

İşleme ve Isıl İşlem Sürecinde Karadut (*Morus nigra*) Suyunun Antimikrobiyal Aktivitesi, Fizikokimyasal Özellikleri ve Organik Asit Dağılımında Meydana Gelen Değişimler

Buket AŞKIN¹, Şeref TAĞI², Erdoğan KÜÇÜKÖNER³

¹Kırklareli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, KIRKLARELİ, ²Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ANKARA, ³Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ISPARTA

¹ <https://orcid.org/0000-0001-7896-457X>, ² <https://orcid.org/0000-0003-0556-9952>, ³ <https://orcid.org/0000-0001-9259-4800>

✉: buketaskin@klu.edu.tr

ÖZET

Çalışmanın amacı, tedavi edici özelliklere sahip olduğu bilinen karadutun meyve suyuna işlenmesi sırasında ve uygulanan ısıl işlemler ile bileşiminde ve antimikrobiyal özelliklerinde meydana gelen değişimin belirlenmesidir. Çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiş olup, kuyu difüzyon yöntemi ile örneklerin antifungal ve antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Karadut sularında antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla; filamentsiz mikrofunguslardan *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida lipolytica* (Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu, AÜGMKK), *Candida parapsilosis* (Refik Saydam Kültür Koleksiyonu, RSSK 03025, Lozan 994), *Candida krusei* (RSSK 610) ve *Saccharomyces cerevisiae* (AÜGMKK) test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Funguslara ilave olarak Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ve Gram negatif bakterilerden ise *Escherichia coli* (AÜGMKK) karadut suyu örneklerinin antibakteriyal aktivitesinin test edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde ise, karadut suyunun 70 °C'de 9 saat, 80 °C'de 7.5 saat ve 90 °C'de 5 saat süre ile ısıtılması esnasında antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Hem ısıtılmış hem de berraklaştırılmış karadut suyu örneklerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. İşlem görmemiş karadut suyunun *S. aureus*'a karşı zon çapı 12.68±0.69 mm olarak tespit edilirken, berraklaştırılmış karadut suyu için ise 13.92±1.11 mm olarak belirlenmiştir. Pastörizasyon işlemi *Staphylococcus aureus*'a karşı işlem görmemiş meyve suyunda antibakteriyal etkiyi arttırmış (13.67±0.41 mm), berraklaştırılmış meyve suyunda ise kısmen daha düşük tespit edilmiştir (12.78±1.00 mm). Yalnızca berraklaştırılmamış karadut suyu örnekleri *Escherichia coli*'ye karşı etki göstermiştir (12.32±0.67 mm). Ayrıca, karadut suyunun berraklaştırma ve ısıtma sırasında hiçbir mikroorganizma türüne karşı antifungal aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada yapılan varyans analizi sonuçları titrasyon asitliği üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin, pH üzerine ise pastörizasyon işleminin etkili olduğunu göstermiştir (P<0.01).

Gıda Bilimi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 14.08.2021

Kabul Tarihi : 14.10.2021

Anahtar Kelimeler

Antimikrobiyal
Antosiyenin
Berraklaştırma
Morus nigra
Organik Asitler

Antimicrobial Activity, Physicochemical Properties and Organic Acid Composition of Black Mulberry (*Morus nigra*) Juice During Processing and Heating

ABSTRACT

The aim of the study is to determine the changes in the composition and antimicrobial properties of black mulberry, which is known to have therapeutic properties, during the processing of fruit juice and with heat treatments. The study was carried out in two parts, and it was aimed to determine the antifungal and antibacterial activity of the samples by agar well diffusion method. In order to determine the antimicrobial activity in black mulberry juices; *Candida albicans*

Food Science

Research Article

Article History

Received : 14.08.2021

Accepted : 14.10.2021

(ATCC 10231), *Candida lipolytica* (Ankara University, Food Engineering Department Culture Collection, AUGMCK), *Candida parapsilosis* (Refik Saydam Culture Collection, RSSK 03025, Lausanne 994), *Candida krusei* (RSSK 610), and *Saccharomyces cerevisia* (AUGMCK) were used as test microorganisms from filamentless microfungi. In addition to fungi, *Staphylococcus aureus* from Gram-positive bacteria and *Escherichia coli* (AUGMCK) from Gram-negative bacteria were used to test the antibacterial activity of black mulberry juice samples. In the second part of study, it was aimed to determine antifungal and antibacterial activity of black mulberry juice during heating at 70 °C for 9 h, 80 °C for 7.5 h and 90 °C for 5 h. While the zone diameter of untreated black mulberry juice against *S. aureus* was determined as 12.68±0.69 mm, it was determined as 13.92±1.11 mm for clarified black mulberry juice. The antibacterial effect was increased by Pasteurization in untreated fruit juice against *Staphylococcus aureus* (13.67±0.41 mm), while it was found to be slightly lower in clarified fruit juice (12.78±1.00 mm). Only untreated black mulberry juice samples had antibacterial activity against *Escherichia coli* (12.32±0.67 mm). Besides, it was not determined antifungal activity against all microfungi during clarifying and heating. According to the variance analysis data, clarification and pasteurization processes were effective on titration acidity and only pasteurization process had effect on pH (P<0.01).

