.8 Fourier transform infrared spektroskopi.....	9
3.3 Tağış Çalışmaları .....	10
3.4 İstatistiksel Analizler.....	10
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	11
4.1 Sirke Üretim Parametrelerinin Spektroskopik Yöntemlerle Tahmini .....	11
4.2 Sirkede Tağışın Spektroskopik Olarak Belirlenmesi.....	25
5. SONUÇLAR .....	32
KAYNAKLAR.....	32

## ŞEKİLLER

- Şekil 1. Alicante Bouchet türü üzüm ile geleneksel sirke üretimi sırasında a) pH ve toplam asitlik; b) brix; c) toplam fenol ve toplam flavonoid içeriği; d) asetik asit ve etanol miktarı; e) glikoz ve fruktoz konsantrasyonlarında oluşan değişimler 17
- Şekil 2. Alicante Bouchet üzümlerinden geleneksel yöntemle sirke üretimi sırasında toplanan UV-Vis spektrası 19
- Şekil 3. Alicante Bouchet üzümlerinden geleneksel yöntemle sirke üretimi sırasında toplanan mid-IR spektrası 19
- Şekil 4. Alicante Bouchet üzümlerinden derin kültür yöntemi ile sirke üretimi sırasında toplanan UV-Vis spektrası a) etanol fermantasyonu, b) asetik asit fermantasyonu 20
- Şekil 5. Alicante Bouchet üzümlerinden derin kültür yöntemi ile sirke üretimi sırasında toplanan mid-IR spektrası a) etanol fermantasyonu, b) asetik asit fermantasyonu 21
- Şekil 6. Beyaz sirke ile karıştırılmış ve karıştırılmamış örnek sirke UV-Vis spektrası (A: saf sirke; B: %5; C: %10; D: %20; E: %30; F: %40; G: %50) 26
- Şekil 7. Seyreltilmiş asetik asit ile karıştırılmış ve karıştırılmamış örnek sirke UV-Vis spektrası (A: saf sirke; B: %5; C: %10; D: %20; E: %30; F: %40; G: %50) 26
- Şekil 8. Beyaz sirke ile karıştırılmış ve karıştırılmamış örnek sirke mid-IR spektrası (A: saf sirke; B: %5; C: %10; D: %20; E: %30; F: %40; G: %50) 27
- Şekil 9. Seyreltilmiş asetik asit ile karıştırılmış ve karıştırılmamış örnek sirke mid-IR spektrası (A: saf sirke; B: %5; C: %10; D: %20; E: %30; F: %40; G: %50) 27
- Şekil 10. Mid-IR spektroskopik verilerin WDTS transformasyonu ile oluşturulan PLS-DA modelinin LV1'a karşı LV2 skor grafiği (yeşil: saf sirke; mavi: tağşişli sirke) 29
- Şekil 11. UV-Vis + mid-IR spektroskopik verilerin WDTS transformasyonu ile oluşturulan OPLS-DA modelinin LV1'a karşı LV2 skor grafiği (yeşil: saf sirke; mavi: tağşişli sirke) 31

## TABLolar

Tablo 1. Geleneksel yöntemle sirke üretiminin aşamalarına göre belirlenen kalite parametreleri	12
Tablo 2. Derin kültür yöntemi ile üretilen ticari sirkelerin üretim aşamalarına göre belirlenen kalite parametreleri aralıkları	12
Tablo 3. Geleneksel yöntemle sirke üretiminin aşamalarına göre belirlenen organik asit içerikleri	14
Tablo 4. Derin kültür yöntemi ile üretilen ticari sirkelerin üretim aşamalarına göre belirlenen organik asit içeriklerinin aralıkları	15
Tablo 5. Geleneksel yöntemle sirke üretiminin aşamalarına göre belirlenen şeker ve etanol içerikleri	15
Tablo 6. Derin kültür yöntemi ile üretilen ticari sirkelerin üretim aşamalarına göre belirlenen şeker ve etanol içeriklerinin aralıkları	15
Tablo 7. Geleneksel yöntemle sirke üretiminin aşamalarına göre belirlenen fenolik madde içerikleri	16
Tablo 8. Derin kültür yöntemi ile üretilen ticari sirkelerin üretim aşamalarına göre belirlenen fenolik madde içeriklerinin aralıkları	16
Tablo 9. Sirkelerin pH, brix, toplam asitlik, toplam fenol ve toplam flavonoid içeriğinin spektroskopik verilerden tahmini için geliştirilen kemometrik modellerin performans parametreleri	22
Tablo 10. Sirkelerin organik asit profilinin spektroskopik verilerden tahmini için geliştirilen kemometrik modellerin performans parametreleri	23
Tablo 11. Sirkelerin şeker ve etanol içeriklerinin spektroskopik verilerden tahmini için geliştirilen kemometrik modellerin performans parametreleri	24
Tablo 12. Sirke fenolik madde profilinin spektroskopik verilerden tahmini için geliştirilen kemometrik modellerin performans parametreleri	25
Tablo 13. Tağşiş ile ilgili mid-IR spektroskopik verilerin değişik kemometrik yöntemler ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen istatistiksel modeller	28
Tablo 14. Tağşiş ile ilgili mid-IR spektroskopik verilerinin PLS-DA modeli ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen doğru sınıflandırma tablosu	29
Tablo 15. Tağşiş ile ilgili mid-IR ve UV-vis spektroskopik verilerinin birlikte değişik kemometrik yöntemler ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen istatistiksel modeller	30
Tablo 16. Tağşiş ile ilgili Mid-IR ve UV-vis spektroskopik verilerinin birlikte PLS-DA modeli ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen doğru sınıflandırma tablosu	31

## ÖZET

Değişik ham madde ve teknikler ile üretilen sirke, tağşişe maruz kalan gıda ürünleri arasında yer almaktadır. Ürün içeriği, ham madde ve üretim tipine göre farklılıklar gösterdiğinden tağşiş belirlemede zorluklar yaşanabilmektedir. Bu çalışma ile üzüm sirkesine etanol sirkesi ve asetik asit ekleme ile yapılan tağşişin, orta bölge kızılötesi (mid-IR) ve UV-görünür bölge (UV-Vis) spektroskopik yöntemlerden elde edilen verilerin kemometrik teknikler ile değerlendirilmesi yoluyla tespit edilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca geleneksel ve derin kültür yöntemleri ile üretim sırasında elde edilen kimyasal parametrelerin (pH, brix, toplam asitlik, toplam fenol ve flavonoid içerikleri, organik asit, şeker ve fenolik madde profilleri), mid-IR ve UV-Vis spektroskopik verilerden tahmini de bu çalışmanın diğer bir hedefidir.

UV-Vis ve mid-IR verilerinin beraber kullanılmasıyla elde edilen ortogonal kısmi en küçük kareler-ayrım analizi (OPLS-DA) modeli tağşiş belirlemede en iyi sonucu vermiştir. Bu modele göre iki tağşiş tipini de kapsayan ve model oluşturmakta kullanılmayan doğrulama seti ile %96,49 oranında doğru sınıflama elde edilmiştir. Mid-IR spektroskopi verileri ile üzüm sirkesinin brix, pH, toplam asitlik, toplam fenol içeriği, toplam flavonoid içeriği, asetik asit, sitrik asit, glikoz ve fruktoz tahminlenmesinde güvenilir (doğrulama seti  $R^2$  değerleri  $> 0,85$ ) istatistiksel performansa sahip kemometrik modeller oluşturulmuştur. Toplam fenol içeriğinin belirlenmesinde UV-Vis spektroskopi de iyi bir sonuç vermiştir. Ayrıca iki spektroskopik verinin beraber kullanılması toplam flavonoid içeriği, tartarik asit, kafeik asit ve p-kumarik asit için oluşturulan kemometrik tahmin modellerinde iyileşmeye neden olmuştur.

Kullanılan spektroskopik ve kemometrik yöntemler üzüm sirkesi için hem tağşişin hem de birçok kalite ve kimyasal parametresinin belirlenmesinde iyi sonuçlar vermiştir.

**Anahtar sözcükler:** sirke, tağşiş, mid-IR spektroskopi, UV-Vis spektroskopi, kemometri

## ABSTRACT

Vinegar which is produced with different raw materials and techniques is among the foods which are exposed to adulteration. Detection of adulteration can be difficult since product content varies with raw material and production method. It is aimed to detect adulteration of grape vinegars with spirit vinegar and acetic acid through the evaluation of mid-infrared (mid-IR) and UV-visible (UV-vis) spectroscopic data with chemometric techniques. In addition, prediction of chemical parameters (pH, brix, total acidity, total phenolic and total flavonoid contents, organic acid, sugar and phenolic content profiles) obtained during traditional and submerged culture type of processes from mid-IR and UV-Vis data is another goal of this study.

Orthogonal partial least square discriminant analysis (OPLS-DA) model constructed with the combination of UV-Vis and mid-IR data provided the best result for the determination of adulteration. 96.49% correct classification rate was obtained with validation set which is not used in model building and containing both adulteration types. Chemometric models with good statistical performance (validation set  $R^2 > 0.85$ ) were generated to predict brix, total acidity, total phenolic, total flavonoid, acetic acid, citric acid, glucose and fructose contents of grape vinegars using mid-IR spectroscopic data. UV-vis spectroscopy also provided a reliable result in determination of total phenolic content. In addition, using two spectroscopic data together caused improvements in chemometric prediction models of total flavonoid, tartaric, caffeic and p-coumaric acid contents.

Used spectroscopic and chemometric methods provided good results both in prediction of adulteration and in determination of quality and chemical parameters for grape vinegars.

**Keywords:** vinegar, adulteration, mid-IR spectroscopy, UV-visible spectroscopy, chemometrics

# 1. GİRİŞ

Sağlık üzerinde olumlu etkileri bildirilen bilimsel çalışmaların sayısının artmasıyla sirkeye olan ilgi de büyümektedir. Sirke üretimi, etanol ve asetik asit fermantasyonu olmak üzere iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşamada şeker, *Saccharomyces cerevisiae* gibi mayalar tarafından etanole dönüştürülürken ikinci aşamada asetik asit, etanolden asetik asit bakterilerinin yardımıyla elde edilir. Sirke üretimi geleneksel veya derin kültür yöntemleriyle yapılabilir. Geleneksel üretim ile sirke, yüzeyde film oluşturan kültür tarafından gerçekleştirilen fermantasyon ile üretilmektedir. Derin kültür yönteminde ise fermantasyon ortamına oksijen sağlanır ve böylece fermantasyon daha kısa zamanda tamamlanır. Nişasta ve şeker içeren gıdalar, sirke üretiminde kullanılan temel ham maddelerdir. Sirke için ürün spektrumu coğrafi işaret statüsüne sahip pahalı sirkelerden, doğrudan alkolden üretilen daha ucuz ürünlere kadar değişiklik göstermektedir.

Sirke çoğunlukla asetik asit içermekle beraber bileşiminde diğer organik asitler ve biyoaktif maddeler de bulunmaktadır. Bu bileşiklerin varlığı ve miktarı ham maddenin tipine, işleme yöntemine ve koşullarına bağlıdır. Sirke kalitesi, bu ürünün otantikliği ve içeriğindeki temel bileşiklerin yanı sıra yapısındaki biyoaktif bileşikler ile de ilişkilendirilmektedir. Gıda ürünlerinin kalite ve otantikliğini belirlemek için kullanılacak spektroskopik teknikler, hızlı sonuç verebilme ve minimum atık üretme gibi avantajlar sağlayabilmektedir. Özellikle orta bölge kızılötesi (mid-IR) spektroskopi ( $4000-400\text{ cm}^{-1}$ ) tekniği, değişik gıda ürünlerinin çeşitli kalite parametrelerinin belirlenmesinde ve tağşişin tespitinde oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. UV-görünür bölge (UV-Vis) spektroskopisi de kullanımı kolay ve hesaplı bir teknik olma özelliklerine sahiptir. Spektroskopik veriler çok fazla değişkene sahip olduğundan çok değişkenli istatistiksel analiz teknikleri, bu verilerin değerlendirilmesinde, örnekleri benzerliklerine göre kümeleme veya ölçülen parametreleri tahmin edebilmeyi sağlayacak şekilde kullanılmaktadır.

Sirke üretim aşamaları asetik asit, etanol ve şeker içeriği gibi kimyasal parametreler belirlenerek izlenmektedir. Literatürde sirke üretiminin bu tip parametreler, Raman ve yakın bölge kızılötesi (NIR) spektroskopi kullanılarak izlendiği az sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalarda biyoaktif bileşikler takip edilmemiştir. Buna ek olarak, mid-IR ve UV-Vis spektroskopinin bu amaçla kullanıldığı çalışmalara rastlanmamıştır.

Literatür ve endüstriden elde edilen bilgilere göre sirkenin sentetik asetik asit ve alkol sirkesi ile tağşişi sıklıkla rastlanabilen bir durumdur. Literatürde asetik asit ve alkol sirkesi ile tağşişin değişik analitik yöntemlerle belirlenmesi konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve mid-IR ve UV-Vis spektroskopinin bu amaç için kullanımına rastlanmamıştır.



Bu çalışmanın ilk kısmında geleneksel ve derin kültür yöntemleri ile üzüm sirkesi üretimi hem kimyasal parametreler (toplam asitlik, pH, brix, organik asit, şeker, etanol konsantrasyonu, toplam fenol ve toplam flavonoid içerikleri, fenol profili) hem de spektroskopik (mid-IR ve UV-Vis) profiller kullanılarak izlenmiştir. Daha sonra, ölçülen kimyasal parametreler, spektral profillerden çok değişkenli istatistiksel analiz teknikleri kullanılarak tahmin edilmiştir. İkinci kısımda ise spektroskopik yöntemler, sirkenin değişik oranlarda asetik asit ve alkol sirkesi ile tağışışını belirlemede kullanılmıştır. Böylece, mid-IR ve UV-Vis spektroskopinin, sirkenin çeşitli kimyasal parametrelerini ve sirkenin değişik şekillerde tağışışını belirleme konusunda yeterlilikleri test edilmiştir. Geliştirilen yöntemler tek bir spektroskopik ölçümle eş zamanlı olarak birçok kimyasal parametrenin belirlenmesini sağladığı gibi sirkede tağışışlı ürünlerin de kısa zamanda tespit edilmesine olanak vermektedir.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1 Sirke ve Üretimi

Codex Alimentarius Commission'a göre sirke, 'insan tüketimine uygun nişasta ya da şeker içeren ürünlerin çifte fermantasyonu sonucu oluşan alkollü ve asitli sıvı' olarak tanımlanmıştır (Codex Alimentarius Commission, 1987). Ülkelere göre sirke ile ilgili yönetmeliklerde farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin Codex, sirkenin litre başına 50 gramdan az asetik asit içermeyeceğini belirtirken ülkemizin standartlarında bu oran 40 g/L'dir (TS 1880 EN 13188). Türk standartlarına göre alkol içeriği de sirkenin tipine göre belirlenmiştir. Buna göre alkol oranı şarap sirkesi dışındaki sirkelerde hacimce %0,5'den fazla, şarap sirkelerinde ise %1,5'dan fazla olmamalıdır. Sirke yönetmeliklerine dair diğer bir farklılık ise sulandırılmış asetik asidin (%4-30, hacimce) sirke olarak tanımlanıp tanımlanmayacağı ile ilgilidir. Avrupa Birliği sulandırılmış asetik asidin tarımsal kaynaklı sirkeler gibi gıda içeriği olarak kullanılabilmesi yönünde bir yönetmeliğe (Commission Regulation 2016/23) sahipken bazı üye ülkelerde sirke, sadece tarımsal kaynakların fermantasyonu ile elde edilen bir ürün olarak tanımlanmaktadır.

Sirke doğrudan tüketilebilen bir ürün olduğu gibi salata sosları, ketçap ve mayonez gibi gıda ürünlerinin üretiminde de çeşitli roller oynamaktadır (Ho vd., 2017). Literatürde önemli sirke türleri şu şekilde sınıflandırılmıştır: (1) üzüm ve şarap sirkesi, (2) balzamik sirke, (3) elma sirkesi, (4) Jerez sirkesi, (5) tahıl sirkesi (3) (Ho vd., 2017). Codex'de ise sirke grupları olarak (1) şarap, meyve, taneli meyve, elma sirkeleri, (2) alkol sirkesi, (3) tahıl sirkesi, (4) malt sirkesi, (5) distile malt sirkesi, (6) peynir altı suyu sirkesi, (7) bal sirkesi listelenmiştir. Avrupa'da belirli bölgelerde üretilen balzamik sirkeler coğrafi işaret statüsüne sahiptir ve daha yüksek fiyatlarla alıcı bulmaktadır. Çin ve Japonya'da üretilen bazı sirke türleri ise tıbbi amaçlarla da kullanılmaktadır. Küresel sirke ihracatı 2018 yılında 733 milyon dolara ulaşmıştır. Türkiye'nin

sirke ihracatı ise 2002 yılında 0,25 milyon dolarken 2019 yılında 5,04 milyon dolara kadar yükselmiştir (Trendeconomy, 2021).

Üretim, sirke tanımında belirtildiği şekilde iki aşamada yapılmaktadır; (1) alkolik fermantasyonu ve (2) asetik asit fermantasyonu. İlk aşamada şeker kaynağı etanol ve karbondioksite dönüşmekte ve fermantasyon anaerobik şartlarda mayalar tarafından gerçekleştirilmektedir. Üretimin ikinci aşamasında ise etanol, asetik asit ve suya dönüşür ve bu fermantasyon aerobik şartlarda gerçekleşir (Ozturk vd., 2015).

Sirke üretiminde geleneksel ve ticari olarak tercih edilen hızlandırılmış yöntemler kullanılmaktadır. Geleneksel üretimde sirke, yüzeyde film oluşturan kültür tarafından gerçekleştirilen fermantasyon ile üretilmektedir. Birincil fermantasyonda starter kültür olarak *Saccharomyces cerevisiae* suşları kullanılmaktadır. Bu yöntemde şıranın asidifikasyonu uzun sürmektedir. Şaraba önceki üretimlerden kalan pastörize edilmemiş sirke aşılarmakta ve 28-30°C sıcaklıkta fermente edilmektedir. Bu yöntemde göre bir hafta içerisinde sıvının üzerinde film oluşumu gözlenmekte ve film zamanla kalınlaşarak sirke anasını meydana getirmektedir. Üretim yaklaşık 6-14 haftada tamamlanmaktadır (Adams, 1998). Geleneksel üretimin meşe ağacından yapılmış fıçılarda yapılması Orleans yöntemi olarak adlandırılır. Bu yöntem genellikle yüksek kaliteli sirkelerin üretiminde kullanılır.

