

PROBİYOTİK KÜLTÜR KULLANILARAK FERMENTE KARPUZ
SUYU ÜRETİMİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

SEVİM ÖZTÜRK

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

EYLÜL 2012

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı

.....
Prof. Dr. Yaşar Dürüst
Enstitü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans derecesinde bir tez olarak gerekli çalışmaları yerine getirdiğini onaylarım.

.....
Prof. Dr. Ömer Zorba
Bölüm Başkanı V.

Okuduğumuz bu tezin Yüksek Lisans/~~Doktora~~ derecesinde bir tez olarak onaylanması, düşüncemize göre, amaç ve kalite olarak tamamen uygundur.

.....
Doç. Dr. İbrahim Çakır
Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

İmza

1- Doç. Dr. İbrahim Çakır

2- Doç. Dr. Osman Kola

3- Yrd. Doç. Dr. Hande Selen Erge

.....
.....
.....

ÖZET

PROBİYOTİK KÜLTÜR KULLANARAK FERMENTE KARPUZ SUYU ÜRETİMİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Öztürk, Sevim
Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Danışmanı: Doç. Dr. İbrahim Çakır

Eylül 2012, 93 sayfa

Bu çalışmada *Lactobacillus helveticus* NRRL B-4526 standart suşu, *Lactobacillus acidophilus* KPb4b ve *Lactobacillus plantarum* laktik asit bakterileri kullanarak taze sıkılmış karpuz suyundan fermente karpuz suyu üretimi amaçlanmıştır. Laktik asit bakterileri inoküle edilen taze sıkılmış karpuz suları 37 °C’de 18 saat boyunca fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyonun gidişi toplam asit, pH, toplam canlı laktik asit bakterisi, renk ve suda çözünür kuru madde analizleri ile izlenmiştir. Fermentasyon başında ve sonunda alınan örneklerde ise kimyasal (şeker, toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde) ve duyuusal analizler yapılmıştır.

Araştırma bulgularına göre, fermentasyon boyunca örneklerde toplam asitlik artmış, buna bağlı olarak pH azalmıştır. Tüm denemelerde toplam canlı laktik asit bakteri sayıları önemli oranda artmış, *Lb. plantarum* ile fermente edilen karpuz suyunda 10.0 log kob/mL ile en yüksek sayıya ulaşmıştır. Fermente karpuz sularında toplam asit, laktik asit cinsinden, 1.16-3.30 g/L, pH 4.28-4.81 arasında değişmiştir.

Laktik asit fermentasyonu, karpuz suyu örneklerinin renk değerlerini olumlu yönde etkilemiştir. Tüm örneklerin fermentasyon sonrasındaki CIE-L*, a* ve b* değerlerinin fermentasyon başlangıcındaki CIE-L*, a* ve b* değerlerinden yüksek olduğu bulunmuştur.

Fermentasyon süresince örneklerin suda çözünür kuru madde ve toplam şeker miktarı azalmıştır. Sakaroz ve glukoz miktarı azalırken, früktoz miktarı artış göstermiştir.

Fermente karpuz suyu içeceklerinin tümünün toplam fenolik madde miktarı, fermente olmamış karpuz suyunun toplam fenolik madde miktarından yüksek çıkmıştır. Fermentasyon başlangıcında örneklerin toplam fenolik madde

miktarı 133.86 ile 137.04 mg/L arasında değişirken, fermentasyon sonunda bu aralığın 151.86-201.94 mg/L olduğu bulunmuştur. Fermentasyon sonunda en yüksek fenolik madde miktarı *Lb. plantarum* eklenmiş karpuz suyunda saptanmıştır.

Antioksidan aktivite ölçümü, TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) metoduna göre yapılmıştır. TEAC değerlerinin tüm örneklerde fermentasyon sürecinde artış gösterdiği bulunmuştur. Antioksidan aktivite, fermentasyon başlangıcında 3.78-4.88 $\mu\text{M TE}/100\text{ g}$ değerleri arasında iken, fermente karpuz suyu içeceklerinde 4.60-7.53 $\mu\text{M TE}/100\text{ g}$ olmuştur. En yüksek toplam antioksidan aktivite değeri 7.53 $\mu\text{M TE}/100\text{ g}$ ile *Lb. plantarum* inoküle edilen fermente karpuz suyu içeceğinde olmuştur.