Keywords

Antimicrobial
Anthocyanin
Clarifying
Morus nigra
Organic Acids

Atıf Şekli: Aşkın B, Tağı Ş, Küçüköner E 2022. İşleme ve Isıl İşlem Sırasında Karadut (*Morus nigra*) Suyunun Antibakteriyel ve Antifungal Aktivitesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1414-1422. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.982718>

To Cite : Askin B, Taği Ş, Kucukoner E 2022. Antibacterial and Antifungal Activity of Black Mulberry (*Morus nigra*) Juice During Processing and Heating. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1414-1422. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.982718>

GİRİŞ

Son zamanlarda, fenolik bileşiklerce zengin olduğu bilinen karadut meyvesine olan ilginin arttığı gözlenmektedir. Karadut, yoğun miktarda antosiyanin ve diğer fenolik maddeleri içermesi, buna bağlı olarak antioksidan ve antimikrobiyal aktivite göstermesi nedeniyle değeri giderek artan bir meyve olmuştur (Chen ve ark., 2006; Bae ve Suh, 2007). Karaduttan hazırlanan şurupların özellikle bademcik iltihaplarının giderilmesinde, ağız ve diş yaralarının iyileştirilmesinde ve özellikle de çocuklarda pamukçuk olarak bilinen ve *Candida* türü mayaların neden olduğu enfeksiyonların iyileştirilmesinde kullanıldığı birçok çalışmada bildirilmiştir (Baytop, 1999; Güneş ve Özhatay, 2000).

Karadutların fenolik bileşikler, antosiyanin, antioksidan ve potasyum kaynağınca zengin olmasının yanında, diğer önemli bir özelliği de antifungal ve antibakteriyel aktivite göstermesidir.

Bu çalışmada, özellikle ağız lezyonlarında etkili olan karadutun antimikrobiyal aktivitesine durultma, pastörizasyon ve farklı sürelerde uygulanan farklı sıcaklık derecelerinin etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, karadut sularının farklı sıcaklık derecelerinde ısıtılması süresince bazı fiziko-kimyasal özellikleri, organik asit dağılımları ve toplam organik asit miktarları belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Araştırmada materyal olarak kullanılan karadutlar (*Morus nigra*), İzmir (Tire) Cambazlı Köy Kooperatifinden temin edilmiştir.

Karadutun Meyve Suyuna İşlenmesi, Depektinizasyonu, Durultulması ve Pastörize Edilmesi

Karadutlar, temin edildiği yerde bir gün önce şoklanarak dondurulmuş, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi "Meyve Suyu Pilot İşletmesine" getirilmiştir. Paketli pres yardımı ile, karadutlar preslenmiş (Bucher-Guyer, Niederweningen, Switzerland) ve karadut ham suyu (işlem görmemiş karadut suyu) %58 randıman ile elde edilmiştir. Durultma işlemi için ön denemeler ile belirlenen dozajlarda enzim ve durultma yardımcı maddeleri karadut suyuna eklenmiş ve tüm aşamalarda örnek alınmıştır. Bu örneklerde; türbidimetre ile bulanıklık değerleri (NTU) ölçülerek maksimum berraklığı sağlayan durultma yardımcı maddeleri dozajı belirlenmiştir. Depektinizasyon için ticari pektolitik enzim preparatından "Amilaz AG" ve "Novaferm 61" (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark) kullanılmıştır. Ardından depektinize edilen karadut suyu; belirlenen uygun dozajlarda, bentonit, jelatin ve kizelsol kullanılarak berraklaştırılmıştır. İşlem

görmemiş karadut suyu ve durultulmuş karadut suyu örneklerinden belirli bir miktar alınarak 95 °C'de 5 dak. süre ile su banyosunda (WB 14, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Germany) pastörize edilmiştir.

Karadut Sularının Farklı Sıcaklıklarda Isıtılması

Durultulmuş karadut suları 70 °C, 80 °C ve 90 °C'lerde, farklı sürelerle (sırasıyla 9 saat, 7 saat ve 5 saat) ısıtılmıştır. Bu amaçla, ısıya dayanıklı ve ağız kapalı cam tüpler kullanılmıştır. Tüpler belirlenen sıcaklıklara ayarlanmış su banyosu (Memmert, Schwabach, Almanya) içerisine yerleştirilmiştir. Tüp içerisindeki örneğin sıcaklığı termometre ile izlenerek istenilen sıcaklığa eriştiği süre "gecikme periyodu (lag periodu)" olarak tanımlanmış ve bu lag periodundan sonraki süre "sıfır süresi" olarak kabul edilmiştir. Belirlenen her sürede örnek alınmış ve buz içerisinde soğutulmuş, oda sıcaklığına getirildikten sonra belirlenen analizler gerçekleştirilmiştir.

Kimyasallar

Mikroorganizmaların aktifleştirilmesi ve antimikrobiyal aktivite ölçümlerinde; *E. coli* ve *S. aureus* için Tryptic Soy Broth (TSB) ve Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck Co., Darmstadt, Almanya) besiyerleri, *C. albicans*, *C. lipolytica*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* için ise Sabouraud %2 Dextrose Broth (SDB) ve Sabouraud %2 Dextrose Agar (SDA) (Merck Co., Darmstadt, Almanya) besiyerleri kullanılmıştır. Organik asitlerin ekstraksiyonunda ve saflaştırılmasında kullanılan tüm solventler HPLC saflığında (HPLC grade) olup, Merck firmasından temin edilmiştir.