*Acetobacter xylinum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter hansenii*, *Acetobacter lovaniensis*, *Acetobacter liquefaciens* türleri endüstriyel sirke üretiminde asetik asit fermantasyonu için tercih edilen başlıca türlerdir (Adams, 1998). Derin kültür yönteminde fermantasyon, şıra içinde homojen dağılan bakterilerin aktivitesi ile oluşmaktadır. Bu tür üretimde biyoreaktör içerisindeki ortamın dipten havalandırılması ile fermantasyonun sadece yüzeyde değil, tüm fermantasyon ortamında olması sağlanır. Yöntem, hızlı asetik asit çevrimi oranıyla yüksek üretim kapasitesine sahiptir (Adams, 1998). Asetik asit fermantasyonunun daha hızlı, daha yüksek verimli olması ve sürekli üretim yapılabilmesi gibi avantajlarından dolayı günümüzde sirke üretiminde yaygın olarak derin kültür yöntemi tercih edilmektedir. Derin kültür yönteminde, etanol elde edildikten sonra 24-48 saat içinde asetik asit cinsinden %8-9 asitliğe ulaşılmaktadır (Adams, 1998).

Literatürde geleneksel ve ticari yöntemlerle üretilen sirkelerin çeşitli özelliklerinin karşılaştırıldığı kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Değişik tekniklerle üretilen sirkelerin fizikokimyasal özellikleri, fenol profilleri, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri, uçucu madde bileşikleri ve duyuşal özellikleri birbirleriyle karşılaştırılmış ve genel olarak ticari ve geleneksel yöntemler arasında farklar olduğu tespit edilmiştir (Ozturk vd., 2015; Budak ve Guzel-Seydim, 2010; Cirlini vd., 2011; Goamez vd., 2006; García-Parrilla vd., 1997).

Ham madde ve kullanılan üretim yöntemi, sirke kalitesini belirleyen temel etkenlerdir. Seçilen starter kültür, fermantasyonun başlatıldığı etanol konsantrasyonu, fermantasyon

sıcaklığı, besleme yapılan oksijen debisi, olgunlaştırma, olgunlaştırma sırasında kullanılan yöntem, saklama koşulları, şişeleme ve pastörizasyon gibi faktörler de ürünün kalitesi üzerinde etkilidir (Adams, 1998). Sirkenin bileşimi doğrudan ham maddenin içeriği ile ilişkilidir. Ham maddenin bileşimi ise elde edilen kaynağın türüne, yetiştirme iklimine, toprak koşullarına ve tekniklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Sirke üretiminde kullanılan ham maddelerin başlıcaları üzüm, elma ve şaraptır. Değişik ham maddelerden üretilen sirkelerin toplam asitlik değerlerinin %3.9-12.2 (asetik asit eşleniği) aralığında değiştiği belirlenmiştir (Adams, 1998). Sirke içeriğinin büyük bir kısmını su oluştururken organik asitler, alkoller, polifenoller, amino asitler gibi maddeler de sirkenin duyuşal özelliklerini belirleyen bileşenlerin başlıcalarıdır. Sirkenin bileşiminde asetik asit baskın olarak bulunmakla beraber sitrik, formik, laktik, malik ve süksinik asitler de yer almaktadır (Saiz-Abajo, vd., 2006; Sanarico vd., 2003). Sirkenin kendine özgü aroması asetik asit fermantasyonu sırasında ortaya çıkar ve asetik asit, diğer organik asitler, esterler, ketonlar ve aldehitler bu aromanın kaynağını oluştururlar (Ho vd., 2017). Değişik tip şeri sirkeleri ile yapılan bir çalışmada gaz kromatografi-kütle spektrometre (GC-MS) kullanılarak 58 aroma bileşeni tanımlanmıştır (Callejon vd., 2008).

Sirke içeriğinde, gallik, şirincik, vanilik ve kafeik asitler ile kateşin gibi çeşitli fenolik bileşikler de bulundurmaktadır. Özellikle balzamik sirkelerin yüksek fenol içeriğine sahip olduğunu gösteren çalışmalar literatürde yer almaktadır (Bakır vd., 2017; Bertelli vd., 2015; Kadiroglu, 2018). Ayrıca değişik ham maddelerle üretilen sirkelerin toplam fenol ve flavonoid içeriklerinin karşılaştırıldığı birçok çalışmada fenol içeriklerinin ham maddeye ve üretim tekniklerine bağlı olarak geniş bir değişkenlik gösterebildiği sonucuna varılmıştır (Arvaniti vd., 2019; Bakır vd., 2017; Cerezo vd., 2010; Ozturk vd., 2015).

Literatürdeki bazı çalışmalarda sirke üretimi sırasında içerik parametrelerinin özellikle de biyoaktif bileşenlerinin takip edilmesi yönündeki araştırmaların da yapıldığı görülmektedir. Bu yönde bir araştırmada elma, kırmızı ve beyaz sirke üretiminde asetik asit işleminin ürünlerin fenol profili ve toplam fenol içeriği üzerine etkisi izlenmiş ve bu işlemin fenol içeriğinde %50'ye varan düşüüşlere sebep olduğu gözlenmiştir (Andlauer vd., 2000). Değişik üretim tekniklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise geleneksel yöntemle üretilen sirkelerin daha yüksek toplam fenol içeriğine sahip olduğu görülmüştür (Budak ve Guzel-Seydim, 2010).

Spektroskopik yöntemler kemometrik tekniklerle beraber kullanıldığında, analiz edilen gıda ürünlerinin eş zamanlı olarak birçok kalite parametresinin belirlenmesine olanak sağlayabilmektedir. Kemometri, çok boyutlu bir veri setinin boyutlarının çok değişkenli istatistiksel yöntemler kullanılarak azaltılıp yararlı kimyasal bilgiler elde edilmesi olarak tanımlanabilir. Sirke için çeşitli spektroskopik yöntemlerin kemometrik tekniklerle birlikte kullanıldığı çalışmalar literatürde mevcuttur. Bu çalışmaların bir kısmı son ürün olan sirke üzerinde bir kısmı ise sirke üretiminin belirli aşamalarında çeşitli bileşiklerin miktarlarını tahmin

etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Beyaz sirkelerin çözünür katı madde içerikleri ve pH değerleri Vis ve NIR spektroskopi ölçümlerinin küçük kareler destekli vektör (LS-SVM) ve kısmi küçük kareler (PLS) analizleri ile modeller oluşturularak belirlenmiştir (Bao vd., 2014). Başka bir çalışmada ise Çin geleneksel sirkelerinin toplam asit içerikleri, NIR spektroskopi verilerinin lineer olmayan regresyon tekniği ile değerlendirilmesi sonucu doğru bir şekilde tahmin edilmiştir (Chen vd., 2012). Erikten elde edilen sirkenin organik asit içeriğinin belirlenmesinde Vis/NIR spektroskopi tekniği ile çeşitli kemometrik yöntemlerin beraber kullanılması hedeflenmiş ve LS-SVM tekniği en uygun sonuçları vermiştir (Liu ve He, 2009). Şarap, şeri, elma ve balzamik sirkelerden oluşan bir örnek setinde, asitliğin belirlenmesi için bir akış sistemi ile bağlantılı mid-IR spektroskopi kullanılmıştır (Moros vd., 2008). Verilerin paralel faktör analizi (PARAFAC) ve PLS ile analizi sonucu mükemmel tahmin modelleri oluşturulduğu bildirilmiştir. Mid-IR spektroskopinin kullanıldığı başka bir çalışmada ise elma, pirinç, üzüm, nar, balzamik, beyaz, pembe ve kırmızı şarap sirkelerini içeren örneklerin toplam fenol içeriklerinin tahmini PLS regresyon yöntemi kullanılarak oluşturulan bir modelle belirlenmiştir (Kadiroglu, 2018). Şarap sirkesinin fermantasyon aşamasının izlendiği bir çalışmada, toplam asitlik, uçucu ve uçucu olmayan asitler, organik asitler, L-proline, kuru madde, kül ve kloru kapsayan 14 parametre ile beraber NIR spektrasi da toplanmış ve bu parametrelerin PLS analizi yardımıyla spektroskopik verilerden tahmini başarılı bir şekilde yapılmıştır (Saiz-Abajo vd., 2006). Soğan atıklarından üretilen sirkenin asetifikasyon süreci de etanol, asetik asit, biyokütle ve NIR ölçümleri ile takip edilmiş ve PLS modelleri ile parametreler belirlenmiştir (Gonzalez-Saiz vd., 2008). Raman spektroskopisi de üzüm sirkesinin fermantasyonunu izlemek ve glikoz, fruktoz, etanol ve asetik asit değişimlerini belirlemede PLS regresyonu ile beraber kullanılmıştır (Uysal vd., 2013). Oluşturulan PLS modellerinin R<sup>2</sup> değerleri glikoz için 0,973, fruktoz için 0,988, etanol için 0,986 ve asetik asit için ise 0,983 olarak hesaplanmıştır.

## **2.2 Sirkede Tağşiş Belirleme**

Sirkenin tarihi, bu ürünün şarabın bir yan çıktısı olmasından, günümüzde çok ucuzundan ekonomik değeri oldukça yüksek olanına kadar geniş bir spektrumda üretilmesine kadar evrilmiştir. Son yıllarda özellikle sağlık üzerinde olumlu etkilerini bildiren çalışmaların artmasıyla tüketicilerin sirkeye olan ilgisi de dikkat çekici hale gelmiştir (Ho vd., 2017; Xia vd., 2020). Bunun sonucu olarak da bu üründe taklit ve tağşişe daha sık rastlanmaya başlanmıştır. Sirkede en sık görülen tağşiş türü daha düşük değerli bir ürünün daha yüksek kaliteli bir ürüne eklenmesidir. Buna örnek olarak alkolden elde edilmiş sirkelerin veya asetik asidin klasik sirkelere katılması verilebilir. Diğer bir tağşiş türü ise üretildiği bölgenin özelliklerini taşıyan coğrafi işarete sahip sirkelerin etiketlerde yanlış bilgilendirilme yoluyla taklidi şeklindedir.

Sirke değişik ham maddeler kullanılarak farklı yöntemlerle üretilen bir üründür. Bu nedenle tağşışın belirlenmesi sıklıkla güç bir durum teşkil edebilmektedir. Tağşış belirleme yöntemleri genel olarak iki başlık altında toplanmaktadır. Bunlar hedefli ve hedefli olmayan yöntemlerdir. Hedefli yöntemler, spesifik bileşenlerin belirlenmesini baz alan tekniklerdir. Örneğin, ürünlerde belirli bir pigmentin veya fenolik bileşenlerin bulunması ya da bulunmaması tağşışın göstergesi olabilir. Hedefli yöntemlerde daha çok kromatografik analizlerin kullanılması ile sonuca ulaşılmaya çalışılır ancak nükleer manyetik rezonans (NMR) gibi spektroskopik yöntemlerin de bu tür bir yaklaşıma uygun olduğu ve bu amaçla da kullanıldığı görülmektedir. Hedefli olmayan yöntemlerde ise analiz edilen ürünün genel profilinin elde edilmesi amaçlanır. Spektroskopik teknikler genel olarak hedefli olmayan yöntemler olarak kullanılmaktadırlar. Spektroskopik ölçümlerde elde edilen spektrada çok sayıda değişken bulunmakta ve bu değişkenlerin tek değişkenli istatistik yöntemlerle değerlendirilmesi yeterli olmamaktadır. Bu nedenle bu tür verilerin analizinde farklı kemometrik yöntemler tercih edilmektedir. Kemometri, gıda ürünlerinin tağşışını belirleme, coğrafi işaret bölgelerine veya ürünün değişik özelliklerine göre ayrımı gibi çalışmalarda spektroskopik yöntemlerle beraber sıklıkla kullanılmaktadır.

Özellikle son 15 yıl içerisinde sirkenin kaynağını belirleme, ham maddeye göre sınıflandırma ve otantiklik belirleme gibi konularda bilimsel yayınların arttığı görülmektedir. Bu yayınların arasında hedefsiz teknikler olarak NMR, NIR ve mid-IR ve floresans gibi spektroskopik tekniklerin kullanımı önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmalardan birinde değişik olgunlaştırma süresine sahip balzamik sirkeler, NMR verilerinin kemometrik yöntemlerle analizi ile başarılı bir şekilde sınıflandırılmıştır (Consonni vd., 2008). Ayırma analizinin (DA) hiyerarşik iz düşümü ile yapılan analiz, örnekleri genç (12 yaş altı), eski (12-15 yaş) ve çok eski (25 yaş üstü) olarak sınıflara ayırabilmiştir. Floresans spektroskopisi ise geleneksel bir Çin sirkesi olan Shanxi eskitilmiş sirkelerinin tağşışını belirlemede %100 doğru sonuç alınmasını sağlamıştır (Peng vd., 2019). Sözü edilen çalışmada veriler, PARAFAC ve çok yönlü kısmi kareler ayırma analizi (PLS-DA) ile analiz edilmiştir. Çok boyutlu floresans spektroskopik verilerinin PARAFAC ve PLS-DA ile değerlendirildiği başka bir çalışmada ise coğrafi işarete sahip İspanyol sirkelerinin karakterizasyonu ve otantikliğinin belirlenmesi hedeflenmiştir (Rios-Reina vd., 2017a) ve bu tekniklerin kullanımının coğrafi işaretleme için bir standart olma özelliği taşıyabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmayı yürüten grup aynı amaçla mid-IR, NIR, UV-Vis ve NMR spektroskopik tekniklerinin değişik kemometrik yöntemlerle beraber kullanıldığı farklı çalışmalar da yapmışlardır (Rios-Reina vd., 2017b; Rios-Reina vd., 2018; Rios-Reina vd., 2019a; Rios-Reina vd., 2019b; Rios-Reina vd., 2019c). Bu çalışmalardan birinde kullanılan bütün spektroskopik veriler birleştirilerek, sınıflandırmanın daha da iyileştirilmesi üzerine de çalışılmıştır (Rios-Reina vd., 2019c).

Ham madde ve yaşlandırma nedeniyle sınıflandırmaların yanı sıra, hedefsiz teknikler yüksek kaliteli sirkeleri belirlemek amacıyla da uygulanmışlardır. NIR reflektans spektroskopi, derin kültür ve Orleans yöntemi ile üretilen ve coğrafi işarete sahip sirkelerin ayırımında kullanılmıştır (la Haba vd., 2014). Başka bir çalışmada ise yüksek ekonomik değere sahip şeri sirkelerinin içine katılan pirinç, elma ve beyaz şarap sirkelerinin tespiti lazer diyot floresan spektroskopi ile yapılmaya çalışılmış ve verilerin işlenmesinde kullanılan akıllı kaotik algoritmalar değişik başarı oranları sağlamışlardır (Lastra-Mejias vd., 2020). Floresans spektroskopisi diğer bir spektroskopik yöntem olan UV-Vis spektroskopisi ile beraber de kullanılarak sirkelerin kaynağının belirlenmesi hedeflenmiştir (Rios-Reina vd., 2020a). Bu amaçla İtalya, Arjantin ve İspanyol sirkeleri analiz edilmiş ve veriler temel bileşenler analizi (PCA) ve PARAFAC ile değerlendirilmiştir.

Hedefli analizlerde ise ürünün spesifik özellikleri ve bileşenleri belirlenmeye çalışılır. Bu tür çalışmalardan birinde moleküler izotop oranlarının gıdaların botanik ve coğrafi özelliklerine göre ayırım yapabilme durumundan yararlanılmıştır. Bu amaçla 7 değişik ham maddeden üretilen sirkenin analizi katı faz mikroekstraksiyon bağlantılı gaz kromatografi ve yanmalı izotop oranlı kütle spektroskopi ile yapılmış ve ham maddeye göre sınıflama sağlanabilmiştir (Hattori vd., 2010). Hidrojen ve karbon izotop oranlarının asetik asidin botanik kaynağını belirlemede etkili parametreler olduğu tespit edilmiştir. Asetik asitte bulunan metil ve karboksil gruplarının tepe boşluklu katı faz mikroekstraksiyon (HS-SPME) ile bağlantılı gaz kromatografi-piroliz gaz kromatografi-yanmalı izotop oranlı kütle spektroskopi (GC-Py-GC-C-IRMS) ile belirlenen  $\delta^{13}\text{C}$  değerleri de yine sirkenin kaynağını araştırmada kullanılmıştır (Hattori vd., 2011). Başka bir çalışmada ise NMR spektrometri ile belirlenen H, C ve O izotop oranlarının balzamik sirkelerin otantikliğinin tespitinde kullanılması hedeflenmiştir (Werner ve Rossmann, 2015). Bu yöntemle saf şarap sirkesinde bulunan asetik asit, bitki bazlı C4 asetik asit ve C3 asetik asit başarılı bir şekilde ayrılmıştır. Kuru üzümde elde edilen şarap sirkesinin su ile seyreltilmesine AB yönetmeliklerine göre izin verilmemektedir (EU 555/2008). Bu durumun belirlenmesi için ise suyun  $\delta^{18}\text{O}$  değerleri izotop oranlı kütle spektrometre ile analiz edilmiş ve  $\delta^{18}\text{O}$  için taşıdığı gösteren limit değerleri tanımlanmıştır (Camin vd., 2013).  $\delta^{18}\text{O}$  ve  $\delta^{13}\text{C}$  değerleri İspanyol şarap sirkelerinin kaynağının belirlenmesinde kullanılmış ve  $\delta^{18}\text{O}$  değerinin bu amaç için yararlı olduğu bildirilmiştir (Ortiz-Romero vd., 2018). Diğer bir izotop çalışmasında ise pirinç sirkesinin alkol sirkesi ile taşıdığı metil gruplarındaki döteryum/hidrojen oranlarının analizi ile tespit edilebilmiştir (Hsieh vd., 2013). İzotropik  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  oranı ise balzamik sirkelerin otantikliğinin belirlenmesinde etkili olmuştur (Sighinolfi vd., 2018).

Hedefli analizlerde uçucu bileşiklerden de sirke tipini belirlemede faydalanılmıştır. Bu amaçla 3 sirke tipinin uçucu bileşikleri GC-MS ile analiz edilmiş ve bu verilerin sirkelerin ayırımında %100 başarı sağladığı görülmüştür (Rios-Reina vd., 2019d). Coğrafi işarete sahip

İspanyol sirkelerinin aroma profillerinin de ayırt edici özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Rios-Reina vd., 2020b). Başka bir çalışmada ise geleneksel Çin tahıl sirkelerinin ayrımında organik asit ve melanoidin bazlı bir sensör sistemi geliştirilmiştir (Chen vd., 2020). Değişik sürelerde eskitilmiş balzamik sirkelerin ayrımında ise brix, asetik asit, etanol, formik asit, laktik asit, malik asit, süksinik asit, tartarik asit ve hidrokümetilfurfural verileri PCA, faktör analizi ve DA ile değerlendirilmiş ve grup ayrımları sağlanmıştır (Papotti vd., 2015).