Duyusal analiz sonuçlarına göre, en fazla beğeniyi *Lb. plantarum* ile fermente edilen karpuz suyu içeceği toplamıştır. Bu örnek dışındaki üç örneğinde genel beğeni düzeyi fermentasyonla birlikte önemli ölçüde azalmıştır.

Anahtar kelimeler: Karpuz suyu, laktik asit fermentasyonu, laktik asit bakterileri, probiyotik

ABSTRACT

A STUDY ON THE PRODUCTION OF FERMENTED WATERMELON JUICE USING PROBIOTIC CULTURES

Öztürk, Sevim

M.Sc., Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. İbrahim Çakır

September 2012, 93 pages

In this study, the production of fermented watermelon juice from fresh-squeezed watermelon juice using lactic acid bacteria of *Lactobacillus helveticus* NRRL B-4526 standart strain, *Lactobacillus acidophilus* KPb4b and *Lactobacillus plantarum* was aimed. Fresh-squeezed watermelon juice inoculated by lactic acid bacteria were left for lactic acid fermentation during 18 hours at 37 °C. Total acidity, pH, total viable lactic acid bacteria, colour and soluble solid content were analysed during fermentation. In addition, chemical (sugar, total antioxidant activity and total phenolic compounds) and sensory analyses were performed on samples at the beginning and end of the fermentation.

According to results of research, pH decreased with a concomitant increase of the total acidity during fermentation. The counts of total viable lactic acid bacteria rised significantly in all samples. Maximum number of with 10.0 log kob/mL was found in the sample inoculated by *Lb. plantarum*. In fermented watermelon juices, total acidity (as lactic acid) and pH contents varied in the range of 1.16-3.30 g/L and 4.28-4.81.

Lactic acid fermentation affected colour parameters of watermelon juices beneficially. CIE-L*, a* ve b* parameters of all samples after fermentation were found higher than before fermentation.

Soluble solid and total sugar content of samples decreased during fermentation. As saccharose and glucose content of samples were increasing, fructose content reduced.

Total phenolic compounds of fermented watermelon juices were more than total phenolic compounds of unfermented watermelon juice. While total phenolic compounds content of samples were varied in the range of 133.86-137.04 mg catechin equivalent/L at the beginning of fermentation, this range were changed as 151.86-201.94 mg catechin equivalent/L at the end of fermentation. It was determined that watermelon juice by inoculated *Lb. plantarum* had maximum

number of total phenolic compounds with number of 201.94 mg catechin equivalent/L.

Total antioxidant activity was analysed by TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) method. Total antioxidant activity of all samples increased during fermentation. While total antioxidant activity of samples was found in the range of 3.78-4.88 $\mu\text{M TE}/100\text{ g}$ at the beginning of fermentation, this range were 4.60-7.53 $\mu\text{M TE}/100\text{ g}$ at the end of fermentation. It was determined that watermelon juice inoculated by *Lb. plantarum* had the highest antioxidant activity with 7.53 $\mu\text{M TE}/100\text{ g}$.

According to the results of sensory analyses, the most preferred watermelon juice were the sample produced by *Lb. plantarum*. The level of general preference of other three samples, exception of sample produced by *Lactobacillus plantarum*, decreased significantly after fermentation process.

Anahtar kelimeler: Watermelon juice, lactic acid fermentation, lactic acid bacteria, probiotic