Metot

Fizikokimyasal analizler

pH değeri, potansiyometrik olarak pH metre (HANNA HI 221, Woonsocket, A.B.D.) ile saptanmıştır (Cemeroğlu ve ark., 2010). Çalışmada, örneklerin suda çözünür kuru madde (briks, °Bx) değerleri dijital bir refraktometre (Atago Rx-7000α, Tokyo, Japonya) kullanılarak saptanmıştır. Durultulmuş karadut suyu örneklerinin bulanıklık düzeyi, turbidimetre (HACH 2100N, Loveland, A.B.D.) yardımıyla belirlenmiştir. Bulanıklık düzeyi "NTU (Nephelometric Turbidity Unit)" değeri ile ifade edilmiştir. Titrasyon asitliği, pH ile izlenerek yürütülen titrasyonla saptanmış ve bu amaçla IFU tarafından (Anonymous, 1968) önerilen işlemler uygulanmıştır.

Organik asit dağılımlarının belirlenmesi

Bu amaçla Chinnici ve ark. (2005) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Organik asitlerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında "Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi" cihazından

(HPLC, Agilent 1200 serisi, Waldbronn, Almanya) yararlanılmıştır. Organik asitleri içeren elüat Sep-Pak C18 kartuştan geçirilerek fenolik bileşikler uzaklaştırılmıştır. Bu amaçla, önce C-18 Sep-Pak kolonundaki dolgu maddesinin şartlandırma işlemi yapılmıştır. Şartlandırma işlemini takiben, organik asitleri içeren elüatlar Sep-Pak C18 (Waters Co., Milford, MA, USA) kartuşlarına yüklenerek, fenolik maddelerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Daha sonra elüatlar, 0.22 µm PVDF filtreden (Sartorius AG, Goettingen, Germany) filtre edilerek HPLC cihazına yüklenmiştir.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Karadut sularında antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla; filamentsiz mikromfunguslardan *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida lipolytica* (Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu, AÜGMKK), *Candida parapsilosis* (Refik Saydam Kültür Koleksiyonu, RSSK 03025, Lozan 994), *Candida krusei* (RSSK 610) ve *Saccharomyces cerevisiae* (AÜGMKK) test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Funguslara ilave olarak Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ve Gram negatif bakterilerden ise *Escherichia coli* (AÜGMKK) den hazırlanan kültürler karadut suyu örneklerinin antibakteriyal aktivitesinin test edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Örneklerle ait antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için öncelikle test mikroorganizmaları ve bunlardan standardize edilen inokulumları hazırlanmıştır. Karadut sularının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla *Candida* türleri ve *S. cerevisiae* SDB, ve *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri TSB besiyerlerinde 35 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Geliştirilen kültürlerden mayalar için yaklaşık 1×10^6 adet mL^{-1} maya hücresi ve bakteriler için 1×10^8 kob mL^{-1} bakteri içeren standart inokulum hazırlanmıştır. Analiz öncesinde yapılan ön denemelerde standart inokulumda elde edilen maya süspansiyonundaki hücre sayısı Thoma lamı kullanılarak iki paralelli olarak saptanmıştır. Toplam bakteri sayısını doğrulamak amacıyla %0.1 (w/v) peptonlu su kullanılarak ardışık seyreltmeler yapılmış, uygun seyreltilerden TSA besiyerine yayma yöntemiyle ekim yapılarak 35 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiş ve oluşan koloniler sayılarak toplam bakteri sayısı hesaplanmıştır.

İkinci aşama olarak ise, karadut suyu örneklerinde antifungal ve antibakteriyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla Lenette (1985) tarafından önerilen "kuyu difüzyon veya agar cup yöntemi" kullanılmıştır (Alanis ve ark., 2005). Bu amaçla 100 mL hacimli vidalı kapaklı cam şişelerde 25 mL hacimde hazırlanan mayalar için SDA besiyeri ve bakteriler için TSA besiyeri otoklavlanmıştır (121 °C, 15 dak.). Otoklavlanan besiyerleri su banyosunda 42-45 °C

sıcaklıkta iken, her birine hazırlanan standart maya-bakteri inokulumundan 0.25 mL ilave edilmiştir ve 11 cm çaplı petrilere aktarılmıştır. Besiyerinin katılaşmasını takiben besiyerinde kuyucuklar açılmış ve her bir kuyucuğa karadut suyu örneklerinden 100 µL aktarılmıştır. Çalışmada örnek kontrolü olarak dut suyuyla aynı briks ve pH değerine sahip glukoz ve sitrik asit çözeltileri kullanılmıştır. Daha sonra ekim yapılan besiyerleri 35 °C'de 20-24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda, bakterilerin inhibe edildiği inhibisyon zonlarının çapı bir kumpas (Scienceware Bel-Art product, USA) yardımıyla ölçülmüş ve sonuçlar "mm" olarak verilmiştir.

İstatistik Analizler

Karadut suyu örnekleri için tüm veriler üç paralelli faktöriyel düzende varyans analiz tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite ölçümlerinde zon çapları ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Elde edilen tüm veriler istatistiksel olarak IBM SPSS versiyon 17.0 istatistik programı ile kıyaslanmıştır.