Bazı çalışmalarda ise hedefli ve hedefli olmayan yöntemlerin birbirlerini doğrulamak ya da karşılaştırma yapmak amacıyla birlikte kullanıldığı görülmektedir. Bu tür çalışmalara bir örnek, sirkelere eklenen karamel renklendiricisinin belirlenmesinde floresans spektroskopisi ve kromatografik tekniklerin birlikte kullanılmasıdır (Rios-Reina vd., 2019a).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1 Sirke Üretimi ve Örneklemeye**

Derin kültür yöntemi ile sirke üretimi için örnekler, Tariş Sirke Pekmez İşletmesinin (Alaşehir, Manisa) sirke üretim hattından alınmıştır. Kurutulmuş Sultaniye ve Alicante Bouchet tipi iki ayrı üzüm cinsinden sirke üretimi sırasında örnekler toplanmıştır. Her üzüm türü için 3 ayrı hatta örneklemeye yapılmıştır. Örneklemeler, etanol fermantasyonu ve asetik asit işlemleri sırasında değişik zamanlarda yapılmıştır. Etanol fermantasyonunda 29 örnek ve asetik asit aşamasında ise 71 örnek toplanmıştır.

Geleneksel üretim yine aynı tip üzümlerle gerçekleştirilmiştir. Tariş'te üretime hazır hale getirilen Sultaniye ve Alicante Bouchet kuru üzümlerinden hazırlanan şıralara (18 brix) ön denemelerde elde edilen sirke anası eklenmiş ve karanlık bir ortamda beklemeye bırakılmıştır. Örneklemeye 0, 2, 4, 6, 10, 15, 20, 25, 30 ve 40. günler de yapılmıştır. Fermantasyon, ağzı pamuk bir kumaşla kapatılmış cam kavanozlarda gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2 Kimyasal Analizler**

##### **3.2.1 Brix, pH ve toplam asitlik ölçümleri**

Örneklerin pH değerleri pH metre, brix değerleri ise dijital bir refraktometre (Isolab, Almanya) ile ölçülmüştür. Toplam asitlik, örneğe indikatör eklenerek NaOH ile titrasyon ile belirlenmiştir (OIV, 2000). Toplam asitlik % asetik asit (h/h) olarak hesaplanmıştır.

### **3.2.3 Toplam fenol içeriği**

Sirke örneklerinin toplam fenol içeriği (TPC) mikro düzeye adapte edilmiş Folin-Ciocalteu yöntemiyle spektrofotometrik olarak belirlenmiş (Ozturk vd., 2015) ve sonuçlar mg gallik asit/L olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.4 Toplam flavonoid içeriği**

Sirke örneklerinin toplam flavonoid içeriği (TFC) spektrofotometrik bir yöntemle 510 nm'de absorbans değerleri ölçülerek tespit edilmiştir (Zhishen vd., 1999). Sonuçlar mg kateşin/L olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.5 Fenol profilinin belirlenmesi**

Fenolik bileşiklerin konsantrasyonları literatürde tanımlanan kromatografik bir yöntemle belirlenmiştir (Uncu ve Ozen, 2016). Bu amaçla örnekler kromatografik analiz öncesi membran filtreden süzölmüş, daha sonra ise literatürde verilen koşullara göre HPLC-DAD sistemine (Perkin Elmer 200, Waltham, MA, ABD) enjekte edilmiştir. Analizlerde C18 kolonu (250 x 4mm, 5 µm, ACE, Aberdeen, İskoçya) kullanılmıştır. Kateşin, epikateşin, gallik asit, kafeik asit, şirincik asit, p-kumarik asit ve vanilik asit standartları ile oluşturan en az 5 noktalı standart eğrilerden fenol miktarları hesaplanmıştır.

### **3.2.6 Organik asit, şeker ve etanol içeriği**

Sirke örneklerinin organik asit, şeker ve etanol konsantrasyonları Castellari vd. (2000) tarafından önerilen yöntemle göre eş zamanlı olarak refraktif indeks detektörüne sahip HPLC (Agilent 1200, Santa Clara, CA, ABD) ile belirlenmiştir. Aminex 87H kolonu (300x7.8 mm, 9µm, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, ABD) analizler için kullanılmıştır. Asetik, sitrik, malik, tartarik ve süksinik asitler, glikoz, fruktoz, sakkaroz, ve etanol konsantrasyonları, bu bileşiklerin standartlarından oluşturulan en az 5 noktalı standart eğriler kullanılarak belirlenmiştir.

### **3.2.7 UV-görünür bölge (UV-Vis) spektroskopisi**

Örneklerin UV-Vis spektrası 200-550 nm dalga boyu aralığında Thermo Multiskan UV-Vis spektrofotometre (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, ABD) ile elde edilmiştir.

### **3.2.8 Fourier transform infrared spektroskopisi**

Örneklerin mid-IR spektrası yatay ATR aksesuarına ve DTGS detektörüne sahip bir Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektrometre (Spectrum 100, Perkin Elmer, Waltham, MA,



ABD) ile 4000-800  $\text{cm}^{-1}$  aralığında elde edilmiştir. Ölçümler 128 tarama ve 4  $\text{cm}^{-1}$  çözünürlükle yapılmıştır.

### 3.3 Tağşiş Çalışmaları

Sirke örnekleri içerisinde asetik asit ve etanol (beyaz) sirkesi ayrı ayrı %1, 5, 10, 20, 30, 40 ve 50 (h/h) oranlarında eklenmiştir. 7 farklı markaya ait 8 farklı ticari üzüm sirkesi ve geleneksel yolla elde edilen üzüm sirkeleri tağşiş çalışmalarında kullanılmıştır. Sirkelere eklenmek üzere asetik asit, distile su ile seyreltilerek %4 (h/h) konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Hazırlanan toplam tağşişli sirke örneği sayısı 315'dir.

### 3.4 İstatistiksel Analizler

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri iki bölümden oluşmaktadır: 1) sirke işleme ve kalite parametrelerinin UV-Vis ve mid-IR spektroskopi verilerinden kemometrik yöntemler kullanılarak tahmini, 2) tağşişli örneklerin saf sirke örneklerinden kemometrik sınıflandırma yöntemleri ile ayrılması ve tağşiş oranlarının belirlenmesi. Bütün kemometrik analizler SIMCA-P v.14.1 (Umetrics, Umea, İsveç) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Modellerde mid-IR ve UV-Vis verileri ayrı ayrı kullanıldığı gibi iki veri seti birleştirilerek de modeller oluşturulmuştur.

Ticari sirkelerden ve ticari ve geleneksel sirke üretimi sırasında elde edilen örneklerden toplanan kimyasal veriler yine aynı örneklerin UV-Vis ve mid-IR spektrasından tahmin edilmek amacıyla kemometrik modeller oluşturulmuştur. Bu amaçla PLS ve ortogonal PLS (OPLS) regresyon analizlerinden faydalanılmıştır. Modeller oluşturulmadan önce veriler değişik transformasyonlara tabi tutulmuştur. Bu transformasyonlar birinci, ikinci ve üçüncü türev, standart normal varyasyon (SNV), çoklu sinyal düzeltme (MSC), sıkıştırılmış küçük dalga zaman serileri (WCTS) ve gürültü azaltıcı küçük dalga zaman serileri (WDTS) teknikleridir. Modeller 107 kalibrasyon ve 62 doğrulama (model oluşturmada kullanılmayan) örneği kullanılarak oluşturulmuştur. Modellerin yeterlilikleri gizli değişkenleri (LV), kalibrasyon için  $R^2_{\text{cal}}$ , doğrulama için  $R^2_{\text{val}}$ , ortalama hata kalibrasyon tahmin karekök (root mean square of error of estimation, RMSEC) ve ortalama doğrulama hata karekök (root mean square error of validation, RMSEP) değerleri ile doğrulama grafiklerinin eğimleri hesaplanarak değerlendirilmiştir.

Tağşiş çalışmalarında kullanılan veri seti toplam 341 örnek içermektedir. Bunlardan 227'si kalibrasyon modelleri geri kalan 114 örnek ise doğrulama için kullanılmıştır. Doğrulama setindeki hiçbir örnek model oluşturmada kullanılmamıştır. Doğrulama setinin amacı modelin başarısını modelde olmayan örneklerle test etmektir. Sınıflandırma modellerinin oluşturulmasında PLS-DA ve ortogonal PLS-DA'den (OPLS-DA) yararlanılmıştır. Tahminleme modellerinde kullanılan transformasyonlar, çalışmanın bu kısmında da kullanılmıştır.

Oluşturulan sınıflandırma modellerinin kalibrasyon ve doğrulama  $R^2$  değerleri hesaplanmış, skor grafikleri ve doğru sınıflandırma matrisleri oluşturulmuştur. Ayrıca spektroskopik verilerden tağışış yüzdelerinin tahmini amacıyla PLS ve OPLS regresyon modelleri de oluşturulmaya çalışılmıştır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışma iki bölümden oluşmaktadır. İlk bölümde ticari sirke üretimi sırasında kullanılan derin kültür yöntemi ve geleneksel tarzda üretimin değişik aşamalarında ölçülen kalite ve kimyasal parametrelerin, UV-Vis ve mid-IR spektra verilerinden tahmini için kemometrik yöntemler kullanılmıştır. İkinci bölümde ise üzüm sirkesinin etanol sirkesi ve asetik asit ile karıştırılması, mid-IR ve UV-Vis spektroskopik verilerin yine kemometrik yöntemlerle değerlendirilmesi ile belirlenmeye çalışılmıştır.

### 4.1 Sirke Üretim Parametrelerinin Spektroskopik Yöntemlerle Tahmini

Geleneksel ve derin kültür yöntemi ile üzüm sirkesi üretiminin değişik aşamalarında elde edilen kalite ve kimyasal parametre aralıkları Tablo 1-8'de sunulmuştur. Her iki üretim türünde de ham madde olarak Sultaniye (beyaz üzüm) ve Alicante Bouchet (siyah üzüm) tipi üzümler ayrı ayrı kullanılmıştır. Geleneksel yöntem kesikli bir üretim türü olup zamana bağlı olarak alınan verilerde ölçülen parametrelerin yükselme veya düşme eğilimlerini gözlemlemek mümkün olmuştur. Ticari üretim devamlı ham madde yüklemesi yapılarak, yarı-kesikli bir şekilde ve derin kültür yöntemi ile yapılmaktadır. Bu tür üretimde baştan sona kadar aynı hat üzerinde ürün takibi fermantasyon tanklarında aşılama için bir miktar bırakılan önceki ürün ve farklı hatların birleştirilmesi ile yapıldığından mümkün olmamıştır. İşleme sırasında parametre değişikliklerini gösteren örnek grafikler geleneksel üretimde kullanılan Alicante üzümü için Şekil 1'de sunulmuştur. Tahmin modelleri oluşturmak için göz önünde bulundurulması gerekenin kimyasal ölçümlerdeki değişimlerden çok, mümkün olduğunca geniş veri aralıklarında çalışılması olduğu düşünülerek ve çok sayıda veri olduğundan ancak önemli parametrelerin değişimlerine şekillerde yer verilebilmiştir.

Geleneksel yöntem ile üretimde iki üzüm tipi için de pH değerlerinin ilk 6 gün doğrusal bir düşüş gösterdiği daha sonra ise bu düşüşün yavaşladığı görülmektedir (Şekil 1a). Sultaniye üzümü için pH değişimi 4,44 değerinden 3,73'e, Alicante için ise 3,75'ten 3,07'e olmuştur. Toplam asitlik ise 40 gün boyunca devamlı bir artış göstermiştir (Şekil 1a). Brix değerleri ilk 15 gün içinde neredeyse lineer bir şekilde düşmüş daha sonra düşüş yavaşlayıp sabite yakın bir değere ulaşmıştır (Şekil 1b). Kırk gün sonunda bu değer sırasıyla Sultaniye ve Alicante için 9,10 ve 5,03 olmuştur. Geleneksel üretim sırasında TPC ve TFC değerleri de takip edilmiştir.

Sultaniye üzümünden üretim sırasında son aşamada başlangıca göre TPC %14,3 oranında düşerken Alicante üzümünden üretimde %33,51'lik bir artış kaydedilmiştir (Şekil 1c). TFC ise üretim sırasında dalgalanmalar göstermekle beraber genel olarak Sultaniye için düşüş (%32,71), Alicante için ise sabit kalma (%3,64) eğilimindedir (Şekil 1c). Derin kültür yönteminin etanol fermantasyonu sırasında Sultaniye ve Alicante üzümlerinin pH ve toplam asitlik değerleri benzer aralıklarda değişmektedir (Tablo 2). Ancak Alicante üzümünün Brix (2,80-35,1), TPC (295,1-3760,4 ppm) ve TFC (101,6-1693,5 ppm) değerleri Sultaniye üzümüne göre çok daha geniş bir aralıktadır. Aynı durum asetifikasyon aşaması için de geçerlidir (Tablo 2).

Tablo 1. Geleneksel yöntemle sirke üretiminin aşamalarına göre belirlenen kalite parametreleri

	pH	Brix	Toplam asitlik (%)	Toplam fenol (ppm GA)	Toplam flavonoid (ppm kateşin)
<b>Sultaniye</b>					
0.gün	4,44±0,00	24,50±1,10	0,59±0,04	934,96±62,66	300,45±5,64
2.gün	4,14±0,16	16,98±0,57	0,86±0,13	913,89±33,70	258,89±15,61
4.gün	3,94±0,11	13,18±1,88	0,88±0,15	853,58±29,35	276,00±37,01
6.gün	3,83±0,06	11,80±1,68	0,91±0,19	857,25±41,89	306,23±40,13
10.gün	3,74±0,04	11,20±1,86	0,98±0,04	883,54±23,84	279,59±65,21
15.gün	3,72±0,01	9,78±1,11	1,36±0,33	921,43±40,70	305,22±38,86
20.gün	3,73±0,00	9,87±0,37	3,04±0,09	871,36±44,09	258,42±40,16
25.gün	3,67±0,02	9,63±1,40	3,50±0,0	820,33±20,93	226,78±22,04
30.gün	3,60±0,01	9,07±1,10	4,40±0,41	816,27±36,37	202,56±10,61
40.gün	3,73±0,06	9,10±1,20	5,65±0,50	795,39±63,38	202,17±33,64
<b>Alicante</b>					
0.gün	3,75±0,05	17,87±2,15	0,30±0,07	665,09±30,02	143,66±5,07
2.gün	3,54±0,00	15,48±1,77	0,38±0,07	801,57±46,41	150,22±5,83
4.gün	3,42±0,25	12,73±2,30	0,54±0,04	802,35±52,62	149,98±8,34
6.gün	3,40±0,21	11,52±0,97	0,70±0,07	824,39±50,65	159,83±12,58
10.gün	3,44±0,21	8,05±0,35	1,00±0,00	804,09±45,32	164,20±9,57
15.gün	3,40±0,20	6,42±0,04	1,47±0,04	849,71±47,52	200,69±45,49
20.gün	3,30±0,16	6,45±0,27	1,73±0,04	844,30±53,56	171,39±11,35
25.gün	3,28±0,15	5,68±0,35	2,36±0,06	871,75±55,03	158,73±8,20
30.gün	3,16±0,12	5,32±0,08	3,13±0,07	876,78±75,31	139,05±8,28
40.gün	3,07±0,18	5,03±0,12	3,23±0,07	887,99±53,71	148,89±4,76

Tablo 2. Derin kültür yöntemi ile üretilen ticari sirkelerin üretim aşamalarına göre belirlenen kalite parametreleri aralıkları

	pH	Brix	Toplam asitlik (%)	Toplam fenol (ppm GA)	Toplam flavonoid (ppm kateşin)
<b>Sultaniye</b>					
Etanol fermantasyonu	4,16-3,70	19,40-1,50	0,36-2	972,47-122,95	251-29,13
Asetifikasyon	3,71-3,43	5,20-1,3	1,5-4,58	570,37-139,96	176-41,63
<b>Alicante</b>					
Etanol fermantasyonu	4,23-3,62	35,10-2,80	0,29-1,14	3760,43-295,08	1693,5-101,63
Asetifikasyon	3,76-3,31	7,20-1,10	0,86-6,43	797,24-131,15	715-42,88

Tablo 3'de iki çeşit üzümünden geleneksel sirke üretim aşamaları sırasında organik asit profilinin değişimi görülebilir. Asetik asit sirkede en yüksek orana sahip organik asittir ve bu

asidin geleneksel yöntemle üzüm sirkesi üretimi sırasında değişimi Şekil 1d'de gösterilmiştir. Bu grafiğe göre asetik asit, üretim sırasında beklenildiği gibi sürekli artış göstermiştir. Asetik asit dışında, literatürde bulunan üzüm sirkeleri ile yapılan çalışmalarda olduğu gibi, tartarik, laktik, süksinik, sitrik ve malik asit miktarları da ölçülmüştür. Miktarlar üzüm ve işleme tipine bağlı olarak fazlası ile değişkenlik göstermektedir (Hajimahmoodi vd., 2016; Liu vd., 2019; Natera vd., 2003). Aynı durum derin kültür sirke üretimi süreci içinde geçerlidir (Tablo 4).

Geleneksel üretim sırasında belirlenen başlıca şekerlerden glikoz ve fruktoz miktarlarında ilk 15 gün içerisinde düzenli bir düşüş gözlenmiş ve bu süreç içerisinde şeker miktarları minimum seviye inmiştir (Tablo 5-6, Şekil 1e). Etanol konsantrasyonu ise ilk 10 gün içerisinde beklendiği şekilde en yüksek değerine ulaşıp daha sonra azalmıştır (Şekil 1d).

Sirkenin içerdiği diğer bileşiklerde olduğu gibi fenolik bileşenlerde üzüm çeşidine, işleme tipi ve işleme aşamasına göre büyük farklılıklar göstermektedir (Tablo 7-8). Genel olarak bakıldığında üzüm şirasının özellikle gallik asit, kateşin ve epikateşin bileşenlerince daha zengin olduğu ayrıca daha az miktarda şirincik, kafeik, p-kumarik ve vanilik asit gibi diğer fenoliklerin belirlendiği görülmektedir. Literatürde bulunan üzüm sirkesi ile ilgili çalışmalarda da benzer fenolik bileşenler tespit edilmiştir (Liu vd., 2019; Natera vd., 2003).