İTHAF

İlk Öğretmenim, Sevgili Dedeme

TEŞEKKÜR

Anlayışı, hoşgörüsü ve rehberliği ile tez çalışmam süresince desteğini hep hissettiğim Tez Danışmanım Sayın Doç. Dr. İbrahim Çakır'a; çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, ayrıca çalışmalarımın bir bölümü için laboratuvarlarından faydalandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Ömer Zorba, Yrd. Doç. Dr. Hande Selen Erge ve Ahmet Yaman'a (Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü); mikrobiyolojik ve istatistiksel analizlerde emeği bulunan Uzman M. Fatih İşleyen'e (Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü); Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı ile yüksek lisans eğitimime ve tezime olan katkılarından ötürü TÜBİTAK-BİDEB'e; hızlı yöntemlerle mikrobiyolojik analizleri gerçekleştiren Çetin Ertuğrul ile şeker analizlerini gerçekleştiren Özgür Fidan'a (Bolu Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü); hoşgörü ve fedakârlıklarıyla tezim boyunca destek ve teşviklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma (Fatih İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü) ve bana olan güven ve inançları sayesinde kendime olan güvenim ile yapabileceklerime olan inancımı hep diri tutan sevgili aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
İTHAF.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	5
2.1. Karpuz Üretimi ve Karpuzun Özellikleri.....	5
2.2. Karpuz Suyu Üretiminde Kullanılan Muhafaza Yöntemleri.....	8
2.2.1. Isıl İşlem ile karpuz suyu üretimi.....	8
2.2.2. Karpuz suyunun diğer meyve suları ile karıştırılması.....	9
2.2.3. Vurgulu elektrik alan (VEA) uygulaması ile karpuz suyu üretimi	11
2.2.4. Yüksek hidrostatik basınç (YHB) uygulaması ile karpuz suyu üretimi.....	14
2.2.5. Ultraviyole (UV) ışınlama metodu ile karpuz suyu üretimi	15
2.2.6. Ultrasonikasyon uygulaması ile karpuz suyu üretimi	16
2.2.7. Fermantasyon ile karpuz suyu üretimi	17
2.3. Probiyotik Meyve ve Sebze Suları Üretimi	19
2.3.1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar	20
2.3.2. Probiyotik mikroorganizmaların seçim kriterleri.....	22
2.3.3. Probiyotiklerin etki mekanizması	23
2.3.4. Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerindeki olumlu etkileri	24
2.3.5. Laktik asit fermantasyonu ile probiyotik meyve ve sebze suyu üretimi üzerine yapılan araştırmalar.....	25

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
3.1. Materyal	31
3.1.1. Bakteri kültürleri	31
3.1.2. Karpuz suyu	31
3.1.3. Bakterilerin aktifleştirilmesinde ve sayımında kullanılan kültür ortamları ve kimyasallar.....	32
3.2. Yöntem.....	33
3.2.1. Karpuz suyunun elde edilmesi	33
3.2.2. Kültürlerin aktifleştirilmesi.....	34
3.2.3. Fermantasyon	34
3.2.4. Analiz yöntemleri.....	36
3.2.4.1. Laktik asit bakterisi ve maya-küf analizleri	36
3.2.4.2. pH tayini.....	37
3.2.4.3. Toplam asit tayini.....	37
3.2.4.4. Renk tayini	37
3.2.4.5. Suda çözünür kuru madde tayini.....	37
3.2.4.6. Şeker tayini	38
3.2.4.7. Toplam fenolik madde tayini	38
3.2.4.8. Antioksidan aktivite tayini	39
3.2.4.9. Duyusal analizler.....	41
3.2.4.10. İstatistiksel analizler.....	42
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	44
4.1. Denemelerde Kullanılan Karpuz Suyunun Bileşimi	44
4.2. Karpuz Suyu Fermantasyonunda Laktik Asit Bakterilerinin Gelişimi	45
4.3. Fermantasyon Süresince pH Değişimi.....	54
4.4. Fermantasyon Süresince Toplam Titrasyon Asitliği Değişimi	58
4.5. Fermantasyon Süresince Renkte Oluşan Değişmeler	61
4.6. Suda Çözünür Kuru Madde ve Şeker Analizi Sonuçları.....	65
4.7. Toplam Fenolik Madde Miktarındaki Değişiklikler	68
4.8. Antioksidan Aktivitede Meydana Gelen Değişimler	71
4.9. Duyusal Analiz Sonuçları	74