Çizelge 1. Karadut suyunun farklı üretim aşamalarındaki briks, NTU, pH ve titrasyon asitliği değerleri
Table 1. Values of brix, NTU, pH and titratable acidity for different steps of black mulberry juice processing

Örnek Sample	Briks Brix	NTU NTU	pH pH	Titrasyon Asitliği* Titratable Acidity
Pastörize edilmemiş (Unpasteurized)				
İşlem görmemiş karadut suyu	17.43±0.015	–	3.42±0.005	1.17±0.0125
Depektinize edilmiş	17.55±0.275	38.38±0.025	3.42±0.005	1.16±0.0154
Depektinize edilmiş, bentonit uygulanmış	17.42±0.020	19.35±0.05	3.41±0.005	1.13±0.0064
Durultulmuş (bentonit, jelatin ve kizelsol)	19.22±0.005	04.90±0.01	3.42±0.000	1.12±0.008
Pastörize edilmiş (Pasteurized)				
İşlem görmemiş karadut suyu	16.80±0.045	–	3.45±0.005	1.14±0.0016
Durultulmuş (bentonit, jelatin ve kizelsol)	17.08±0.005	17.05±0.05	3.45±0.005	1.10±0.0016

*: Susuz sitrik asit cinsinden (g 100 mL⁻¹)

*: As anhydrous citric acid (g 100 mL⁻¹)

Çizelge 2. Karadut sularının titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi
Table 2. Variance analysis table for titration acidity values of black mulberry juices

Varyasyon kaynağı Source of Variation	Serbestlik derecesi Degree of Freedom	Kareler toplamı Sum of Squares	Kareler ortalaması Mean of Squares	F	P
Durultma	1	0.007	0.007	121.15	0.000*
Pastörizasyon	1	0.002	0.002	32.32	0.000*
Durultma x pastörizasyon	1	1.474E-5	1.474E-5	0.26	0.624
Hata	8	0.000	5.686E-5		
Genel toplam	12	0.009			

*: P<0.01

BULGULAR ve TARTIŞMA

Karadut Sularının Briks, Bulanıklık, pH ve Titrasyon Asitliğindeki Değişimler Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Durultma ve pastörizasyon uygulanmış ve uygulanmamış karadut sularında pH, briks ve titrasyon asitliği gibi bazı nitelikler belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 1.'de verilmiştir. Depektinizasyon işleminin, karadut sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (P>0.01).

Durultma ve pastörizasyon aşamaları sonrasında, karadut sularının titrasyon asitliği değerleri için yapılan varyans analizi sonuçları (Çizelge 2), "durultma x pastörizasyon" ikili interaksyonunun istatistiksel olarak önemli olmadığını, ancak durultma ve pastörizasyon işlemlerinin titrasyon asitliği üzerine etkili olduğunu göstermiştir (P<0.01).

Karadut sularının pH değerleri için yapılan varyans analizi (Çizelge 3) ise, "durultma x pastörizasyon" ikili interaksiyonunun istatistik olarak önemli olmadığını, yalnızca pastörizasyon işleminin pH üzerine etkili olduğunu göstermiştir (P<0.01).

Karadut Sularının Organik Asit Dağılımı Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Karadut sularında; durultma aşamalarında ve

pastörizasyon işleminden önce ve sonra organik asit dağılımları (TOA) ile toplam organik asit miktarları belirlenmiştir (Çizelge 4). Çalışmada başat organik asitlerin sitrik asit (SA) ve malik asit (MA) olduğu tespit edilmiştir. Görüldüğü üzere, karadut sularına ait organik asit miktarı proses esnasında azalma göstermiştir. Pastörizasyon sonrasında ise, durultulmuş karadut suyunun organik asit miktarında ise sınırlı seviyede artış gözlenmiştir.

Çizelge 3. Karadut sularının pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Table 3. Variance analysis table for the pH values of black mulberry juices

Varyasyon kaynağı Source of Variation	Serbestlik derecesi Degree of Freedom	Kareler toplamı Sum of Squares	Kareler ortalaması Mean of Squares	F	P
Durultma	1	0.00009	0.00009	2.000	0.000*
Pastörizasyon	1	0.0003	0.0003	162.000	0.195
Durultma x pastörizasyon	1	0.000	0.000	0.000	1.000
Hata	8	0.000	0.000036		
Genel toplam	12	0.00039			

*: P<0.01

Çizelge 4. Karadut suyunun farklı üretim aşamalarındaki organik asit değerleri

Table 4. Organic acid values of black mulberry juice at different production steps

Karadut suyu (Blackmulberry Juice)	1	2	3	4	5	TO*
İşlem görmemiş karadut suyu	6688	1912	836	977	688	10897
Depektinize edilmiş	6426	1892	847	913	726	10606
Bentonit uygulanmış	5729	1648	781	987	689	9709
Durultulmuş	5642	1641	800	912	686	9558
Durultulmuş ve pastörize edilmiş	6430	1889	862	692	1007	10684

*: Toplam organik asit, susuz sitrik asit cinsinden (g 100 mL⁻¹)