Sirke oluşumu sırasında kimyasal parametrelerin miktarlarındaki değişimler ve işleme süresi, ham madde ve işleme tipine göre farklılıklar göstermektedir. Ancak sirke fermantasyonu sırasında glikoz ve fruktozun önce etanol daha sonra asetik aside çevrim temel reaksiyonuna göre; şeker miktarının çok düşük seviyelere düşmesi, etanol miktarının ilk aşamada yükselmesi ve fermantasyonun ikinci aşamasında düşmesi ve asetik asit miktarının da yine ikinci aşamada daha hızlı bir şekilde artması beklenmektedir (Adams, 1998). Bu çalışmada da bu değişimler bire bir gözlenmiştir (Şekil 1). Cabernet üzüm çeşidi ile geleneksel sirke fermantasyonunun izlenmesi ile yapılan bir çalışmada da belirtilen parametreler açısından bu araştırma ile aynı eğilimler kaydedilmiştir (Uysal vd., 2013). Soğan, limon, portakal ve şarap sirkesi gibi başka ham maddelerle yapılan çalışmalarda da yönelimler aynı şekildedir (González-Sáiz vd., 2008; Morales vd., 2001; Leones vd., 2019). Asetik asit dışındaki organik asitlerin değişiminin üzüm sirkesinin asetikasyonu sırasında organik asit türüne göre farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir (Woo vd., 2015). Aynı yöndeki gözlem cennet elmasından sirke üretiminin alkol fermantasyonu aşaması için de geçerlidir (Lee vd., 2009). Bu çalışmada da organik asitlerin konsantrasyonlarında fermantasyon sürecinde dalgalanmalar görülürken üzüm tipine ve organik asit türüne bağlı olarak azalma veya artma tespit edilmiştir (Tablo 3). Sirke üretimi sırasında fenolik bileşiklerin değişimine yönelik kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmalardan bazıları da sadece belirli bir üretim aşamasına odaklanmıştır. Fenol tipleri ve miktarları da beklendiği üzere ham maddeye göre farklılıklar göstermektedir. Limon sirkesi üretiminde bazı fenolik maddelerin konsantrasyonları düşerken

bazılarının ise önemli miktarda değişmediği bildirilmiştir (Leones vd., 2009). Miktarlardaki düşüşün etanol fermantasyonu sırasında olduğu ve asetikasyon sırasında önemli azalmalar olmadığı belirtilmiştir (Leones vd., 2019). Sadece asetikasyon aşamasının incelendiği şarap sirkisinin üretimi sırasında da fenol miktarında kayda değer bir azalma olmadığı tespit edilmiştir (Morales vd., 2001). Ancak diğer iki çalışmada ise asetikasyon sürecinde TPC'de düşüş gözlemlendiği bildirilmiştir (Andlauer vd., 2000; Jo vd., 2015). Düşüş miktarı ise sirke ham maddesine bağlıdır ve elma, beyaz ve kırmızı şarap sirkelerinde sırasıyla %40, %18 ve %13 azalma olduğu belirtilmiştir (Andlauer vd., 2000). Bu çalışmada ise TPC ve TFC değişimleri üzüm tipine bağlı olarak farklılıklar göstermiştir. Sultaniye için iki aşamada da genel bir düşüş (etanol ve asetik asit fermantasyonunda TPC için sırasıyla %5,5 ve %10) meyli gözlenirken, Alicante üzümünün işlenmesi sırasında ilk 10 güne karşılık gelen etanol fermantasyonu sürecinde TPC (%21) ve TFC (%14) yavaş bir artış göstermiş daha sonraki fermantasyon aşamasında TFC düşmüş (%9) ve TPC bir miktar artış (%10) göstermiştir (Şekil 1c). Bu durum işleme sırasındaki fenolik madde değişim yönelimlerinin ham maddenin özelliklerine bağlı olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Tablo 3. Geleneksel yöntemle sirke üretiminin aşamalarına göre belirlenen organik asit içerikleri

	Asetik asit (%, h/h)	Laktik asit (ppm)	Süksinik asit (ppm)	Tartarik asit (ppm)	Malik asit (ppm)	Sitrik asit (ppm)
<b>Sultaniye</b>						
0.gün	0,07±0	857±107	1108±86	6887±122	5326±19	1184±3
2. gün	0,08±0,02	1362±211	687±192	4634±2156	3415±1407	3049±220
4. gün	0,09±0	1905±737	531±313	4617±1619	1482±1007	2986±204
6. gün	0,11±0,02	2649±1162	509±41	4558±1882	790±80	3387±229
10. gün	0,41±0,39	3098±2052	473±46	5324±2621	503±59	3541±254
15. gün	0,72±0,06	2745±2062	487±50	5334±1927	334±43	3249±243
20. gün	2,40±0,12	1238±1113	477±49	5446±2966	416±53	3406±275
25. gün	2,97±0,36	997±896	479±53	6152±3307	350±45	3207±277
30. gün	3,86±0,96	692±524	453±51	5840±2820	423±49	3123±267
40. gün	5,13±0,26	1030±284	498±57	7725±2062	273±28	2681±256
<b>Alicante</b>						
0.gün	0,04±0,03	3609±459	720±63	6561±1246	2882±108	758±366
2. gün	0,07±0,02	2068±106	2933±78	4636±135	4372±541	1847±487
4. gün	0,08±0	3182±585	2113±131	2764±408	2191±275	1309±44
6. gün	0,16±0,02	4605±194	2294±555	2316±135	1636±96	1426±384
10. gün	0,60±0,1	9696±758	3646±400	3079±165	601±25	2334±11
15. gün	0,95±0,11	7498±574	3124±621	2954±642	59±23	2002±265
20. gün	1,40±0,12	4492±780	2982±579	1824±148	16±5	1891±255
25. gün	2,15±0,07	4223±696	2959±408	1790±168	22±3	1425±74
30. gün	3,15±0,22	3832±1015	3333±207	2729±127	40±3	289±72
40. gün	2,66±0,23	2050±15	3432±690	4133±25	55±12	185±59

Tablo 4. Derin kültür yöntemi ile üretilen ticari sirkelerin üretim aşamalarına göre belirlenen organik asit içeriklerinin aralıkları

	Asetik asit (% h/h)	Sitrik asit (ppm)	Tartarik asit (ppm)	Malik asit (ppm)	Süksinik asit (ppm)	Laktik asit (ppm)
<b>Sultaniye</b>						
Etanol fermantasyonu	0,09-0,01	1271-45	7610-16	2845-940	1921-321	7527-891
Asetifikasyon	1,98-0,75	69-15	216-68	498-96	1092-230	2857-750
<b>Alicante</b>						
Etanol fermantasyonu	0,06-0,02	1038-9,2	2364-899	798-333	4326-1416	10018-481
Asetifikasyon	4,07-2,78	232-129	1343-816	1440-1042	2236-1511	18573-2658

Tablo 5. Geleneksel yöntemle sirke üretiminin aşamalarına göre belirlenen şeker ve etanol içerikleri

	Glikoz (ppm)	Fruktoz (ppm)	Sakkaroz (ppm)	Etanol (% h/h)
<b>Sultaniye</b>				
0.gün	103166±933	119712±1534	132±14	-
2. gün	32487±9678	72348±1855	33±3	2,56±0,27
4. gün	10517±8084	32143±12043	52±6	4,11±1,65
6. gün	8111±6851	16403±1111	63±7	5,25±1,86
10. gün	1974±910	4664±524	78±10	5,59±0,72
15. gün	971±121	1685±159	104±14	2,61±0,38
20. gün	744±80	1623±156	98±13	0,86±0,36
25. gün	185±79	1500±174	63±7	0,41±0,45
30. gün	154±42	348±331	70±9	1,14±1,26
40. gün	76±22	231±21	82±0	0,19±0
<b>Alicante</b>				
0.gün	77240±2009	88536±1021	121±74	-
2. gün	67493±2697	90125±2919	556±74	0,22±0,15
4. gün	28695±5484	49473±8587	179±16	0,84±0,04
6. gün	15193±1191	35694±3156	138±10	1,08±0,68
10. gün	4045±830	15547±7708	115±70	5,22±0,95
15. gün	896±92	2436±133	49±12	1,37±0,1
20. gün	592±52	161±179	61±11	0,23±0,02
25. gün	259±±80	54±67	43±12	0,29±0,16
30. gün	183±73	9±2	65±4	0,05±0
40. gün	139±12	8±3	27±12	0,01±0

Tablo 6. Derin kültür yöntemi ile üretilen ticari sirkelerin üretim aşamalarına göre belirlenen şeker ve etanol içeriklerinin aralıkları

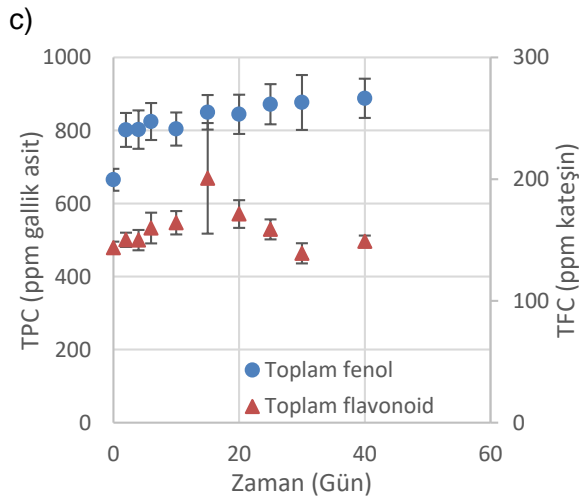
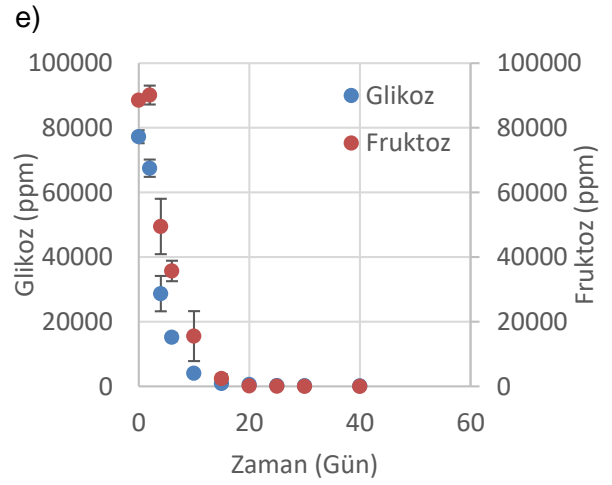
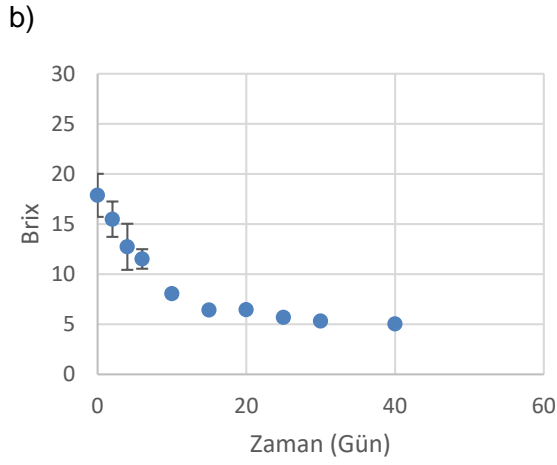
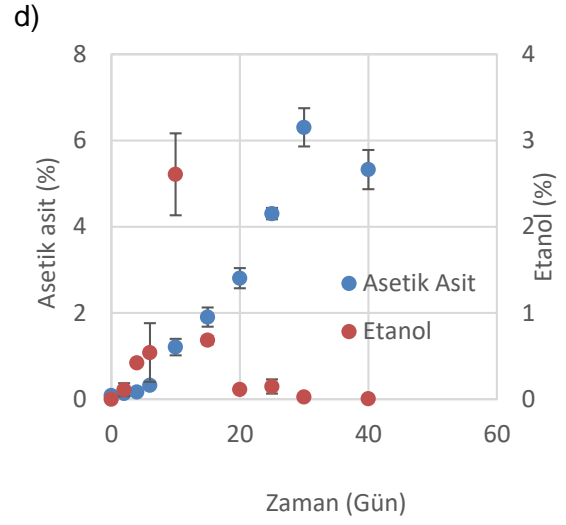
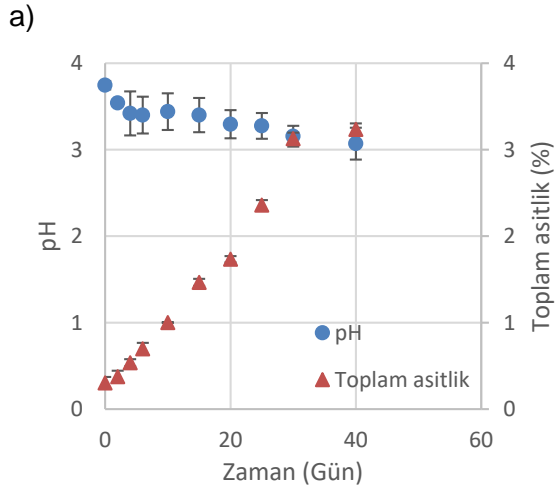
	Glikoz (ppm)	Fruktoz (ppm)	Sakkaroz (ppm)	Etanol (% h/h)
<b>Sultaniye</b>				
Etanol fermantasyonu	158158-171	160110-88	1754-51	5,27-0,02
Asetifikasyon	0-0	0-0	411-19	0,58-0,11
<b>Alicante</b>				
Etanol fermantasyonu	109589-263	172392-64	82-33	4,24-0,11
Asetifikasyon	1850-1154	4390-2925	112-19	0,44-0,04

Tablo 7. Geleneksel yöntemle sirke üretiminin aşamalarına göre belirlenen fenolik madde içerikleri

	Gallik asit (ppm)	Kateşin (ppm)	Epikateşin (ppm)	Vanilik asit (ppm)	Kafeik asit (ppm)	p-kumarik asit (ppm)	Şirincik asit (ppm)
<b>Sultaniye</b>							
0.gün	0,02±0,01	2,52±0,16	2,04±0,5	3,26±0,08	0,27±0,12	-	0,86±0,06
2. gün	5,69±0,68	14,50±0,08	1,33±1	0,00	0,20±0,04	-	0,53±0,08
4. gün	4,72±1,34	7,95±1,86	1,38±0,16	0,01	2,91±1,87	0,36±0,12	0,85±0,055
6. gün	4,75±1,24	6,04±2,78	1,92±0,42	0,05±0,04	0,91±0,55	0,12±0,01	0,96±0,72
10. gün	4,18±2,75	5,06±0,68	3,59±2	0,12±0,07	0,37±0,18	0,09±0,04	0,50±0,03
15. gün	3,86±2,69	3,08±1,81	3,83±2,37	0,07±0,04	0,36±0,11	0,10±0,03	0,48±0,1
20. gün	4,21±3,14	2,35±1,37	3,64±2,03	0,06±0,04	0,43±0,2	0,11±0,05	0,52±0,1
25. gün	4,54±3,16	1,67±1,41	3,43±2,03	0,04±0,02	0,55±0,3	0,16	0,57±0,2
30. gün	5,05±3,19	1,11±0,11	1,62±0,6	0,04±0,02	0,78±0,22	0,16±0,01	0,51±0,1
40. gün	6,15±2,87	0,33±0,08	1,16±0,9	0,01	0,33±0,06	0,44±0,01	0,55±0,11
<b>Alicante</b>							
0.gün	0,04±0,01	23,24±1,03	0,05±0	1,47±0,02	0,61	-	1,84±0,04
2. gün	0,02±0	22,16±0,61	0,63±0	1,58±0,05	1,88	-	2,29±0,18
4. gün	0,59±0,16	2,88±0,11	6,20±0,7	0,05±0,01	1,15±0,03	-	0,70±0,56
6. gün	0,33±0,07	1,22±0,18	5,59±0,73	0,03	0,12±0,02	0,07±0,03	0,53±0,41
10. gün	0,09±0,08	0,18±0	9,38±1,51	nd	0,02	0,04±0,03	0,63±0,19
15. gün	0,12±0,09	0,03±0	8,11±0,23	nd	0,02	0,02±0,01	0,42±0,15
20. gün	0,11±0,1	-	7,62±0,75	nd	0,02	0,01	0,41±0,09
25. gün	0,14±0,06	-	6,26±0,74	nd	0,03	-	0,33±0,04
30. gün	0,08±0,01	-	5,42±2,07	nd	0,01	-	0,27±0,06
40. gün	0,07±0,01	-	5,51±1	nd	0,08	-	0,25±0,06

Tablo 8. Derin kültür yöntemi ile üretilen ticari sirkelerin üretim aşamalarına göre belirlenen fenolik madde içeriklerinin aralıkları

	Gallik asit (ppm)	Kateşin (ppm)	Epikateşin (ppm)	Vanilik asit (ppm)	Kafeik asit (ppm)	p-kumarik asit (ppm)	Şirincik asit (ppm)
<b>Sultaniye</b>							
Etanol fermantasyonu	6,91-0,36	23,17-0	5,56-0,52	3-0	1,94-0,01	0,34-0	0,93-0
Asetifikasyon	2,74-0,2	1,8-0	4,07-0,67	2,67-0	2,51-0,01	0,11-0	0,39-0
<b>Alicante</b>							
Etanol fermantasyonu	29,6-1,36	61,32-0,35	14,89-0,57	15,2-0	40,86-3,26	9,79-0,56	0,79-0,01
Asetifikasyon	4,77-1,2	4,04-0,39	12,99-0,41	0,15-0	14,04-1,05	4,32-0,45	0,1-0

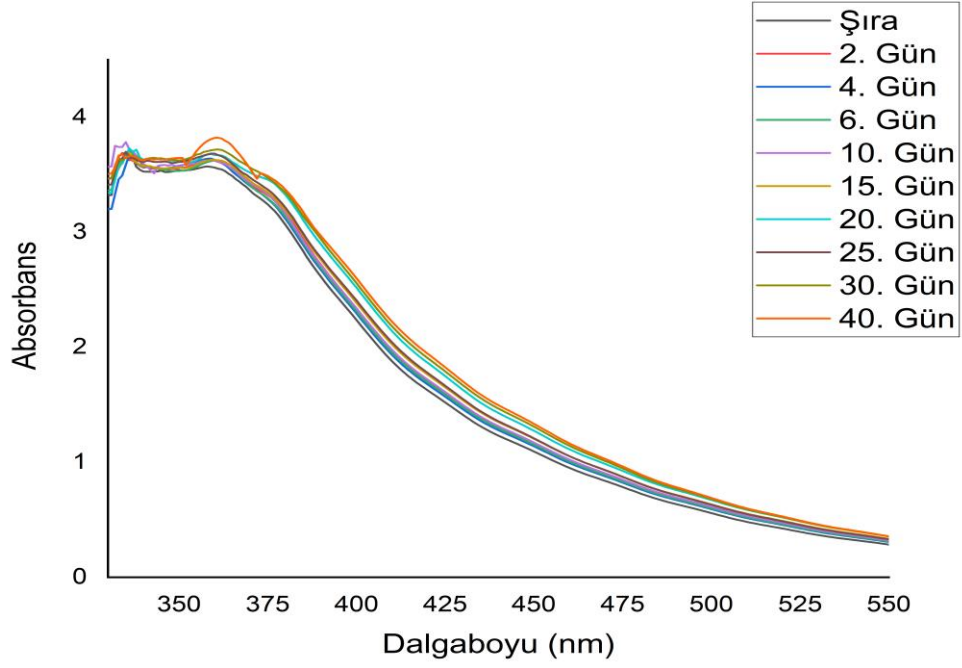


Şekil 1. Alicante Bouchet türü üzüm ile geleneksel sirke üretimi sırasında a) pH ve toplam asitlik; b) brix; c) toplam fenol ve toplam flavonoid içeriği; d) asetik asit ve etanol miktarı; e) glikoz ve fruktoz konsantrasyonlarında oluşan değişimler