5.	SONUÇLAR.....	78
6.	KAYNAKLAR	83

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Karpuzda bulunan karotenoid madde dağılımı, (mg/kg).	6
Çizelge 2.2. Probiyotik ürünlerde yaygın olarak kullanılan mikrobiyal türler	21
Çizelge 4.1. Karpuz sularının bileşimi.....	52
Çizelge 4.2. Toplam laktik asit bakterisi sayısının fermantasyonla değişimi	46
Çizelge 4.3. 2. Tekerrür örneklerinde elde edilen bakteri ve maya-küf sayıları	48
Çizelge 4.4. Fermantasyonla pH değişimi	55
Çizelge 4.5. Fermantasyon süresince toplam titrasyon asidi miktarındaki değişim	59
Çizelge 4.6. Fermantasyon süresince karpuz suyunun renk değerlerindeki değişim.....	62
Çizelge 4.7. Suda çözünür kuru madde içeriği (°Brix)	65
Çizelge 4.8. Fermantasyon başlangıcında ve sonunda örneklerde bulunan şeker miktarı	68
Çizelge 4.9. Karpuz suyunda fermantasyon süresince toplam fenolik madde miktarındaki değişim.....	69
Çizelge 4.10. Karpuz suyunda fermantasyon süresince antioksidan aktivitedeki değişim	72
Çizelge 4.11. Fermente karpuz sularının duyu analizi sonuçları	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan karpuzlardan bazıları	32
Şekil 3.2. Fermente karpuz suyu üretim şeması.....	35
Şekil 3.3. Kateşin standart kurvesi.....	39
Şekil 3.4. ABTS*+ radikalinin Troloks standardına ait % inhibisyon kurvesi	41
Şekil 3.5. Duyusal analiz formu.....	42
Şekil 4.1. Fermantasyon süresince laktik asit bakterisi sayısındaki değişim.....	51
Şekil 4.2. Fermantasyonla pH değeri değişimi	56
Şekil 4.3. Fermantasyon süresi boyunca toplam titrasyon asitliğindeki (g/L) değişim	60

1. GİRİŞ

Karpuz, Afrika, Asya ve Akdeniz'in sıcak bölgelerinde yetişen ve *Cucurbitaceae* familyasına giren *Citrullus* cinsi 4 tür olup, bu türler diploid ($2n=22$) kromozom sayısına sahiptirler. Adı geçen türlerden *C. lanatus* (Thunb.) Matsum. ve Nakai günümüzde ticari olarak yetiştiriciliği yapılan ve karpuz olarak tüketilen türüdür. Diğer türler ise *C. colocynthis* (L.) Schrad., *C. eccirrhosus* ve *C. rehmii* De Winter'dir. *C. lanatus* ve *C. rehmii* tek yıllık türler iken, *C. colocynthis* ve *C. eccirrhosus* çok yıllık türlerdir. Tüm *Citrullus* türlerinin gen merkezi Afrika'dır. Türkiye ise karpuzun ikincil gen merkezleri arasındadır (Karipçin 2009).

Karpuz tarımı, dünyada ve ülkemizde oldukça geniş bir alanda yapılmaktadır (Tuna ve Özer 2005). FAO'nun 2007 kayıtlarına göre, Dünya'da 3.601.910 ha alanda 93.173.000 ton karpuz üretilmektedir (Karipçin 2009). Türkiye, yıllık üretim kapasitesiyle karpuz üretimi yapılan ülkeler içinde önemli bir yere sahiptir. (Hayaloğlu ve Fenercioğlu 1990). Aynı kayıtlara göre ülkemizde 123.000 ha alanda 3.445.441 ton karpuz üretimi gerçekleştirilmektedir. Karpuz, başta Ege bölgesi olmak üzere tüm bölgelerimizde yetiştirilir. Sıcak iklim sebzesi olan karpuz, Ege ve Akdeniz bölgelerinde sulu koşullarda geniş alanlarda yetiştirilmektedir. Özellikle yüksek hava sıcaklığı, yüksek buharlaşma oranı ve kuru koşullara sahip bölgelerde yerel genotipler başta olmak üzere ve doğrudan tohum ekimiyle geniş alanlarda

yetiştirilen karpuz, ayrıca sulu koşullarda hem açık tozlanan hem de hibrit çeşitlerle yetiştiriciliği yapılan bir sebzedir. (Karipçin 2009). Soğuklardan çok etkilendiği için yetişme devresinde don tehlikesi olmamalıdır (Tuna ve Özer 2005).

Karpuz, daha çok mevsimi içinde taze olarak tüketilmektedir. Aromatik tadı, cazip rengi ve tekstür özelliklerinden dolayı özellikle yaz aylarında tüketiciler tarafından tercih edilmektedir. Fakat, bazı yıllarda çeşitli nedenlerle tüketilemeyen ürün, hasat edilmeden tarlada bozulmaya terk edilmekte ve bu durum ekonomik ve tarımsal sorunlara neden olmaktadır (Hayaloğlu ve Vardin 2001, Fenercioğlu 1993). Karpuz, kırmızı etli, sulu, az aromalı, tatlı ve çok ferahlatıcı bir sebzedir (Acar 1988). Sayılan bu özellikleri ve canlı rengi sayesinde de karpuz, meyve suyu endüstrisinde kullanılmaya oldukça elverişlidir (Hayaloğlu ve Vardin 2001).