1: Sitrik asit 2: Malik asit 3, 4 ve 5: Tanımlanamayan pikler

Karadut Sularının Farklı Sıcaklıklarda Isıtılması Süresince Briks, Bulanıklık, pH ve Titrasyon Asitliğindeki Değişimler

Karadut sularının farklı sıcaklıklarda ısıtılması süresince; briks, pH, bulanıklık ve titrasyon asitliğindeki değişimler Çizelge 5.'de sunulmuştur. Briks değerlerinde, 70 ve 80 °C'de ısıtma sonunda farklılıklar saptanmamış; buna karşın, 90 °C'de ısıtılan karadut sularının briks değerlerinde belirgin

artışlar saptanmıştır. Bulanıklık değerleri ise, ısıtma sıcaklık ve süresine bağlı olarak artmıştır. Farklı sıcaklıklarda ısıtma sonunda, karadut sularının pH değerlerinde önemli bir değişim saptanmamıştır. Titrasyon asitliği değerlerinde ise, 70 ve 80 °C'de ısıtma sonunda farklılıklar saptanmamış; buna karşın, 90 °C'de ısıtılan karadut sularının titrasyon asitliği değerlerinde belirgin azalışlar saptanmıştır.

Çizelge 5. Farklı sıcaklıklarda ısıtılan karadut sularının genel bileşim özellikleri

Table 5. General composition properties of Blackmulberry juices heated at different temperatures

Sıcaklık (°C) Temperature (°C)	Süre (Saat) Period (h)	Briks Brix	NTU NTU	pH pH	Titrasyon asitliği* Titratable acidity*
70	0	17.34	17.5	3.42	2.26
	9	17.65	23.7	3.48	2.31
80	0	18.95	27.8	3.42	2.27
	7	16.95	–	3.45	2.19
90	0	14.90	27.90	3.45	2.43
	5	17.20	–	3.45	2.13

*: Susuz sitrik asit cinsinden (g 100 mL⁻¹)

*: As anhydrous citric acid (g 100 mL⁻¹)

Karadut Sularının Farklı Sıcaklıklarda Isıtılması Süresince Organik Asit Dağılımındaki Değişimler

Karadut sularının farklı sıcaklıklarda ısıtılması süresince; briks, pH, bulanıklık ve titrasyon asitliğindeki değişimler Çizelge 5.'de sunulmuştur.

Karadut sularında; farklı sıcaklık derecelerinde

ısıtılması süresince organik asit dağılımları ile toplam organik asit miktarları belirlenmiştir (Çizelge 6). Elde edilen sonuçlar 70 ve 80 °C'lerde organik asit miktarında önemli bir değişim olmadığını gösterirken, 90 °C'de ise sınırlı seviyede bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 6. Karadut sularının farklı sıcaklıklarda ısıtılması süresince organik asit dağılımındaki değişimler
Table 6. Changes in organic acid composition during Blackmulberry juices heating at different temperatures

Depolama sıcaklık ve süresi Storage temperature and period	1	2	3	4	5	TO*
70 °C (0 dak.)	6105±202	1760±23	826±26	882±86	688±62	10102±101
70 °C (8 saat)	5986±189	1732±14	812±84	985±24	726±84	10091±147
80 °C (0 dak.)	7294±211	2125±64	899±32	969±42	689±44	11711±143
80 °C (7 saat)	6716±145	1830±46	837±46	895±36	674±64	10773±122
90 °C (0 dak.)	7629±162	2118±29	941±69	700±63	1106±63	12231±134
90 °C (5 saat)	6500±177	2030±33	826±53	1015±95	1219±96	11351±117

*: Toplam organik asit, susuz sitrik asit cinsinden (g 100 mL⁻¹)

1: Sitrik asit 2: Malik asit 3, 4 ve 5: Tanımlanamayan pikler

*: Total organic acid, As anhydrous citric acid (g 100 mL⁻¹)

1: Citric acid 2: Malic acid 3, 4 ve 5: Unidentified peaks

Karadut Suyu Örneklerinin Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktivitesi

İşlem görmemiş karadut suyu, durultulmuş karadut suyu ve pastörizasyon işlemi uygulanmış karadut suyu örneklerinin antimikrobiyal aktivite değerleri Çizelge 7'de verilmiştir. Karadut suyu örneklerinin *S. cerevisiae* ve *Candida* türlerine karşı herhangi bir antimikrobiyal etkisi belirlenmemiştir. Test edilen bakterilerden *S. aureus*'a karşı tüm örnekler antimikrobiyal etki gösterirken, *E. coli*'ye karşı sadece işlem görmemiş karadut suyunun antimikrobiyal etkisi olduğu saptanmıştır. *S. aureus* için inhibisyon zonları karşılaştırıldığında, karadut sularının antimikrobiyal etkisinin genel olarak birbirine yakın değerlerde olduğu, durultulmuş karadut suyunun antimikrobiyal etkisinin işlem görmemiş karadut suyundan biraz daha fazla olduğu görülmektedir. Pastörizasyon sonrasında ise; işlem görmemiş karadut suyunun antimikrobiyal etkisi biraz artarken, durultulmuş karadut suyunun azaldığı saptanmıştır. Ayrıca antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kontrol olarak kullanılan, steril glukoz ve sitrik asit çözeltilerinin test mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etkisi saptanmamıştır. Çizelge 8.'de ise, ısıl stabilite deneyleri başlangıç ve sonrasında karadut suyu örneklerinin antimikrobiyal aktivite değerleri verilmiştir. Elde edilen veriler ile, karadut suyu örneklerinin yine *S. cerevisiae* ve *Candida* türü mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite

göstermediği saptanmıştır. Örneklerin, ısıtma sürecinin sıfır anında ve sonrasında, *S. aureus* bakterisine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *E. coli*'ye karşı gösterilen antimikrobiyal aktivite incelendiğinde ise; sıfır anında örneklerin herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği, ancak ısıtma sonunda antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Karşılaşılan bu sonucun farklı sebepleri olabileceği düşünülmektedir.