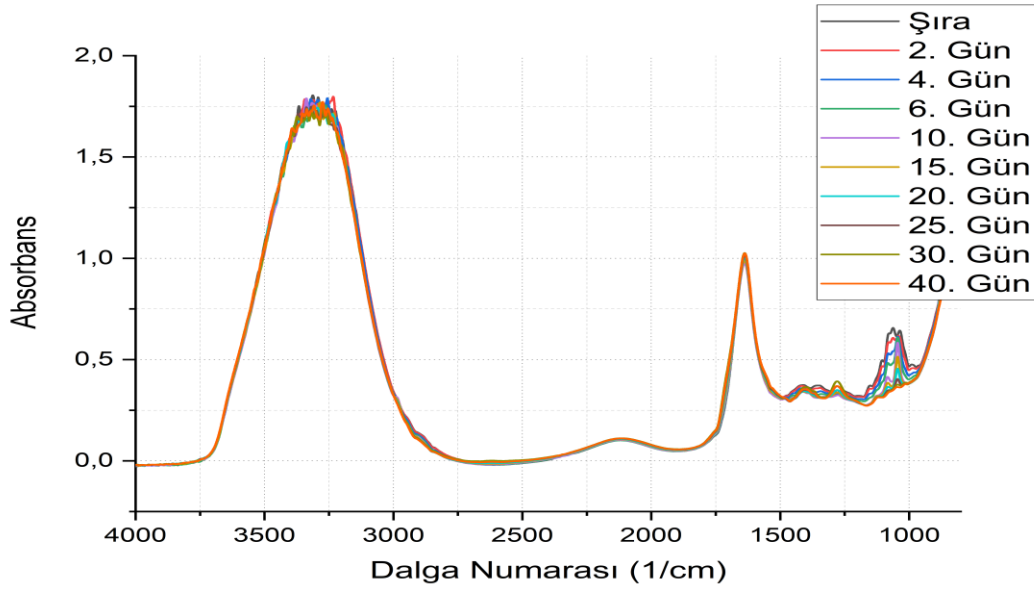


Hem geleneksel hem de ticari üretim sırasında elde edilen UV-Vis ve mid-IR spektra örnekleri Şekil 2-5'de görülebilir. UV-Vis spektra, ham madde içeriği ve işleme aşamasına bağlı olarak şekli belirlenen ve birbirinden çok iyi ayrılmayan iki tepe olarak 280-500 nm aralığında absorbans değerlerinde değişiklik göstermektedir (Şekil 2 ve 4). Bu tepeler sirkede bulunan fenolik maddeler ve organik asitler ile ilişkilendirilmektedir (Torecilla vd., 2016; Yalçın vd., 2021). İşleme tipi ve işleme aşamalarına göre mid-IR spektrası ise Şekil 3 ve 5'de sunulmuştur. Bu şekillerde görüleceği üzere tüm mid-IR spektrası boyunca tepelerin yer aldığı absorbans değerlerinde işleme aşamalarına bağlı olarak farklılıklar görülmekte ancak özellikle 1500-900  $\text{cm}^{-1}$  bölgesi daha da dikkat çekmektedir. Literatürde 3800-2790  $\text{cm}^{-1}$ 'de yer alan band suda bulunan –OH grubuna ve asetik asit için C-H gerinmesine atfedilmiştir. Ayrıca 1300-1000  $\text{cm}^{-1}$  organik asitlere ait C-O gerinmesi, 1100-1000  $\text{cm}^{-1}$  etanola ait C-O gerinmesi, 1065-1030  $\text{cm}^{-1}$  şekerlerin O-H ve –CH<sub>2</sub> gruplarına. 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$  aldehitlere ait C=O gerinmesi ve 1800-900  $\text{cm}^{-1}$  fenollerin –C-O ve –OH grupları ile ilişkilendirilmiştir (Rios-Reina vd., 2017a).

Elde edilen kimyasal ölçümler, iki üzüm tipi ve farklı üretim teknikleri kullanılması nedeniyle geniş aralıklara sahiptir. Bu da tahmin modellerinin oluşturulması için olumlu bir durum teşkil etmektedir. Tahmin modelleri, geleneksel ve derin kültür yöntemleri ile yapılan üretim sırasında elde edilen verilerin yanı sıra taşıyıcı için kullanılan saf sirkelerin verilerinin toplamı ile oluşturulmuştur. Toplam 169 örneğin 107'si model oluşturmak ve 62'si modellerin doğrulaması için kullanılmıştır. Doğrulama setinde kullanılan örneklerden hiçbiri model oluşturmada kullanılmamıştır. Ölçülen yirmi iki değişken için model oluşturulmaya çalışılmıştır. Değişik transformasyonlar ve model tipleri ile her bir değişken için 36 model (mid-IR, UV-Vis, mid-IR+UV-Vis) oluşturulmuştur ve bu modellerden R<sup>2</sup> ve RMSE değerlerine göre performansları en yüksek olanlar Tablo 9-12'de gösterilmiştir.

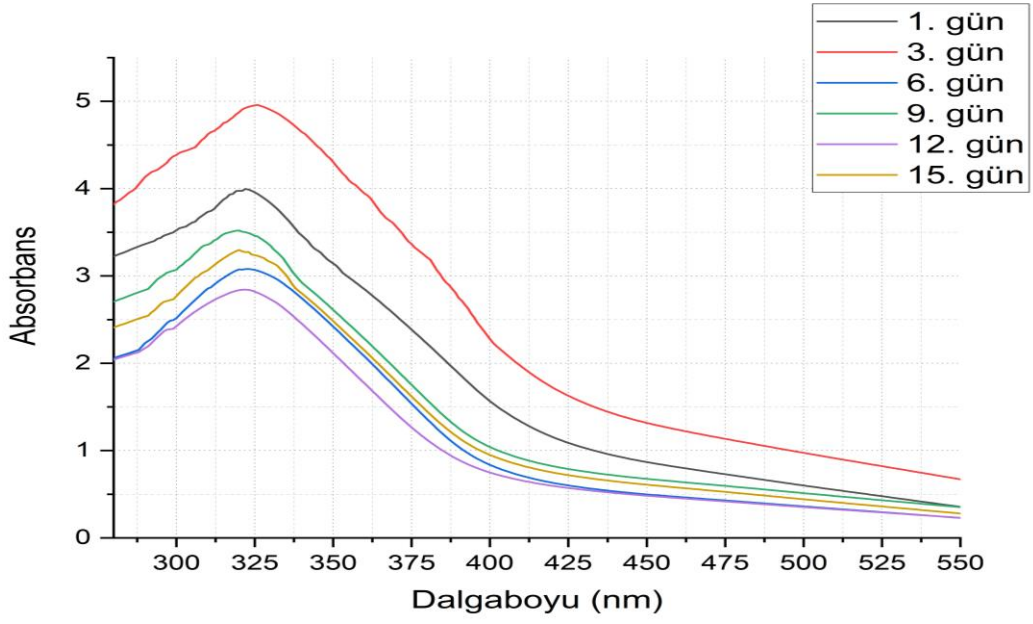


Şekil 2. Alicante Bouchet üzümlelerinden geleneksel yöntemle sirke üretimi sırasında toplanan UV-Vis spektrası

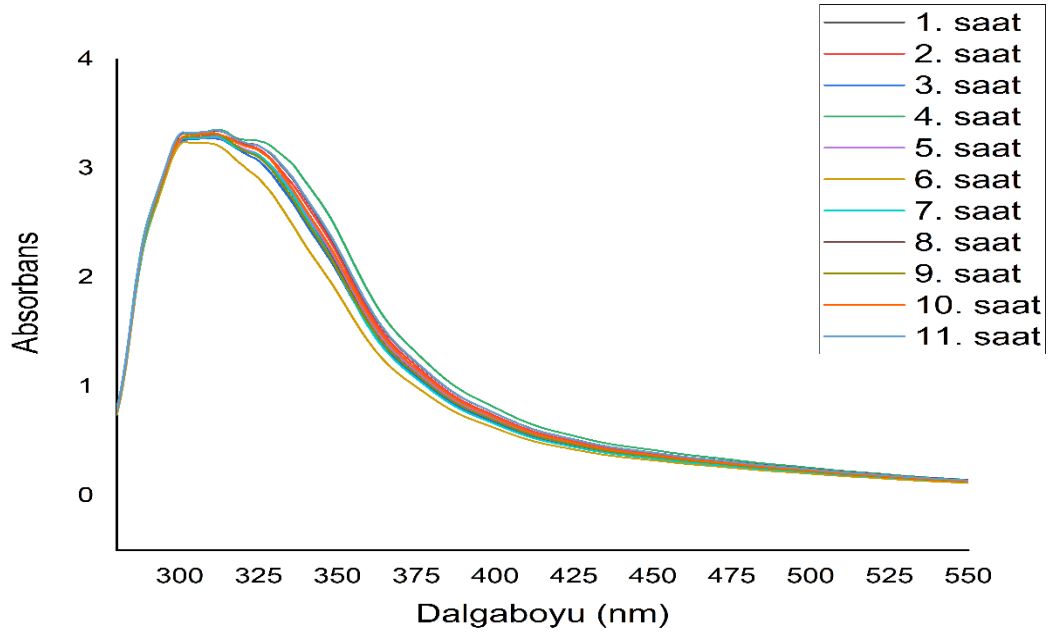


Şekil 3. Alicante Bouchet üzümlelerinden geleneksel yöntemle sirke üretimi sırasında toplanan mid-IR spektrası

a)

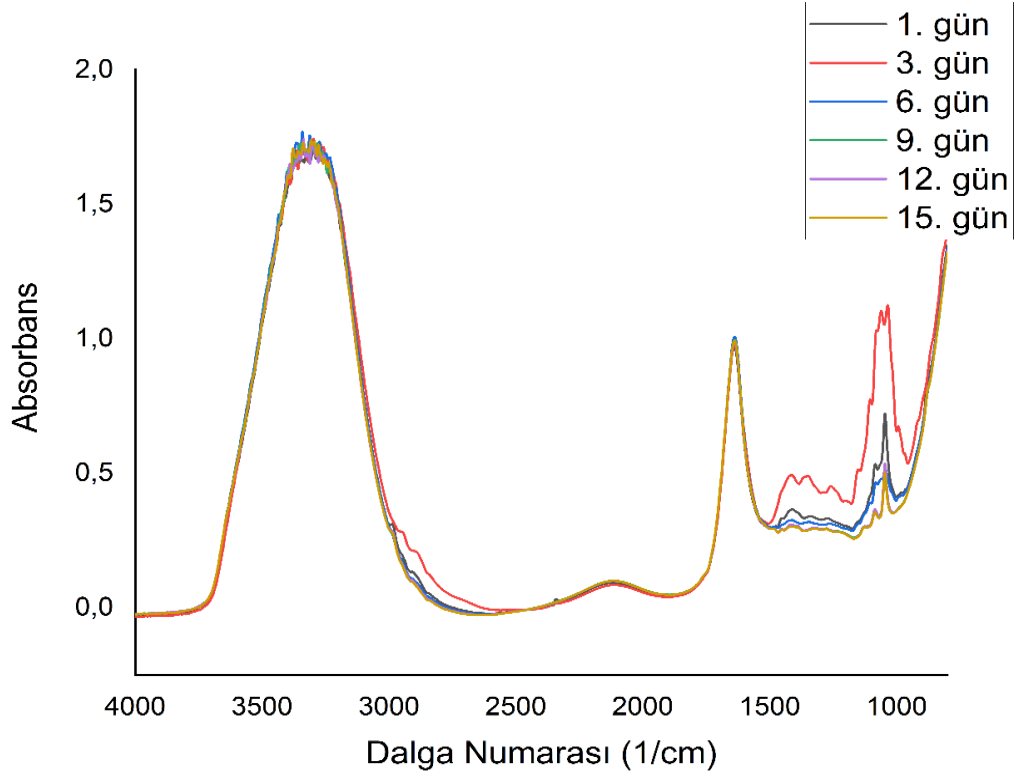


b)

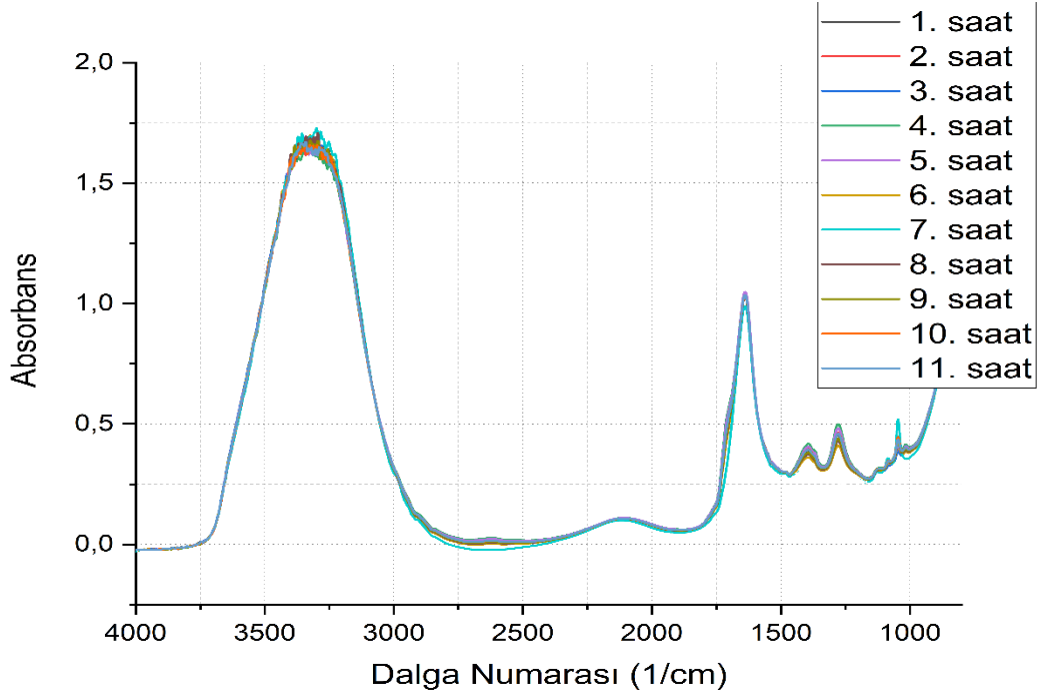


Şekil 4. Alicante Bouchet üzümlelerinden derin kültür yöntemi ile sirke üretimi sırasında toplanan UV-Vis spektrası a) etanol fermantasyonu b) asetik asit fermantasyonu

a)



b)



Şekil 5. Alicante Bouchet üzümlelerinden derin kültür yöntemi ile sirke üretimi sırasında toplanan mid-IR spektrisi a) etanol fermantasyonu b) asetik asit fermantasyonu

Brix ve toplam asitlik için mid-IR spektroskopik verileri ile  $R^2$  değerleri yüksek ve RMSE değerleri düşük, güvenilir PLS modelleri oluşturulmuştur (Tablo 9). UV-Vis spektroskopi ile ise bu değişkenler için performansları ortalama seviyede modeller elde edilebilmiştir. İki spektroskopik verinin birleştirilmesi mid-IR verileri ile elde edilen modellerde bir iyileştirmeye neden olmamıştır. Mid-IR spektroskopik verileri, pH belirlenmesi için iyi sayılabilecek  $R^2$  ve düşük RMSE değerlerine sahip bir model oluşturulmasını sağlamıştır. Ancak UV-Vis verileri ile herhangi iyi bir model elde edilememiştir. İki spektroskopik verinin beraber kullanımı da mid-IR modeline göre kayda değer bir iyileşmeye neden olmamıştır. TPC için iki spektroskopik veri ile de oluşturulan modeller oldukça başarılıdır. Diğer taraftan yine iki spektroskopik veri, TFC modellerinin oluşturulmasında başarı sağlamıştır. Ancak bu değişken için iki veri setinin birleştirilmesi, tek tek kullanılan spektroskopik modellere göre doğrulama setinin performansında iyileşmeye (daha yüksek  $R^2$  ve daha düşük RMSE değerleri) neden olmuştur.

Tablo 9. Sirkelerin pH, brix, toplam asitlik, toplam fenol ve toplam flavonoid içeriğinin spektroskopik verilerden tahmini için geliştirilen kemometrik modellerin performans parametreleri

Değişken	Model	LV	$R^2_{cal}$	$R^2_{val}$	RMSEC	RMSEP	Eğim
Brix							
Mid-IR	1.türev/PLS	3	0,98	0,95	0,66	1,85	0,91
UV-Vis	-/PLS	6	0,85	0,64	2,11	2,86	0,8
Mid-IR+UV-Vis	-/PLS	12	0,99	0,95	0,52	1,83	0,9
pH							
Mid-IR	SNV/OPLS	1+6+0	0,99	0,99	0,08	0,1	1
UV-Vis	-	-	-	-	-	-	-
Mid-IR+UV-Vis	SNV/OPLS	1+11+0	0,96	0,84	0,06	0,11	0,99
Toplam asitlik							
Mid-IR	1.türev/PLS	3	0,97	0,97	0,44	0,59	0,93
UV-Vis	1.türev/PLS	5	0,82	0,81	1,30	1,33	0,93
Mid-IR+UV-Vis	1.türev/PLS	3	0,98	0,97	0,44	0,59	0,93
Toplam fenol							
Mid-IR	MSC/PLS	7	0,98	0,96	78,26	122,88	1,03
UV-Vis	MSC/OPLS	1+5+0	0,98	0,97	83,51	92,75	0,95
Mid-IR+UV-Vis	2.türev/PLS	6	0,99	0,97	99,46	42,06	0,96
Toplam flavonoid							
Mid-IR	1.türev/PLS	5	0,97	0,9	41,3	65,33	1,14
UV-Vis	2.türev/PLS	3	0,94	0,86	49,92	63,56	0,97
Mid-IR+UV-Vis	2.türev/PLS	8	0,99	0,93	12,51	54,28	1,12

Tablo 10 sirke örneklerinin organik asit profilinin spektroskopik verilerden tahmini için oluşturulan kemometrik modellerin parametrelerini göstermektedir. Bu tabloya göre en iyi model asetik asit miktarının tahmini için mid-IR verileriyle oluşturulan PLS regresyon modelidir. Bu modelin  $R^2$  (0,99 ve 0,95) değerleri yüksek, RMSE değerleri düşük ve birbirine yakın, doğrulama grafiğinin eğimi de 1'e oldukça yakın bir değerdir. Asetik asit sirke de en yüksek miktarda bulunan organik asit olduğundan doğru bir şekilde tahmin edilmesi önemlidir. Bundan

ayrıca, mid-IR spektroskopik verileri ile sitrik asidin belirlenmesinde oluşturulan model de başarılı sayılabilir. Bu spektroskopik yöntemin verileri ile diğer organik asitler için oluşturulan kalibrasyon modelleri oldukça başarılı olmasına rağmen doğrulama modellerinin R<sup>2</sup> değerleri 0.7-0.81 olarak değişmekte olup ortalama bir başarıya sahiptirler. UV-Vis spektroskopik verileri ile en iyi model tartarik asit için oluşturulmuştur. Diğer organik asitler için oluşturulan kalibrasyon modellerinin R<sup>2</sup> değerleri 0.66-0.81 aralığında değişmekte olup doğrulama R<sup>2</sup> değerleri iyi bir model için yeterli değildir. Mid-IR ve UV-Vis verilerinin birlikte kullanılması tartarik asit modeli dışında diğer modellerde verilerin tek başına kullanılmasına göre iyileşmeye neden olmamıştır.