Karpuzdan ticari karpuz suyu üretimi ilk defa 1942 yılında Yawger tarafından Amerika Birleşik Devletleri'nde gerçekleştirilmiş ve bu yöntem patent ile korunmuştur. (Fenercioğlu 1993, Hour ve ark. 1980a). Ferahlatıcı tadı, cazip rengi ve sağlık üzerindeki potansiyel faydaları sebebiyle karpuz suyunun popülerliği gün geçtikçe daha da artmaktadır (Aguiló-Aguayo ve ark. 2010a, Hour ve ark. 1980a).

İçerdiği vitamin, mineral ve pigmentlerin düzenleyici fonksiyonu ve antioksidanların koruyucu etkisi sayesinde karpuz gibi karpuz suyunun tüketimi de büyük önem arz etmektedir. Fakat, herhangi bir proses işlemine tabi tutulmayan taze sıkılmış karpuz suyu, düşük asitliği (pH, 5.2-6.7) ve yüksek su aktivitesi (0.97-0.99) sebebiyle patojenik mikroorganizmaların gelişmesi için oldukça elverişlidir. Bu nedenle, taze sıkılmış karpuz suyu mikrobiyel kökenli hastalıklara yola açabilmektedir. Karpuz, toprağa yakın yetiştirilen bir meyve olduğu için kabuk

yüzeyinde oluşabilecek mikrobiyel kontaminasyonları önlemek çok zordur. Karpuz kesildiğinde, kabuğa kontamine olmuş *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* gibi mikroorganizmalar, içteki meyve kısmına, meyveden de karpuz suyuna geçmektedir (Mosqueda-Melgar ve ark. 2008, Sharma ve ark. 2005, Penteado ve ark. 2004a, Penteado ve ark. 2004b).

Peroksidaz, lipoksigenaz, pektin metil esteraz ve poligalaktüronaz gibi enzimler, diğer tüm meyve sularında olduğu gibi taze karpuz suyunda problem yaratan en önemli faktörlerdendir. Bu enzimler, karpuz suyunun renk, aroma ve viskozitesinde istenmeyen bir takım değişikliklere sebep olmaktadır. Karpuz suyunda bulunan peroksidaz aktivitesini azaltmak, özellikle renk ve aroma bozuklukları ile besin kaybını önlemek için zorunludur (Aguiló-Aguayo ve ark. 2010a, Aguiló-Aguayo ve ark. 2010b).

Gıda endüstrisinde, patojen ve bozulmaya neden olan mikroorganizmalar ile kalitenin düşmesine yol açan enzimlerin inaktive edilmesi ve ürünün raf ömrünün uzatılması amacıyla en yaygın olarak kullanılan gıda muhafaza yöntemi ısıl işlemdir (Aguilar-Rosas ve ark. 2007). Fakat ısıl işlem, mikroorganizma ve enzim inaktivasyonunda oldukça etkiliyken, gıdanın besinsel ve duyuşal özellikleri üzerinde olumsuz etkilere sahip olup, son ürün kalitesini düşürmektedir. Özellikle yüksek sıcaklıklarda yapılan ısıl işlemin etkisiyle gıdada bulunan uçucu tat-koku maddeleri, vitaminler ve diğer besin öğeleri kayba uğramakta, tekstür bozuklukları, off-flavour oluşumu gibi olumsuzluklar ortaya çıkmaktadır (Keyser ve ark. 2008, Aguilar-Rosas ve ark. 2007, Elez-Martinez ve ark. 2005). Son yıllarda gıdaların ısıl işlemlerle korunmasında gıdanın yapısında yüksek sıcaklıkların etkisiyle açığa çıkan olumsuzlukların ortadan kaldırılması amacıyla "ısıl olmayan yollarla" gıda

muhafazası önem kazanmıştır (Güleç 2006, Ross ve ark. 2003). Karpuz suyu üretimi ve muhafazası üstüne yapılan ilk araştırmalarda ısıtma işlemi kullanılmış, fakat son zamanlarda karpuz suyunun muhafazasında vurgulu elektrik alan (VEA), yüksek hidrostatik basınç (YHB), ultraviyole ışın (UV), termosonikasyon uygulamaları gibi alternatif yöntemler denenmiştir (Zhang ve ark. 2011, Rawson ve ark. 2011, Aguiló-Aguayo ve ark. 2009a, Mosqueda-Melgar ve ark. 2008 ve Hour ve ark. 1980a). Ayrıca karpuz suyunun fermente edilerek muhafaza edilmesi üzerine çalışmalar da mevcuttur (Fenercioğlu 1993).