Literatürde yer alan çalışmalarda genellikle karadut meyvesinden elde edilen farklı ekstraktların, çeşitli *Candida* türleri üzerine antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır ve birçok çalışmada elde edilen ekstraktların antifungal ve güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır (Barron ve İbrahim, 1996; Du ve ark., 2003; Park ve ark., 2003; Sohn ve ark., 2004; Fang ve ark., 2005; Fukai ve ark., 2005). Birçok çalışmada karadutun *Candida* türü mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesi belirlenmesine karşın, yapılan çalışmada ise seçilmiş olan *Candida* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite belirlenmemiştir. Bu durumun karadut meyvesinin fenolik dağılımındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Chen ve ark., 2006; Ercisli ve Orhan, 2008; Pawlowska ve ark., 2008). Aly ve ark. (2019) ise bu çalışma ile benzer sonuçları vurgulamıştır. Gram pozitif bakterilerden *S. aureus*'a yüksek ve Gram negatif bakterilerden ise *E. coli* orta düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip

olduğu belirlenmiştir (Aly ve ark., 2019). Diğer bazı çalışmalarda ise karadutun ve karadut suyunun hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı

antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu yer almıştır (Yiğit ve Yiğit, 2008; Khalid ve ark., 2011; Jiang ve ark., 2014).

Çizelge 7. Karadut sularının durultma ve pastörizasyon işlemleri sonrasında antimikrobiyal aktivite değerleri
Table 7. The antimicrobial activities of BMJ samples after finning and pasteurization

Mikroorganizma türü Type of Microorganism	İnhibisyon zon çapı (mm)* Inhibition zone diameter (mm)*			
	1	4	5p	6p
Filamentsiz mikrofungus Filamentless microfungi				
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-
<i>Candida lypolitica</i>	-	-	-	-
<i>Candida krusei</i>	-	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-
Bakteri Bacteria				
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.68±0.69	13.92±1.11	13.67±0.41	12.78±1.00
<i>Escherichia coli</i>	14.32±0.67	-	-	-

* Zon çapı kuyucuk çapıyla birlikte verilmiştir. Ortalama değerler altı kuyucukta ölçülen zon çapının ortalamasıdır.

1: İşlem görmemiş karadut suyu, 4: Jelatin ve kizelsolle durultulmuş karadut suyu, 5p: Pastörize edilmiş işlem görmemiş karadut suyu, 6p: Durultulup, pastörize edilen karadut suyu

* The zone diameter is given together with the well diameter. The mean values are the mean of the zone diameter measured in six wells.

1: Unclarified blackmulberry juice, 4: Black mulberry juice clarified with gelatin and kizelsol, 5p: Unclarified and Pasteurized black mulberry juice, 6p: Clarified and pasteurized black mulberry juice.

Çizelge 8. Farklı sıcaklıklarda ısıtılan karadut sularının antimikrobiyal aktivite değerleri
Table 8. The antimicrobial activities of Blackmulberry juice samples heating at different temperatures

Mikroorganizma türü Type of microorganism	İnhibisyon zon çapı (mm)*					
	70 °C		80 °C		90 °C	
	Başlangıç Initial	Son Final	Başlangıç Initial	Son Final	Başlangıç Initial	Son Final
Filamentsiz mikrofungus Filamentless microfungi						
<i>C.albicans</i>	-	-	-	-	-	-
<i>C.lypolitica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>C.krusei</i>	-	-	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S.cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-
Bakteri Bacteria						
<i>S. aureus</i>	14.45±1.0	13.47±0.9	14.73±0.5	13.90±0.0	12.95±1.2	14.05±0.4
<i>E. coli</i>	-	13.80±0.5	-	12.68±0.4	-	14.43±0.2

* Zon çapı kuyucuk çapıyla birlikte verilmiştir. Ortalama değerler altı kuyucukta ölçülen zon çapının ortalamasıdır.

* The zone diameter is given together with the well diameter. The mean values are the mean of the zone diameter measured in six wells.