Tablo 10. Sirkelerin organik asit profilinin spektroskopik verilerden tahmini için geliştirilen kemometrik modellerin performans parametreleri

Değişken	Model	LV	R <sup>2</sup> cal	R <sup>2</sup> val	RMSEC	RMSEP	Eğim
Asetik asit							
Mid-IR	2.türev/PLS	4	0,99	0,95	0,24	0,58	0,98
UV-Vis	2.türev/PLS	3	0,76	0,73	1,50	1,45	0,85
Mid-IR+UV-Vis	2.türev/PLS	4	0,99	0,95	0,25	0,58	0,98
Laktik asit							
Mid-IR	2.türev/PLS	8	0,99	0,81	202,89	1907,76	1,02
UV-Vis	SNV/PLS	5	0,81	0,7	1863,51	2236,49	0,85
Mid-IR+UV-Vis	MSC/PLS	13	0,96	0,79	803,11	1837,4	0,79
Süksinik asit							
Mid-IR	2.türev/PLS	4	0,93	0,7	526,87	1102,16	0,83
UV-Vis	-/PLS	4	0,8	0,69	861,81	1086,88	0,72
Mid-IR+UV-Vis	2.türev/PLS	5	0,95	0,58	446,79	1475,28	0,93
Malik asit							
Mid-IR	-/PLS	8	0,9	0,7	408,34	622,72	1,11
UV-Vis	MSC/PLS	6	0,75	0,65	664,08	680,8	1,10
Mid-IR+UV-Vis	2.türev/PLS	4	0,94	0,74	323,65	507,06	1,00
Tartarik asit							
Mid-IR	1.türev/PLS	6	0,98	0,80	348,7	1337,98	0,85
UV-Vis	2.türev/PLS	5	0,89	0,79	929,45	1372,9	0,8
Mid-IR+UV-Vis	MSC/PLS	13	0,98	0,87	396,63	1123,83	0,96
Sitrik asit							
Mid-IR	MSC/OPLS	1+11+ 0	0,99	0,86	186,22	612,42	0,81
UV-Vis	SNV/PLS	6	0,8	0,66	621,2	842,78	0,82
Mid-IR+UV-Vis	SNV/PLS	11	0,96	0,85	292,46	541,72	0,89

Sirkinin işleme sürecinde elde edilen spektroskopik verilerle oluşturulan şeker ve etanole ait tahmin modellerinin istatistik parametreleri Tablo 11’de verilmiştir. Mid-IR spektroskopik verileri ile glikoz ve fruktoz için oldukça başarılı modeller elde edilmesine rağmen etanol ve sakkaroz modelleri ile iyi tahmin yapılabilecek modeller oluşturulamamıştır. UV-Vis spektroskopi verileri sirkinin şeker ve etanol içerik belirleme modellerinin hiçbirinde başarılı olamamıştır. Dolayısıyla iki spektroskopik verinin beraber kullanılmasından da olumlu bir sonuç alınamamıştır.

Tablo 11. Sirkelerin şeker ve etanol içeriklerinin spektroskopik verilerden tahmini için geliştirilen kemometrik modellerin performans parametreleri

Değişken	Model	LV	R <sup>2</sup> cal	R <sup>2</sup> val	RMSEC	RMSEP	Eğim
<b>Glikoz</b>							
Mid-IR	2.türev/PLS	5	0,99	0,96	2788,85	5171,78	0,9
UV-vis	-	-	-	-	-	-	-
Mid-IR+UV-vis	2.türev/PLS	3	0,98	0,97	4476,96	4452,77	0,93
<b>Fruktoz</b>							
Mid-IR	2.türev/PLS	3	0,99	0,97	3482,21	5389,13	0,89
UV-vis	MSC/PLS	1+13+0	0,63	0,30	22656,4	24383,9	0,37
Mid-IR+UV-vis	2.türev/PLS	5	0,99	0,97	1523,9	5306,64	0,9
<b>Etanol</b>							
Mid-IR	1.türev/PLS	6	0,98	0,69	0,28	1,24	0,71
UV-vis	SNV/PLS	1+11+0	0,43	0,41	1,49	1,71	0,41
Mid-IR+UV-vis	1.türev/PLS	8	0,99	0,69	0,13	1,24	0,68

Sirke oluşum aşamalarında belirlenen fenolik madde profili için oluşturulan spektroskopik model parametreleri Tablo 12’de sunulmuştur. Bu tabloya göre mid-IR spektroskopik verileri ile oluşturulan kalibrasyon modellerinin R<sup>2</sup> değerleri genel olarak 0,9 ve üstü değerler olmasına rağmen doğrulama modellerinin R<sup>2</sup> değerleri doğru bir tahminleme için düşüktür. Spektroskopik veriler tek başına kullanıldığında ve R<sup>2</sup> ve RMSE değerleri göz önüne alındığında en iyi modellerin UV-Vis verileriyle kafeik, gallik ve p-kumarik asit için oluşturulduğu görülmektedir. Ancak bu fenoller için oluşturulan doğrulama modellerinin performansları da ortalama seviyededir. Mid-IR ve UV-Vis spektroskopik verileri birleştirildiğinde ise kateşin, epikateşin, p-kumarik asit, kafeik asit ve şirincik asit modellerinde iyileşmeye neden olmuşlardır. Bunlar arasında da özellikle p-kumarik ve kafeik asitin oluşturulan modeller ile doğru bir şekilde tahmini yapılabilir.

Literatürde bulunan spektroskopik verilerden kimyasal ölçümlerin tahmin araştırmaları arasında mid-IR ile yapılan spektroskopik çalışmalar oldukça az sayıdadır. Değişik sirkelerin asitlik ve toplam fenol değerlerinin mid-IR verilerinin PARAFAC ve PLS analizi ile belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada bu projede olduğu gibi başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Moros vd., 2008; Kadiroglu, 2018). Vis spektroskopisi ise NIR ile beraber değişik çalışmalarda farklı sirkelerin çözünür katı madde, pH ve organik asit gibi kimyasal ölçümlerinin tahmininin yapılmasında yine başarılı bir şekilde kullanılmışlardır (Bao vd., 2014; Liu ve He, 2009). Literatürde sirkelerin fenolik madde profillerinin spektroskopik olarak belirlenmesini amaçlayan bir çalışmaya ise rastlanmamıştır. Bu çalışmada ise mid-IR spektroskopisi, brix, pH, toplam asitlik, TPC ve TFC içeriği, asetik asit, sitrik asit, fruktoz ve glikoz ve UV-Vis spektroskopisi ise TPC tahmininde başarılı olmuşlardır. İki spektroskopik tekniğin beraber kullanımı ise TFC, tartarik asit, kafeik asit ve p-kumarik asit belirlenmesinde modellerde iyileşmeyi sağlamıştır. Genel olarak mid-IR spektroskopisi verileri ile miktarları yüksek olan bileşikler başarılı bir şekilde belirlenebilmiştir. UV-Vis spektroskopinin tahminde en başarılı olduğu ölçümler TPC, TFC ve

bazı fenolik bileşiklerdir. Bu spektroskopi tekniğinin görünür bölge kısmında absorpsiyonun renkle bağlantılı olduğu düşünüldüğünde bu sonuçlar şaşırtıcı değildir.

Tablo 12. Sirke fenolik madde profilinin spektroskopik verilerden tahmini için geliştirilen kemometrik modellerin performans parametreleri

Değişken	Model	LV	R <sup>2</sup> cal	R <sup>2</sup> val	RMSEC	RMSEP	Eğim
Gallik asit							
Mid-IR	2.türev/PLS	4	0,95	0,7	0,86	1,82	0,75
UV-Vis	2.türev/OPLS	1+6+0	0,94	0,79	0,98	1,48	0,78
Mid-IR+UV-Vis	2.türev/PLS	1+2+0	0,95	0,79	0,86	1,52	0,78
Kateşin							
Mid-IR	3.türev/PLS	7	0,99	0,68	0,17	3,99	0,72
UV-Vis	MSC/PLS	6	0,77	0,53	2,63	4,92	0,42
Mid-IR+UV-Vis	3.türev/PLS	8	0,99	0,72	0,12	3,77	0,64
Epikateşin							
Mid-IR	MSC/PLS	6	0,82	0,72	2,20	2,96	0,81
UV-Vis	MSC/PLS	6	0,77	0,53	2,63	4,92	0,42
Mid-IR+UV-Vis	3.türev/PLS	8	0,99	0,72	0,12	3,77	0,64
Vanilik asit							
Mid-IR	2.türev/PLS	4	0,9	0,51	0,7	1,11	0,75
UV-Vis	-	-	-	-	-	-	-
Mid-IR+UV-Vis	-	-	-	-	-	-	-
p-kumarik asit							
Mid-IR	3.türev/PLS	3	0,93	0,58	0,44	1,21	0,58
UV-Vis	2.türev/PLS	5	0,95	0,78	0,37	2,05	1,46
Mid-IR+UV-Vis	-/PLS	14	0,99	0,92	0,11	0,69	0,9
Kafeik asit							
Mid-IR	2.türev/PLS	4	0,92	0,71	1,83	3,55	0,93
UV-Vis	SNV/OPLS	1+16+0	0,98	0,81	0,85	3,2	1,09
Mid-IR+UV-Vis	SNV/PLS	7	0,99	0,87	0,75	2,95	1,2
Şirincik asit							
Mid-IR	1.türev/PLS	6	0,96	0,6	0,12	0,43	0,76
UV-Vis	MSC/PLS	2	0,53	0,43	0,47	0,45	0,43
Mid-IR+UV-Vis	2.türev/PLS	5	0,98	0,75	0,1	0,33	0,74

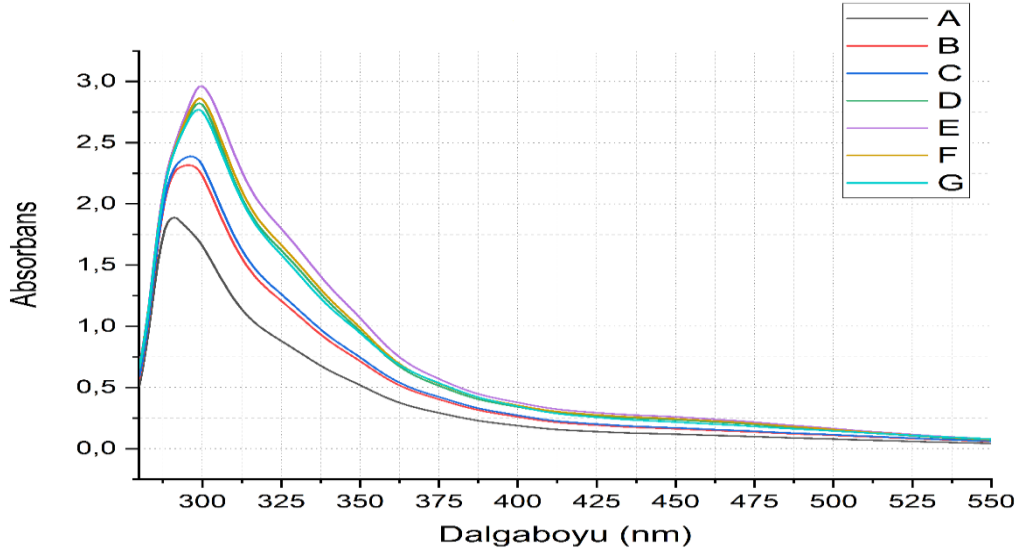
## 4.2 Sirkede Tağşişin Spektroskopik Olarak Belirlenmesi

Tağşiş çalışmalarında toplam 26 ticari ve geleneksel sirke kullanılmıştır. Bu sirkelerden rastlantısal olarak seçilen 11 adet sirke %1-50 (h/h) aralığında ayrı ayrı etanol sirkesi (beyaz sirke) ve %4 seviyesine seyreltilmiş asetik asit ile karıştırılmıştır. Bütün sirke ve sirke karışımlarının mid-IR ve UV-Vis spektrası elde edilmiş ve spektra kemometrik yöntemlerle analiz edilmiştir. Tağşişli örnek veri seti ayrı ayrı iki tağşiş maddesi ile karıştırılmış örnekleri içermektedir. Herhangi bir kontrol laboratuvarında analiz edilecek olan örneğin niteliğinin bilinemeyeceği düşünülerek modeller bu iki tür karışımı da içerecek şekilde oluşturulmuştur.

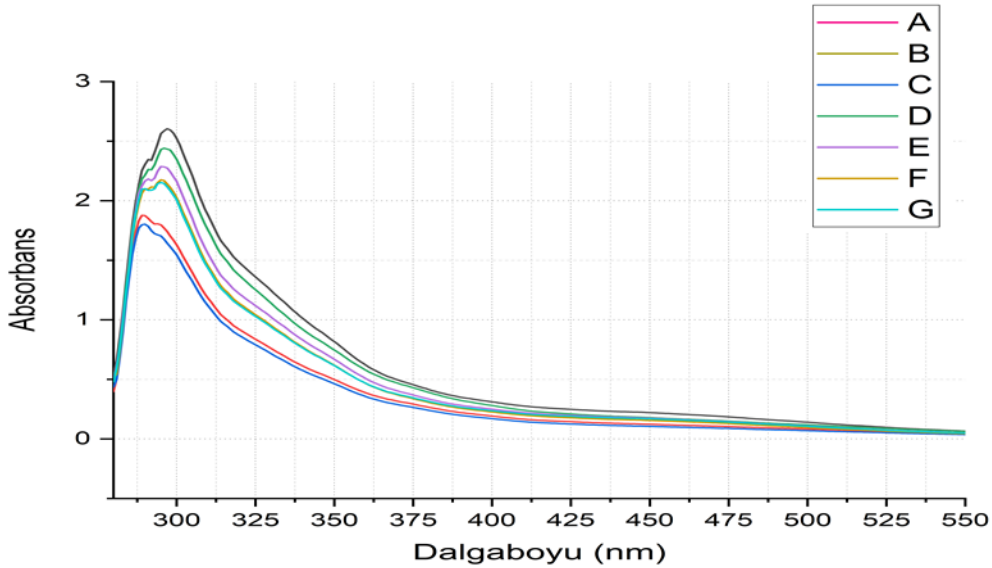
Üzüm sirkeleri ve beyaz sirke ve asetik asit ile karıştırılmış sirkelerin UV-Vis spektrası Şekil 6 ve 7'de verilmiştir. Her iki durum için de spektra benzerlik göstermekte ve üzüm sirkesinin spektrası literatürde yer alan UV-Vis spektrası ile de uyuşmaktadır (Torecilla vd., 2016; Yalçın vd., 2021). Spekradan görüleceği üzere en yüksek absorbans değerlerine 280-



300 nm bölgesinde ulaşılmıştır. Bölüm 4.1’de de açıklandığı şekilde UV-Vis spektrasının bu bölgesi fenolik maddeler ve organik asitler ile ilişkilendirilmektedir (Torecilla vd., 2016; Yalçın vd., 2021). Bu bölgede bulunan iki tepenin absorbanans değerleri tağışışın yüzdesine bağılı olarak değıışim göstermektedir. Ayrıca yine tağışışe bağılı olarak tepeler daha yüksek dalga boyuna yer değııştirmektedirler. Benzer duruma literatürde yer alan sirkeye karamel eklenmesi ile ilgili başka bir çalışmada da rastlanmıştır (Rios-Reina vd., 2020a).

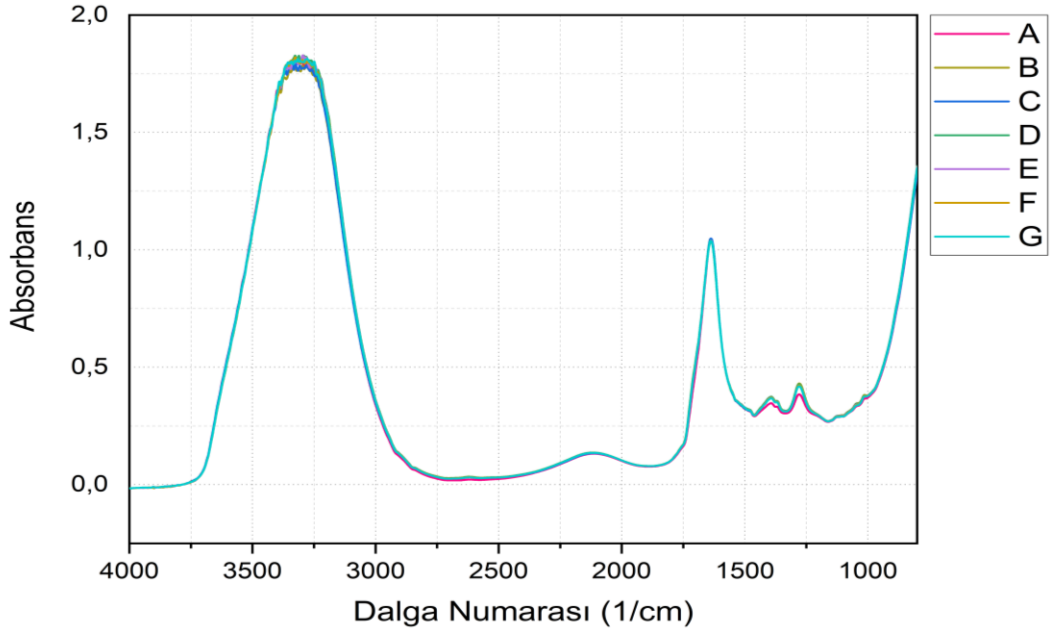


Şekil 6. Beyaz sirke ile karıştırlmış ve karıştırlanmamış örnek sirke UV-Vis spektrası (A: saf sirke; B: %5; C: %10; D: %20; E: %30; F: %40; G: %50)

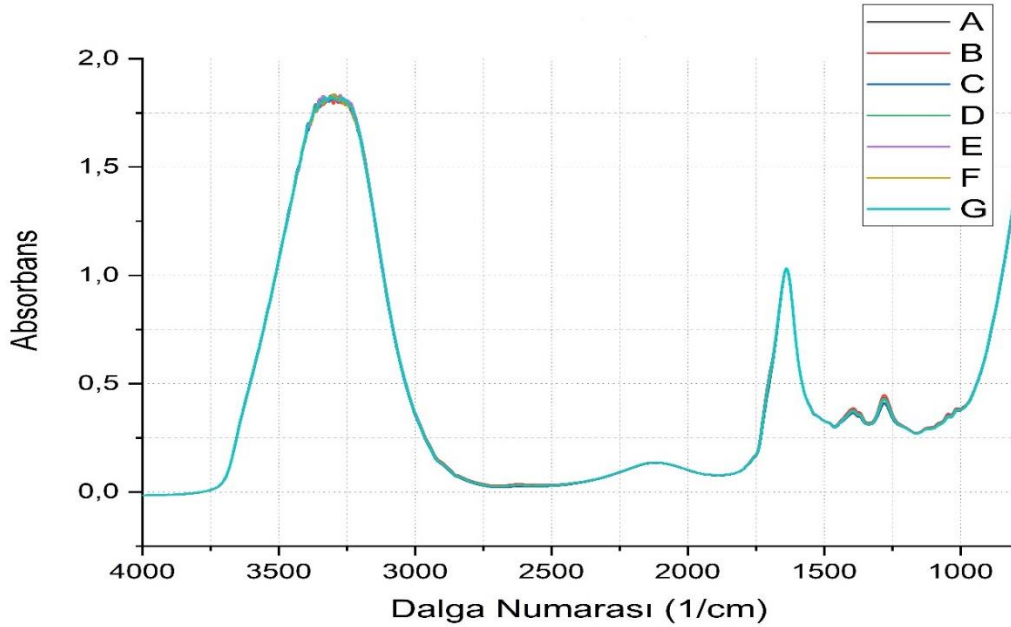


Şekil 7. Seyreltilmiş asetik asit ile karıştırlmış ve karıştırlanmamış örnek sirke UV-Vis spektrası (A: saf sirke; B: %5; C: %10; D: %20; E: %30; F: %40; G: %50)

Sirke örneklerine beyaz sirke ve asetik asit eklenmesinin mid-IR spektrası üzerine etkileri Şekil 8 ve 9'da gösterilmiştir. Beyaz sirke ve asetik asit eklenmesi sirke spektrasında benzer bölgelerde değişimlere neden olmuştur. Bu bölgelerin ne tür kimyasal yapılarla ilişkilendirildiği Bölüm 4.1'de açıklanmıştır.