Bu çalışmada taze sıkılmış ve herhangi bir işleme tabi tutulmamış karpuz suyu, bazı probiyotik özellikleri tanımlanmış olan *Lactobacillus helveticus* NRRL B-4526 standart suşu, *Lactobacillus acidophilus* KPb4b ve *Lb. plantarum* kültürleri ile uygun sıcaklıklarda fermente edilerek fermente karpuz suyu içeceği üretimi amaçlanmıştır. Fermantasyon işleminin karpuz suyunun toplam laktik asit bakterisi, pH, titrasyon asitliği, renk, şeker, suda çözünür kuru madde, toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarında nasıl bir değişikliğe yol açtığı belirli aralıklarla yapılan analizlerle belirlenmiştir. Ayrıca fermantasyon başında ve sonunda yapılan duyu analizleriyle tüketici beğenisinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Karpuz Üretimi ve Karpuzun Özellikleri

Kabuk, meyve eti ve çekirdeklerden oluşan karpuz, büyük, yuvarlak, oval veya dikdörtgenimsi bir şekle sahiptir (Altaş ve ark. 2011). Karbonhidrat içeriği %7'ye yakın olup, %91'den fazlası sudur (Jayaprakasha ve ark. 2011). Vitamin içeriği ise oldukça yüksek olup, ortalama olarak 590 IU A Vitamini, 0.2 mg/100g Niasin ve 0.7-7.0 mg/100 g C vitamini içermektedir (Altaş ve ark. 2011, Paksoy ve ark. 2010). B₁ ve B₆ başta olmak üzere B grubu vitaminleri de karpuzda bulunmaktadır (Quek ve ark. 2007). Karpuz, potasyum ve magnezyum yönünden de zengin bir sebzedir (Wang ve ark. 2007, Quek ve ark. 2007, Hour ve ark. 1980a). Ayrıca sitrullin aminoasidini doğal olarak en yüksek miktarlarda (0.7-3.6 mg sitrullin/g taze karpuz) içeren birkaç gıdadan biridir. Karpuzun ortalama sitrullin içeriği 1.5 mg/g olarak belirtilmiştir. Bu aminoasit, vücuda alındıktan sonra protein ve diğer molekülerin oluşumunda büyük bir biyolojik işlevi olan arjinin aminoasidine metabolize olmaktadır (Collins ve ark. 2007).

Karpuz, vitamin (A, B, C ve E) ve mineral (K, Mg, Ca ve Fe) içeriğinin yüksek olması ve bazı spesifik aminoasitleri (sitrullin, arjinin) barındırmasının yanında, karotenoidler, fenolik bileşikler ve antioksidanlar yönünden de oldukça

zengindir. (Rawson ve ark. 2011, Tlili ve ark. 2010). Karpuzda bulunan doğal bileşikler özellikle de likopen, askorbik asit ve dehidroaskorbik asit, ayrıca flavanoidler ve diğer fenolikler, serbest radikallere karşı gösterdikleri antioksidan özellik nedeniyle vücudu koruyucu etki göstermekte, bazı kanser türlerinin ve kardiyovasküler rahatsızlıkların oluşum riskini azaltmakta ve yaşlanmaya bağlı olarak hücrelerde meydana gelen yıkımı önlemektedir (Tlili ve ark. 2010, Edwards ve ark. 2003). Karpuzda bulunan karotenoidlerin dağılımına ilişkin farklı çalışmalarda elde edilmiş farklı veriler Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Karpuzda bulunan karotenoid madde dağılımı, (mg/kg) (Erge 2007).