Farklı sıcaklıklarda farklı süreler ısıtılan örneklerin ise, yine *S. cerevisiae* ve *Candida* türü mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği saptanmıştır. Buna karşın, karadut sularının hem ısıtma başlangıcında hem de ısıtma sonunda, *S. aureus* bakterisine karşı antimikrobiyal

aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *E. coli*'ye karşı ise, ısıtma öncesi bir aktivite saptanamazken, ısıtma sonunda ise, aktivite saptanmıştır. Bu durumun ısıtma sırasında değişen organik asit kompozisyonundan kaynaklandığı sanılmaktadır. Literatürde ısıtma işlemi veya elektrik alan ile

pastörizasyon sonrasında, meyve suyunun organik asit kompozisyonunun değişebileceği, meyve suyunun yüksek organik asit içeriği ve düşük pH değerinin özellikle *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterebileceği yer almaktadır (Raybaudi-Massilia ve ark., 2006; Mosqueda-Melgar ve ark., 2008). Eswaranandam ve ark. (2004), sitrik asitten daha küçük molekül ağırlığına sahip olan malik asidin uygulama sonrasında hücre dışına penetre olduğu ve düşük pH değeri ile mikrobiyal hücrelerin genetik materyalini inhibe ettiği belirtilmiştir. Çalışmada, ısıl stabilite deneyleri sonrasında karadut suyunun organik asit kompozisyonunda kısmen değişim meydana geldiği saptanmıştır. Bu durumun antimikrobiyal aktivite üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Literatürde, meyve suyu üretimi sırasında antosiyaninlerde kayıp meydana geldiği, meydana gelen bu kaybın polimerik renk değerlerinde ve Maillard reaksiyon ürünlerinde artışa neden olduğunu gösteren benzer çalışmalara rastlanmıştır (Ocha ve ark., 1999; Jiang ve ark., 2014).

Karadut meyvesi antioksidan, antikarsinogenik, antimutajenik ve laksatif etkiye sahip olan bir meyvedir. Gıda endüstrisinde karaduttan elde edilen karadut suyuna durultma işlemi ve raf ömrünün arttırılması için ısıl işlem uygulanır. Uygulanan bu işlemler karadut suyunun antioksidan aktivitesini etkilemezken, uçucu bileşen kompozisyonunda değişimlere neden olabilmektedir. Isıl işlemler ve üretim prosesi sonucunda oluşan Maillard reaksiyon ürünlerinin (özellikle meyve suyu üretiminde oluşan 5-HMF) antimikrobiyal ve antioksidatif etkiye sahip olduğu literatürde yer almaktadır (Burdurlu ve Karadeniz, 2003; Uzkuç ve ark., 2016).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak; karadut suyunun depektinize edilip; bentonit, jelatin ve kizelsol kullanılarak yeterli düzeyde durultulabileceği belirlenmiştir. Durultmada kullanılan bentonitin, karadut suyundaki organik asitler üzerine etkili olduğu ortaya konulmuştur. Bentonit uygulaması ile, organik asitlerdeki -OH grubunun, bentonitte yer alan ve yüzeyindeki -H bağlarına bağlı olan -SiO veya -AlO grupları ile birleşmesi organik asit konsantrasyonunun ve dolayısıyla titrasyon asitliğinin düşmesine neden olmaktadır.

Antimikrobiyal analizler sonucunda ise, tüm örneklerin çalışmada kullanılan filamentsiz funguslardan *Candida* türleri ve *Saccharomyces cerevisiae*'e karşı herhangi bir antifungal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Antibakteriyal aktivite ölçümleri sonucunda ise, yalnızca karadut ham suyunun *Escherichia coli*'e karşı antibakteriyal etkisi saptanırken, *Staphylococcus aureus* için ise hemen tüm örneklerin antibakteriyal aktivite göstermiş

olduğu ancak proses aşamalarında önemli bir fark görülmediği belirlenmiştir.

Karadut suyu örneklerinin kullanılan 2 farklı bakteri türüne karşı belirli ölçüde antimikrobiyal etki gösterdiği göz önüne alınarak bundan sonra yapılacak çalışmalarda daha farklı ve daha fazla sayıda bakteri türlerine karşı antimikrobiyal etkisi test edilmelidir.

TEŞEKKÜR

TUBİTAK tarafından desteklen (Proje NO: 111R004) bu çalışma, Buket Aşkın'ın "Karadut Antosiyaninlerinin Isıl ve Depolama Stabilitesi" başlıklı doktora tezinden üretilmiştir. Yazarlar, Karadut temininde ki yardımlarından dolayı İzmir-Tire Köy Kooperatifine teşekkürü bir borç bilir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Çalışmaya ait veriler Dr. Buket Aşkın tarafından toplanmıştır. Çalışmaya ait laboratuvar analizleri ve istatistik analizler Dr. Buket Aşkın tarafından yapılmıştır. Laboratuvar analizlerinden antimikrobiyal aktivite yöntemi Dr. Şeref Tağı tarafından planlanmış ve desteklenmiştir. Makale metni, Dr. Buket Aşkın ve Prof.Dr. Erdoğan Küçüköner tarafından yazılmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Alanis AD, Glazada F, Cervantes JA, Tarres J, Ceballas GM 2005. Antibacterial Properties of Some Plants Used in Mexican Traditional Medicine for the Treatment of Gastrointestinal Disorders. *J Ethnopharmacol* 100(1-2): 153-157.
- Aly AA, Ali HGM, Eliwa NER 2019. Phytochemical screening, anthocyanins and antimicrobial activities in some berries fruits. *J Food Meas Charact* 13: 911-920.
- Anonymous 1968. IFU 1968. Analysen, Nr: 3. Internationale Fruchtsaft Union (IFU) Juris Verlag. Zurich, Schweiz.
- Bae SH, Suh HJ 2007. Antioxidant Activities of Five Different Mulberry Cultivars in Korea. *Food Sci Technol* 40(6): 955-962.
- Barron D, İbrahim RK 1996. Isoprenylated Flavonoids-A survey. *Phytochem* 43(5): 921-982.
- Baytop T 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi: Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Yayınları, 2. Baskı, İstanbul, 480sy.
- Burdurlu HS, Karadeniz F 2003. Effect of Storage on Nonenzymatic Browning of Apple Juice Concentrates. *Food Chem* 80: 91-97.
- Cemeroğlu C, Yemenicioğlu A, Özkan M 2010. Meyve

- ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt 1, Bizim Büro Basımevi, Ankara, 174sy.
- Chen PN, Chu SC, Chipu HL, Kuo WH, Chiang CL, Hsieh YS 2006. Mulberry Anthocynins, Cynidin-3-rutinoside, Cynidin-3-glucoside, Exhibited an Inhibitory Effect on the Migration and Invasion of a Human Lung Cancer Cell Line. *Cancer Lett* 235(2): 248-259.
- Chinnici F, Spinabelli U, Riponi C, Amati A 2005. Optimization of the Determination of Organic Acids and Sugars in Fruit Juices by Ion-exclusion Liquid Chromatography. *J Food Composit Anal.* 18 (2-3): 121-130.
- Du J, He ZD, Jiang RW, Ye WC, Xu HX, But PPH 2003. Antiviral Flavonoids From Root Bark Of *Morus alba* L. *Phytochem* 62(8): 1235-1238.
- Ercisli S, Orhan E 2008. Some-Physicochemical Characteristics of Black Mulberry (*Morus nigra* L.) Genotypes from Northeast Anatolia Region of Turkey. *Sci Hortic* 116(1): 41-46.
- Eswaranandam S, Hettiarachchy NS, Johnson MG 2004. Antimicrobial Activity Of Citric, Lactic, Malic, or Tartaric Acids and Nisinincorporated Soy Protein Film Against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella gaminara*. *J Food Sci* 69(3): 79-84.
- Fang SH, Hou YC, Chao PD 2005. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Interactions of Morin and Cyclosporin. *Toxicol Appl Pharm* 205(1): 65-70.
- Fukai K, Yokosuka O, Imazeki F, Tada M, Mikata R 2005. Methylation Status Of P14arf, P15ink4b And P16ink4a Genes in Human Hepatocellular Carcinoma. *Liver Int* 25(6): 1209-1216.
- Güneş F, Özhatay N 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Island. In Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. (ed) *Lathyrus*, Edinburgh at the university press, pp. 92-94.
- Jiang B, Mantri NN, Hu Y, Lu J, Jiang W, Lu H 2014. Evaluation of bioactive compounds of black mulberry juice after thermal, microwave, ultrasonic processing, and storage at different temperatures. *Food Science and Technology International* 21(5): 392-399.
- Khalid N, Fawad SA, Ahmed I 2014. Antimicrobial Activity, Phytochemical Profile and Trace Minerals of Black Mulberry (*Morus Nigra* L.) Fresh Juice. *Pak. J. Bot.* 43: 91-96.
- Mosqueda-Melgar J, Raybaudi-Massilia RM, Martín-Belloso O 2008. Combination Of High-Intensity Pulsed Electric Fields with Natural Antimicrobials to Inactivate Pathogenic Microorganisms and Extend the Shelf-Life of Melon and Watermelon Juices. *Food Microbiol* 25(3): 479-491.
- Park KM, You JS, Lee HY, Baek NI, Hwang JK 2003. Kuwanon G: An Antibacterial Agent from the Root Bark of *Morus alba* Againts Oral Pathogens. *J Ethnopharmacol* 84(2-3): 181-185.
- Pawłowska AM, Oleszek W, Braca A 2008. Qualitative Analyses of Flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L. (Moraceae) Fruits. *J Agric Food Chem* 56(9): 3377-3380.
- Raybaudi-Massilia RM, Mosqueda-Melgar J, Martín-Belloso O 2006. Inactivation of *E. coli* O157:H7, *S. enteritidis* and *L. monocytogenes* by Combining of High-intensity Pulsed Electric Fields and Malic Acid in Apple Juice. Workshop on Applications of Novel Technologies in Food and Biotechnology, 11-13, September, Ireland, p: 32.
- Sohn HY, Son KH, Kwon CS, Kwon GS, Kong SS 2004. Antimicrobial and Cytotoxic Activity of 18 Prenylated Flavonoids Isolated from Medicinal Plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L) Vent. *Saphora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* nakai. *Phytomed* 11 (7-8): 666-672.
- SPSS 2010. IBM SPSS Statistics 17.0 for Windows. Armonk, NY.
- Uzkuç H, Marangoz, Fİ, Karagül Yüceer Y, Toklucu AK 2016. Karadut Suyu Uçucu Bileşenleri Üzerine Isıl İşlemin Etkisi. *Türkiye 12. Gıda Kongresi* 05-07 Ekim, Edirne.
- Yiğit D, Yiğit N 2014. Antibacterial Activity of Black Mulberry (*Morus Nigra*) Fruits and Leaves. *EÜFBED* 1-1: 40-47.