Şekil 8. Beyaz sirke ile karıştırılmış ve karıştırılmamış örnek sirke mid-IR spektrası (A: saf sirke; B: %5; C: %10; D: %20; E: %30; F: %40; G: %50)



Şekil 9. Seyreltilmiş asetik asit ile karıştırılmış ve karıştırılmamış örnek sirke mid-IR spektrası (A: saf sirke; B: %5; C: %10; D: %20; E: %30; F: %40; G: %50)

İki farklı spektroskopik yöntem ile elde edilen veriler öncelikle 1. derece ve 2. derece türev, SNV, MSC, WCTS ve WDTS yöntemleri ile transformasyona tabi tutulmuşlardır.

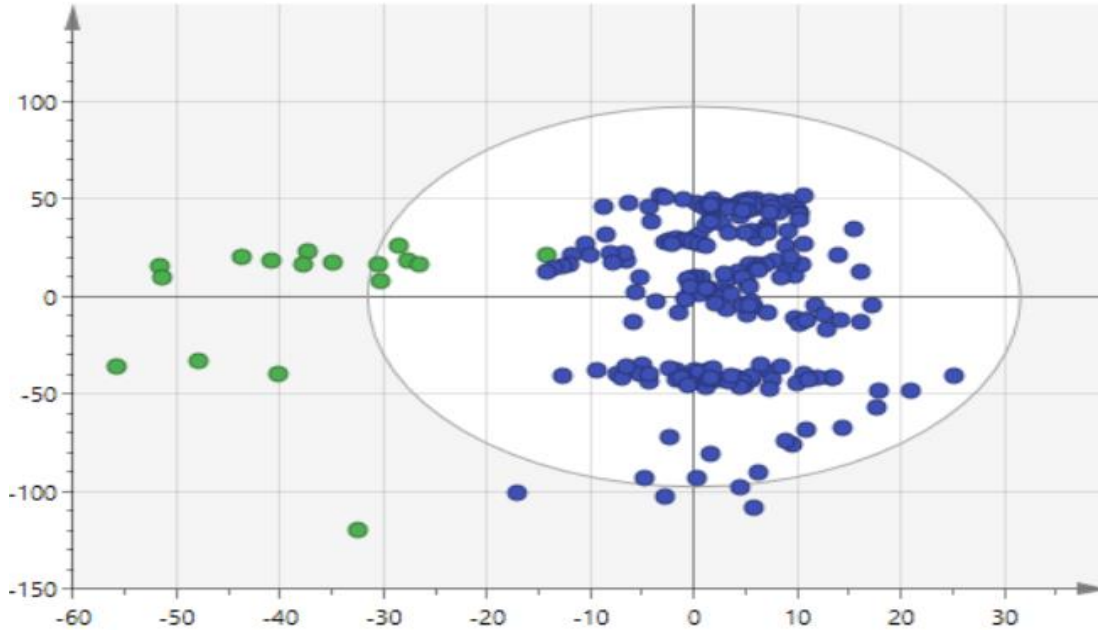
Modeller 227 örnek ile oluşturulmuş ve 114 örnek ile de doğrulanmıştır. Doğrulama örnekleri model oluşturmada kullanılmamıştır.

İlk olarak tek başına UV-Vis spektroskopik verileri ile sınıflandırma ve tahmin modelleri oluşturulmaya çalışılmıştır. Ancak değişik transformasyon ve kemometrik model kombinasyonlarının hiçbiri ile doğru ayırım yapılabilen ve güçlü modeller oluşturulamamıştır.

Mid-IR spektroskopik verileri de yine değişik veri transformasyonu ve kemometrik yöntem kombinasyonları ile sınıflandırma ve tahmin modelleri oluşturulmasında kullanılmıştır. Oluşturulan modellerin istatistiksel parametreleri Tablo 13’de verilmiştir. Bu tabloya göre en iyi sınıflandırma WDTS transformasyonu ile oluşturulan PLS-DA modeli (LV = 8;  $R^2_{cal} = 0,69$ ;  $R^2_{val} = 0,41$ ) ile elde edilmiştir. Bu modele ait skor grafiği Şekil 10’da sunulmuştur. Bu grafiğe göre bir örnek dışında beyaz sirke ve asetik asit karıştırılmış ve karıştırılmamış örnekler arasında iyi bir ayırım sağlandığı görülmektedir. Bu model için hem kalibrasyon hem de doğrulama seti ile doğru sınıflandırma tablosu oluşturulmuştur (Tablo 14). Bu tabloya göre kalibrasyon setinde tağşişli olmayan bir örneğin tağşişli olarak sınıflandırılması nedeni ile %99,56 oranında bir başarı elde edilmiştir. Doğrulama setinde ise bu başarı oranı %93,56 olarak belirlenmiştir. Yine aynı veri seti ile bu defa karıştırma oranının belirlenmesi amacı ile tahminleme modelleri oluşturulmaya çalışılmıştır. En iyi tahminleme modeli WCTS transformasyonu kullanılarak oluşturulan PLS modeli ile elde edilmiştir (LV = 8;  $R^2_{cal} = 0,82$ ). Ancak bu model ile kalibrasyon setinde dahi ortalama bir başarı elde edilebilmiştir. Doğrulama seti ile ise başarı elde edilememiştir ve bu nedenle sonuçlar burada paylaşılmamıştır. Tağşiş oranını belirlemede çok iyi sonuçlar alınamamasının nedenleri; veri setinde iki farklı tağşiş maddesinin bulunması, sirkelerin farklı ham maddeler (üzüm türleri) ve farklı işleme yöntemleri ile işlenmiş olmalarından dolayı çok fazla değişkene sahip olmaları olarak gösterilebilir.

Tablo 13. Tağşiş ile ilgili mid-IR spektroskopik verilerin değişik kemometrik yöntemler ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen istatistiksel modeller

Model	Transformasyon	LV	$R^2_{cal}$	$R^2_{val}$
PLS-DA	-	8	0,64	0,35
OPLS-DA	-	1+6+0	0,51	0,29
PLS-DA	1.türev	7	0,80	0,30
OPLS-DA	1.türev	1+4+0	0,64	0,10
PLS-DA	2.türev	6	0,90	0,22
OPLS-DA	2.türev	1+2+0	0,70	0,17
PLS-DA	MSC	6	0,43	0,25
OPLS-DA	MSC	1+3+0	0,19	0,12
PLS-DA	SNV	6	0,44	0,21
OPLS-DA	SNV	1+1+0	0,15	0,12
PLS-DA	WDTS	8	0,69	0,41
OPLS-DA	WDTS	1+7+0	0,69	0,36
PLS-DA	OSC	7	0,57	0,31
OPLS-DA	OSC	1+6+0	0,57	0,28



Şekil 10. Mid-IR spektroskopik verilerin WDTS transformasyonu ile oluşturulan PLS-DA modelinin LV1'a karşı LV2 skor grafiği (mavi: tağşişli sirke; yeşil: saf sirke)

Tablo 14. Tağşiş ile ilgili mid-IR spektroskopik verilerinin PLS-DA modeli ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen doğru sınıflandırma tablosu

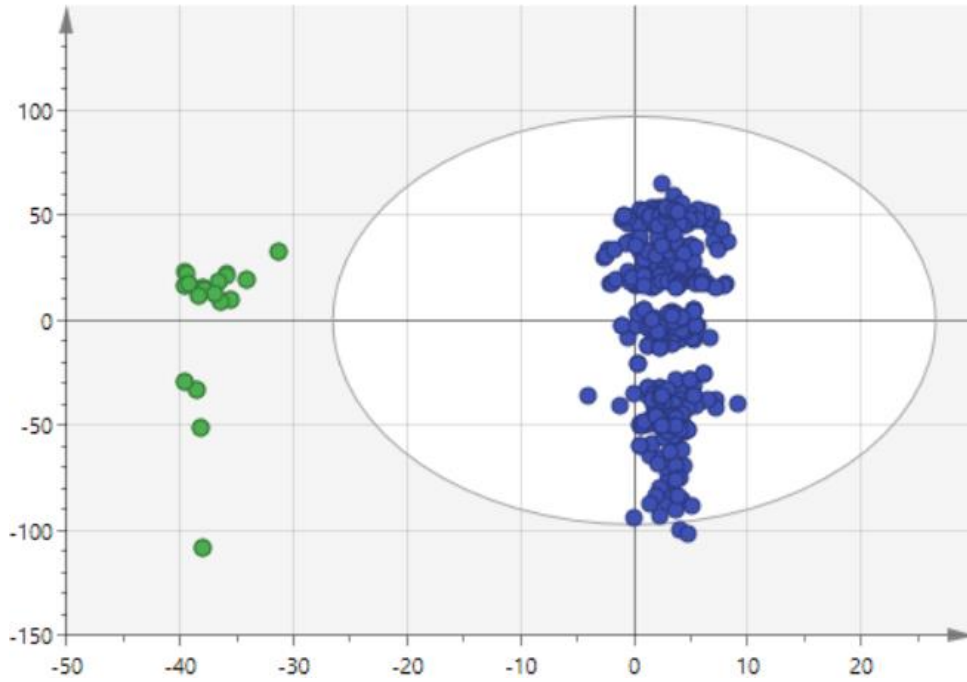
	Örnek sayısı	Doğruluk oranı (%)	Saf sirke	Tağşişli
<b>Kalibrasyon</b>				
Saf sirke	17	94,12	16	1
Tağşişli	210	100	0	210
Toplam	227	99,56	16	211
<b>Doğrulama</b>				
Saf sirke	9	44,44	4	5
Tağşişli	105	98,1	2	103
Toplam	114	93,86	6	108

Sınıflandırma ve tahminleme modellerinin daha da iyileştirilebilmesi amacıyla UV-Vis ve mid-IR spektroskopik verileri birleştirilerek de modeller oluşturulmuştur. Bu modellere ait istatistikler Tablo 15'de paylaşılmıştır. Bu tabloya göre en iyi sınıflandırma modelleri, verilerin WDTS transformasyonu ile oluşturulan OPLS-DA modeli (LV: 1+ 17 + 0;  $R^2_{cal} = 0,97$ ;  $R^2_{val} = 0,9$ ) ile elde edilmiştir. Bu model için oluşturulan skor grafiği Şekil 11'de gösterilmiştir. Bu grafiğe göre tağşişli ve tağşişli olmayan örnekler arasında çok iyi bir ayırım gözlenmektedir. Tek başına mid-IR verilerinin kullanılmasına göre verilerin birleştirilmesi ile elde edilen skor grafiğinde aynı sınıftaki örneklerin birbirleri arasında daha iyi kümelenmeleri görülmektedir. Oluşturulan sınıflandırma tabloları da skor grafiğini doğrular niteliktedir (Tablo 16). Bu tabloya göre verilerin birlikte kullanılması sonucu kalibrasyon seti ile sınıflandırmada %100 ve doğrulama setinde ise %96,49 bir başarı elde edilmiştir. Doğrulama seti, tağşiş tespiti için oluşturulan kemometrik modelin dışarıdan bir örnek modele dahil edildiğinde modelin

başarısını test etmek için kullanılan örneklerden oluşmaktadır. Doğrulama setinde kullanılan örnekler hem saf hem de tağşişli sirkeleri içermekte olup model oluşturulmasında kullanılmadığından %96,49 başarı oranı herhangi bir üzüm sirkesinin (modele dahil olmayan) tağşiş içerip içermediğinin belirlenme yüzdesini işaret etmektedir. Bu da iki veri setinin bir arada kullanılmasının sınıflandırmada başarı oranını artırdığını göstermektedir. Aynı veri seti tağşiş oranını tahmin modelleri oluşturulmasında da kullanılmıştır ve en iyi model WCTS transformasyonu kullanılarak elde edilen PLS modelidir (LV = 10;  $R^2_{cal} = 0,88$ ). Ancak bu modelde tek başına mid-IR verisi kullanımına göre önemli bir iyileşme sağlanamamıştır ve doğrulama seti modeli oldukça düşük  $R^2$  değerine sahip olduğu için iki veri setinin beraber kullanımında dahi doğru ve sağlam bir sonuç verebilen bir tahmin modeli oluşturulamadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Tablo 15. Tağşiş ile ilgili mid-IR ve UV-Vis spektroskopik verilerinin birlikte değişik kemometrik yöntemler ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen istatistiksel modeller

Model	Transformasyon	LV	$R^2_{cal}$	$R^2_{val}$
PLS-DA	-	9	0,67	0,40
OPLS-DA	-	1+8+0	0,67	0,29
PLS-DA	1.türev	8	0,84	0,41
OPLS-DA	1.türev	1+4+0	0,62	0,12
PLS-DA	2.türev	6	0,91	0,31
OPLS-DA	2.türev	1+3+0	0,78	0,22
PLS-DA	MSC	13	0,73	0,16
OPLS-DA	MSC	1+6+0	0,30	0,09
PLS-DA	SNV	13	0,73	0,06
OPLS-DA	SNV	1+11+0	0,67	0,04
PLS-DA	1.türev + MSC	5	0,45	0,26
OPLS-DA	1.türev + MSC	1+6+0	0,64	0,07
OPLS-DA	WDTS	1+17+0	0,97	0,90
PLS-DA	WDTS	12	0,87	0,50



Şekil 11. UV-Vis + mid-IR spektroskopik verilerin WDTs transformasyonu ile oluşturulan OPLS-DA modelinin LV1'a karşı LV2 skor grafiği (mavi: tağşişli sirke; yeşil: saf sirke)

Tablo 16. Tağşiş ile ilgili Mid-IR ve UV-Vis spektroskopik verilerinin birlikte PLS-DA modeli ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen doğru sınıflandırma tablosu

	Örnek sayısı	Doğruluk oranı (%)	Saf sirke	Tağşişli
<b>Kalibrasyon</b>				
Saf sirke	17	100	17	0
Tağşişli	210	100	0	210
Toplam	227	100	17	210
<b>Doğrulama</b>				
Saf sirke	9	66,67	6	3
Tağşişli	105	99,05	1	104
Toplam	114	96,49	7	107

Literatürde değişik sirkelere asetik asit karıştırılması yoluyla yapılan tağşişi belirleme çalışmaları beyaz sirke ile tağşişe göre daha çok sayıdadır. Ticari Japon sirkelerine asetik asit eklenmesinin belirlenmesinde bu asitte bulunan metil ve karboksil gruplarının HS-SPME ile bağlantılı GC-Py-GC-C-IRMS ile belirlenen  $\delta^{13}\text{C}$  değerleri kullanılmış ve düşük seviyede asetik asit eklenmesinin belirlenmesinin mümkün olabileceği bildirilmiştir (Hattori vd., 2011). Diğer bir çalışmada ise pirinç sirkesine eklenen asetik asit ve beyaz sirkeden belirlenmesi için SNIF-NMR tekniğinden faydalanılmış, deuterium/H oranının asetik asit belirlenmesi için kullanılacağı sonucuna ulaşılmıştır (Hsieh vd., 2013). Başka bir çalışmada ise balzamik sirke içerisine eklenen asetik asidin tespiti üzerine çalışılmıştır ve bu çalışmada doğrulaması 1H-NMR spektroskopisi ile yapılan GC-IRMS analizi ile çeşitli izotopların ölçülmesi ile oluşturulan çok adımlı bir yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir (Werner ve Rossmann, 2015).

Yine başka bir araştırmada GC-Py-GC-C-IRMS tekniği yoluyla elde edilen izotopik oranların bu defa beyaz sirkenin asetik asitle karıştırılmasını belirlemede iyi sonuçlar verdiğini gösterilmiştir (Hattori vd., 2011). Literatürdeki bu yöntemlere göre mid-IR ve UV-Vis kombinasyonunun daha kolay ve daha çabuk sonuç verebilecek teknikler olduğu düşünülmektedir.

## 5. SONUÇLAR

Bu çalışmanın ilk bölümünde iki tip üzümde geleneksel ve derin kültür sirke üretimi sırasında kalite, kimyasal ve spektroskopik ölçümler yapılmış ve kalite ile kimyasal parametreler spektroskopik verilerden kemometrik yöntemler yardımıyla tespit edilmeye çalışılmıştır. Mid-IR spektroskopik verileri ile brix, pH, toplam asitlik, TPC ve TFC içeriği, asetik asit, sitrik asit, glikoz ve fruktoz ve UV-Vis spektroskopik verileri ile ise TPC için başarılı tahmin modelleri oluşturulmuştur. İki spektroskopik tekniğin beraber kullanımı ise TFC, tartarik asit, kafeik asit ve p-kumarik asit belirlenmesinde, modellerin tek bir spektroskopik veri ile oluşturulmasına göre iyileşme sağlamıştır. Dolayısıyla mid-IR spektroskopinin veya mid-IR ve UV-vis tekniğinin beraber kullanımının sirkenin kalite ve kimyasal parametrelerini tahminleme için daha uygun olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

İkinci kısımda ise üzüm sirkesinin, beyaz sirke ve asetik asit ile taşımasının belirlenmesi için mid-IR ve UV-Vis spektroskopik verileri çeşitli kemometrik yöntemlerle değerlendirilmiştir. Sadece mid-IR spektroskopik verilerinin WDTS transformasyonundan sonra PLS-DA ile analizi sonucu %93,86 doğru sınıflandırma sağlayan bir model elde edilmiştir. Mid-IR ve UV-Vis verilerinin beraber kullanılmasıyla oluşturulan WDTS/PLS-DA modeli ile ise %96,49 oranında doğru sınıflandırmayı mümkün kılmıştır. Bu oranlar doğrulama setine ait başarı oranları olup oluşturulan kemometrik modellerin herhangi bir üzüm sirkesinin (modele dahil olmayan) taşıması olup olmadığını belirleyebilme yüzdesini gösterir.

Üzüm sirkesinin üretiminin takibi sırasında önemli kalite ve kimyasal parametrelerinin eş zamanlı ve çabuk olarak belirlenmesinde mid-IR spektroskopisi etkili bir analiz tekniği olarak öne çıkmaktadır. Üzüm sirkesinin beyaz sirke ve asetik asit ile taşımasının belirlenmesinde ise mid-IR ve UV-vis tekniklerinin beraber kullanılması karıştırılmanın yüksek oranlarda doğru olarak tespit edilmesini sağlamaktadır.

## KAYNAKLAR

- Adams, M. R., Hall, C. J. 1988. "Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures", *International Journal of Food Science and Technology*, 23, 287–92.
- Andlauer, W., Stumpf, C., Furst, P. 2000. "Influence of the acetification process on phenolic compounds", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3533–36.

- Arvaniti, O. S., Mitsonis, P., Siorokos, I., Dermishaj, E., Samaras, Y. 2019. "The Physicochemical properties and antioxidant capacities of commercial and homemade Greek vinegars". *Acta Scientiarum Polonorum-Technologia Alimentaria*, 18, 225–34.
- Bakir, S., Devecioglu, D., Kayacan, S., Toydemir, G., Karbancioglu-Guler, F., Capanoglu, E. 2017. "Investigating the antioxidant and antimicrobial activities of different vinegars", *European Food Research and Technology*, 243, 2083–94.
- Bao, Y., Liu, F., Kong, W., Sun, D. W., He, Y., Qiu, Z. 2014. "Measurement of soluble solid contents and pH of white vinegars using VIS/NIR spectroscopy and least squares support vector machine", *Food and Bioprocess Technology*, 7, 54-61.
- Bertelli, D., Maietti, A., Papotti, G., Tedeschi, P., Bonetti, G., Graziosi, R., Brandolini, V., Plessi, M. 2015. "Antioxidant activity, phenolic compounds, and NMR characterization of balsamic and traditional balsamic vinegar of Modena", *Food Analytical Method*, 8, 371–79.
- Budak, H. N., 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, 2021–26.
- Callejon, R. M., Morales, M. L., Ferreira, A. C. S., Troncoso, A. M. 2008. "Defining the typical aroma of sherry vinegar: sensory and chemical approach", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 8086-8095.
- Camin, F., Bontempo, L., Perini, M., Tonon, A., Breas, O., Guillou, C., Moreno-Rojas, J. M., Gagliano, G. 2013. "Control of wine vinegar authenticity through delta O-18 analysis", *Food Control*, 29, 107–11.
- Castellari, M., Versari, A., Spinabelli, U., Galassi, S., Amati, A. 2000. "An improved HPLC method for the analysis of organic acids, carbohydrates, and alcohols in grape musts and wines", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 23, 2047-2056.
- Cerezo, A. B., Cuevas, E., Winterhalter, P., Garcia-Parrilla, M. C., Troncoso, A. M. 2010. "Anthocyanin composition in Cabernet Sauvignon red wine vinegar obtained by submerged acetification", *Food Research International*, 43, 1577–84.
- Chen, Q., Ding, J., Cai, J., Zhao, J. 2012. "Rapid measurement of total acid content (TAC) in vinegar using near infrared spectroscopy based on efficient variables selection algorithm and nonlinear regression tools", *Food Chemistry*, 135, 590-595.
- Chen, H., Wang, S., Fu, H., Chen, F., Zhang, L., Lan, W., Yang, J., Yang, X., She, Y. 2020. "A colorimetric sensor array for recognition of 32 Chinese traditional cereal vinegars based on ``turn-off/on fluorescence of acid-sensitive quantum dots", *Spectrochimica Acta A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 227, 117683.
- Cirlini, M., Caligiani, A., Palla, L., Palla, G. 2011. "HS-SPME/GC–MS and chemometrics for the classification of Balsamic Vinegars of Modena of different maturation and ageing", *Food Chemistry*, 124, 1678-1683.
- Codex Alimentarius Commission 1987. *Draft European Regional Standard for Vinegar. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Food Additives and Contaminants Thirty-first*.
- Consonni, R., Cagliani, L. R., Benevelli, F., Spraul, M., Humpfer, E., Stocchero, M. 2008. "NMR and chemometric methods: a powerful combination for characterization of balsamic and traditional balsamic vinegar of Modena", *Analytica Chimica Acta*, 611, 31–40.
- Cirlini, M., Caligiani, A., Palla, L., Palla, G. 2011. "HS-SPME/GC-MS and chemometrics for the classification of balsamic vinegars of Modena of different maturation and ageing", *Food Chemistry*, 124, 1678–83.
- Garcia-Parrilla, M. C., Gonzalez, G. A., Heredia, F. J., Troncoso, A. M. 1997. "Differentiation



of wine vinegars based on phenolic composition”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3487–92.

Góamez, M. L. M., Bellido, B. B., Tesfaye, W., Fernandez, R. M. C., Valencia, D., Fernandez-Pachón, M. S., González, A. M. T. 2006. "Sensory evaluation of sherry vinegar: Traditional compared to accelerated aging with oak chips", *Journal of Food Science*, 71, S238-S242.

González-Sáiz, J. M., Esteban-Díez, I., Rodríguez-Tecedor, S., Pizarro, C. 2008. "Valorization of onion waste and by-products: MCR-ALS applied to reveal the compositional profiles of alcoholic fermentations of onion juice monitored by near-infrared spectroscopy", *Biotechnology and Bioengineering*, 101, 776-787.

Hajimahmoodi, M., Khanavi, M., Sadeghpour, O., Ardekani, M. R. S., Mazde, F. Z., Khoddami, M. S., Ranjbar, A. M. 2016. "Application of organic acid based artificial neural network modeling for assessment of commercial vinegar authenticity", *Food Analytical Methods*, 9, 3451-3459.

Hattori, R., Yamada, K., Shibata, H., Hirano, S., Tajima, O., Yoshida, N. 2010. "Measurement of the isotope ratio of acetic acid in vinegar by HS-SPME-GC-TC/C-IRMS", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7115–18.

Hattori, R., Yamada, K., Kikuchi, M., Hirano, S., Yoshida, N. 2011. "Intramolecular carbon isotope distribution of acetic acid in vinegar", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 9049–53.

Hsieh, C. W., Li, P. H., Cheng, J. Y., Ma, J. T. 2013. "Using SNIF-NMR method to identify the adulteration of molasses spirit vinegar by synthetic acetic acid in rice vinegar", *Industrial Crops and Products*, 50, 904–8.

Ho, C. W., Lazim, A. M., Fazry, S., Zaki, U. K. H. H., Lim, S. J. 2017. "Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review", *Food Chemistry*, 221, 1621-1630.

Jo, Y., Baek, J. Y., Jeong, I. Y., Jeong, Y. J., Yeo, S. H., Noh, B. S., Kwon, J. H. 2015. "Physicochemical properties and volatile components of wine vinegars with high acidity based on fermentation stage and initial alcohol concentration", *Food Science and Biotechnology*, 24, 445-452.

Kadiroglu, P. 2018. "FTIR spectroscopy for prediction of quality parameters and antimicrobial activity of commercial vinegars with chemometrics", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 4121–27.

la Haba, M.J., Arias, M., Ramirez, P., Lopez, M. I., Sanchez, M. T. 2014. "Characterizing and authenticating Montilla-Moriles PDO vinegars using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology", *Sensors*, 14, 3528–42,

Lastra-Mejias, M., Gonzalez-Flores, E., Izquierdo, M., Cancilla, J. C., Torrecilla, J. S. 2020. "Cognitive chaos on spectrofluorometric data to quantitatively unmask adulterations of a PDO vinegar", *Food Control*, 108, 106860.

Lee, S. H., Kim, J. C. 2009. "A comparative analysis for main components change during natural fermentation of persimmon vinegar", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 38, 372-376.

Leonés, A., Durán-Guerrero, E., Carbú, M., Cantoral, J. M., Barroso, C. G., Castro, R. 2019. "Development of vinegar obtained from lemon juice: Optimization and chemical characterization of the process", *LWT-Food Science and Technology*, 100, 314-321.

Liu, F., He, Y. 2009. "Application of successive projections algorithm for variable selection to determine organic acids of plum vinegar" *Food Chemistry*, 115, 1430-1436.

Liu, Q., Tang, G. Y., Zhao, C. N., Gan, R. Y., Li, H. B. 2019. "Antioxidant activities, phenolic profiles, and organic acid contents of fruit vinegars", *Antioxidants*, 8, 78.

Morales, M. L., Tesfaye, W., García-Parrilla, M. C., Casas, J. A., Troncoso, A. M. 2001. "Sherry wine vinegar: physicochemical changes during the acetification process", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 611-619.

Moros, J., Iñón, F. A., Garrigues, S., De la Guardia, M. 2008. "Determination of vinegar acidity by attenuated total reflectance infrared measurements through the use of second-order absorbance-pH matrices and parallel factor analysis", *Talanta*, 74, 632-641.

Natera, R., Castro, R., de Valme García-Moreno, M., Hernández, M. J., García-Barroso, C. 2003. "Chemometric studies of vinegars from different raw materials and processes of production", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3345-3351.

OIV: International Organisation of Vine and Wine. "Compendium of methods of analysis of wine vinegars 2000: *OENO 52-2000 Wine vinegars - determination of total acidity content*.

<https://www.oiv.int/public/medias/2697/oeno-52-2000.pdf>

Son erişim tarihi: 6 Mart 2021.

Ortiz-Romero, C., Rios-Reina, R., Morales, M. L., Garcia-Gonzalez, D. L., Callejon, R. M. A. 2018. "Viability study of C-O isotope fingerprint for different geographical provenances of Spanish wine Vinegars", *European Food Research and Technology*, 244, 1159-67.

Ozturk, I., Caliskan, O., Tornuk, F., Ozcan, N., Yalcin, H., Baslar, M., Sagdic, O. 2015. "Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars", *LWT-Food Science and Technology*, 63, 144-51.

Papotti, G., Bertelli, D., Graziosi, R., Maietti, A., Tedeschi, P., Marchetti, A., Plessi, M. 2015. "Traditional balsamic vinegar and balsamic vinegar of Modena analyzed by nuclear magnetic resonance spectroscopy coupled with multivariate data analysis", *LWT- Food Science and Technology*, 60, 1017-24.

Peng, T. Q., Yin, X. L., Sun, W., Ding, B., Ma, L. A., Gu, H. W. 2019. "Developing an excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy method coupled with multi-way classification algorithms for the identification of the adulteration of Shanxi aged vinegars", *Food Analytical Methods*, 12, 2306-13.

Rios-Reina, R., Elcoroaristizabal, S., Ocana-Gonzalez, J. A., Garcia-Gonzalez, D. L., Amigo, J. M., Callejon, R. M. 2017a. "Characterization and authentication of Spanish PDO wine vinegars using multidimensional fluorescence and chemometrics". *Food Chemistry*, 230, 108-16.

Rios-Reina, R., Callejon, R. M., Oliver-Pozo, C., Amigo, J. M., Garcia-Gonzalez, D. L. 2017b. "ATR-FTIR as a potential tool for controlling high quality vinegar categories", *Food Control*, 78, 230-37.

Rios-Reina, R., Garcia-Gonzalez, D. L., Callejon, R. M., Amigo, J. M. 2018. "NIR spectroscopy and chemometrics for the typification of Spanish wine vinegars with a protected designation of origin", *Food Control*, 89, 108-16.

Rios-Reina, R., Ocana, J. A., Azcarate, S. M., Perez-Bernal, J. L., Villar-Navarro, M., Callejon, R. M. 2019a. "Excitation-emission fluorescence as a tool to assess the presence of grape-must caramel in PDO wine vinegars", *Food Chemistry*, 287, 115-25.

Rios-Reina, R., Azcarate, S. M., Camina, J., Callejon, R. M., Amigo, J. M. 2019b. "Application of hierarchical classification models and reliability estimation by bootstrapping, for authentication and discrimination of wine vinegars by UV-Vis spectroscopy", *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 191, 42-53.

Rios-Reina, R., Callejon, R. M., Savorani, F., Arnigo, J. M., Cocchi, M. 2019c. "Data fusion approaches in spectroscopic characterization and classification of PDO wine vinegars", *Talanta*, 198, 560-72.

- Rios-Reina, R., Segura-Borrego, M. P., Garcia-Gonzalez, D. L., Morales, M. L., Callejon, R. M. A. 2019d. "Comparative study of the volatile profile of wine vinegars with protected designation of origin by headspace stir bar sorptive extraction", *Food Research International*, 123, 298–310.
- Ríos-Reina, R., Azcarate, S. M., Camiña, J. M., Callejón, R. M. 2020a. "Sensory and spectroscopic characterization of Argentinean wine and balsamic vinegars: A comparative study with European vinegars", *Food Chemistry*, 323, 126791.
- Rios-Reina, R., Segura-Borrego, M. P., Morales, M. L., Callejon, R. M. 2020b. "Characterization of the aroma profile and key odorants of the Spanish PDO wine vinegars", *Food Chemistry*, 311, 126012.
- Sáiz-Abajo, M. J., González-Sáiz, J. M., Pizarro, C. 2006. "Prediction of organic acids and other quality parameters of wine vinegar by near-infrared spectroscopy. A feasibility study", *Food Chemistry*, 99, 615–21.
- Sanarico, D., Motta, S., Bertolini, L., Antonelli, A. 2003. "HPLC determination of organic acids in traditional balsamic vinegar of Reggio Emilia", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 26, 2177–87.
- Sighinolfi, S., Baneschi, I., Manzini, S., Tassi, L., Dallai, L., Marchetti, A. 2018. "Determination of glycerol carbon stable isotope ratio for the characterization of Italian balsamic vinegars", *Journal of Food Composition and Analysis*, 69, 33–38.
- TrendEconomy. "Annual International Trade Statistics by Country"  
<https://trendeconomy.com/data/h2/Turkey/2209>  
 Son erişim tarihi: 6 Mart 2021.
- Torrecilla, J. S., Aroca-Santos, R., Cancilla, J. C., Matute, G. 2016. "Linear and non-linear modeling to identify vinegars in blends through spectroscopic data", *LWT-Food Science and Technology*, 65, 565-571.
- Uncu, O., Ozen, B. 2016. "Geographical differentiation of a monovarietal olive oil using various chemical parameters and mid-infrared spectroscopy", *Analytical Methods*, 8, 4872-4880.
- Uysal, R. S., Soykut, E. A., Boyaci, I. H., Topcu, A. 2013. "Monitoring multiple components in vinegar fermentation using Raman spectroscopy" *Food Chemistry*, 141, 4333-4343.
- Xia, T., Zhang, B., Duan, W., Zhang, J., Wang, M. 2020. "Nutrients and bioactive components from vinegar: A fermented and functional food" *Journal of Functional Foods*, 64, 103681.
- Werner, R. A., Rossmann, A. 2015. "Multi element (C, H, O) stable isotope analysis for the authentication of balsamic vinegars, *Isotopes in Environmental & Health Studies*, 51, 58–67.
- Woo, S. M., Yeo, S. H., Kwon, J. H., Kim, S. H., Jeong, Y. J. 2015. "Quality characteristics of high-acidity vinegar prepared with grape juice", *Korean Journal of Food Preservation*, 22, 100-107.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. 1999, "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals", *Food Chemistry*, 64, 555-559.
- Yalçın, O., Tekgündüz, C., Öztürk, M., Tekgündüz, E, 2021, "Investigation of the traditional organic vinegars by UV–VIS spectroscopy and rheology techniques", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 246, 118987.

**TÜBİTAK**  
**PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. FATMA BANU ÖZEN
Proje No:	119O066
Proje Başlığı:	Spektroskopik Tekniklerin Sirke Üretimine İzenmesi ve Sirkenin Tağışının Tespitinde Kullanımı
Proje Türü:	1002 - Hızlı Destek
Proje Süresi:	12
Araştırmacılar:	
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	İZMİR YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/09/2019 - 01/02/2021
Onaylanan Bütçe:	44740.0
Harcanan Bütçe:	44740.0
Öz:	<p>Değişik ham madde ve teknikler ile üretilen sirke, tağışa maruz kalan gıda ürünleri arasında yer almaktadır. Ürün içeriği, ham madde ve üretim tipine göre farklılıklar gösterdiğinden tağış belirlemede zorluklar yaşanabilmektedir. Bu çalışma ile üzüm sirkesine etanol sirkesi ve asetik asit ekleme ile yapılan tağışın, orta bölge kızılötesi (mid-IR) ve UV-görünür bölge (UV-Vis) spektroskopik yöntemlerden elde edilen verilerin kemometrik teknikler ile değerlendirilmesi yoluyla tespit edilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca geleneksel ve derin kültür yöntemleri ile üretim sırasında elde edilen kimyasal parametrelerin (pH, brix, toplam asitlik, toplam fenol ve flavonoid içerikleri, organik asit, şeker ve fenolik madde profilleri), mid-IR ve UV-Vis spektroskopik verilerden tahmini de bu çalışmanın diğer bir hedefidir.</p> <p>UV-Vis ve mid-IR verilerinin beraber kullanılmasıyla elde edilen ortogonal kısmi en küçük kareler-ayrım analizi (OPLS-DA) modeli tağış belirlemede en iyi sonucu vermiştir. Bu modele göre iki tağış tipini de kapsayan ve model oluşturmada kullanılmayan doğrulama seti ile %96,49 oranında doğru sınıflama elde edilmiştir. Mid-IR spektroskopik verileri ile üzüm sirkesinin brix, pH, toplam asitlik, toplam fenol içeriği, toplam flavonoid içeriği, asetik asit, sitrik asit, glikoz ve fruktoz tahminlenmesinde güvenilir (doğrulama seti R2 değerleri 0,85'den büyük) istatistiksel performansla sahip kemometrik modeller oluşturulmuştur. Toplam fenol içeriğinin belirlenmesinde UV-Vis spektroskopik de iyi bir sonuç vermiştir. Ayrıca iki spektroskopik verinin beraber kullanılması toplam flavonoid içeriği, tartarik asit, kafeik asit ve p-kumarik asit için oluşturulan kemometrik tahmin modellerinde iyileşmeye neden olmuştur.</p> <p>Kullanılan spektroskopik ve kemometrik yöntemler üzüm sirkesi için hem tağışın hem de birçok kalite ve kimyasal parametresinin belirlenmesinde iyi sonuçlar vermiştir.</p>
Anahtar Kelimeler:	sirke, tağış, mid-IR spektroskopik, UV-Vis spektroskopik, kemometri
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Evet