β -karoten	α -karoten	Lutein+zeaksantin	Likopen	Araştırmacı
0.23	Çok az	0.014	4.5	Heinonen ve ark. (1989)
0.1-1.1	-	-	6.5-7.3	Barba ve ark. (2006)
-	-	-	2.3-7.2	Omoni ve Aluko (2005)
-	-	-	4.77	Lugasi ve ark. (2003)

Karpuzda doğal kırmızı rengini veren temel karotenoid pigmenti likopendir. Likopenin oluşumuna kadar geçen sürede pek çok reaksiyon ve dönüşüm gerçekleşmektedir. Karotenoidler, plastidlerde izopentenildifosfattan (IPP) oluşmaktadır. Biyosentezin ilk aşamasında IPP, dimetilallildifosfata (DMAPP) izomerize olmaktadır. DMAPP'den, geranilgeranildifosfatsentaz (GGPPsentaz) enzimi ile 20 karbonlu geranilgeranildifosfat (GGPP) oluşmaktadır. Fitoen sentaz enzimi ile 2 molekül GGPP'nin kondensasyonu sonucu fitoen oluşmaktadır. Fitoen, yapı bakımından birbirine benzeyen fitoen desaturaz ve ζ -karoten desaturaz enzimleri ile bir seri desatürasyon reaksiyonuna uğramaktadır. Her bir reaksiyonda hidrojen iyonlarının yapıdan ayrılmasıyla bir çift bağ meydana gelmekte ve sırasıyla fitofluen, ξ -karoten, nörosperen ve son olarak da likopen oluşmaktadır (Erge 2007). Karpuzda likopenin biriktirilme şekline bakıldığında ise olgunlaşmamış karpuz meyvesinde mezokarpın genellikle beyaz olduğu ve iz miktarda karotenoid içerdiği bilinmektedir. Olgunlaşmayla birlikte karotenoid içeriği artmakta ve renk kırmızıya dönmektedir. Karpuzda likopen miktarı ve renk oluşumunda genetik farklılıklar önemli rol oynamaktadır (Tadmor ve ark. 2005).

Fenolik bileşikler, bitkilerin metabolizmalarında sekonder metabolit olarak sentezlenen ve büyük bir olasılıkla kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri olduğu sanılan antimikrobiyel ve antioksidan etkili bileşiklerdir (Saldamlı 2007). Karpuzda bulunan fenolik bileşikler, besleyici ve antioksidan özelliklerinin yanı sıra karpuz suyunun renk, aroma tekstür gibi duyuşsal özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Rodríguez ve ark. 2009). Karpuzda en fazla bulunan fenolik maddeler hemen hemen her meyvede bulunan kateşin, gallik asit, klorojenik asitler ve luteolindir (Anonim).

2.2. Karpuz Suyu Üretiminde Kullanılan Muhafaza Yöntemleri

2.2.1. Isıl işlem ile karpuz suyu üretimi

Karpuzdan ticari karpuz suyu üretimi ilk defa 1942 yılında Yawger tarafından Amerika Birleşik Devletleri'nde gerçekleştirilmiş ve bu yöntem patent ile korunmuştur. Zayıf asitlerle pH derecesi düşürülen ürün, kalayla kaplı teneke kutu ve cam şişeler içine konulduktan sonra 87.8-100 °C'de ısıtılarak pastörize edilmiştir. Son ürünün saklama süresince renk, tat ve aroma özellikleri büyük ölçüde korunabilmiştir (Fenercioğlu 1993, Hour ve ark. 1980a).

Karpuz suyunun bir diyet içeceği olarak kullanıldığı Rusya'da araştırmacılar, ürün asitliğini arttırmak amacıyla, zayıf asitler yerine ekşi erik ve ekşi elma pürelerinin kullanımını önermişlerdir (Fenercioğlu 1993).

ABD'de üretilen karpuzun taze olarak tüketilemediği yıllarda karşılaşılan sorunları çözmek amacıyla yaptıkları çalışmada Hour ve ark. (1980), ısıl işlemle karpuz suyunu 65 °Brix'e kadar konsantre etmiştir. Başlangıç çözünür kuru madde içeriği 9.8 °Brix olan "Charleston Cray" karpuz çeşidinden elde edilmiş karpuz suyu yüksek sıcaklık-kısa süre uygulamasıyla 65 °Brix'e kadar koyulaştırılmış ve ürün -21 °C'de 18 ay muhafaza edilmiştir. 6 ayda bir yapılan analizler sonucunda ürünün herhangi bir renk kaybına uğramadığı ve karpuz suyunda dominant olan likopen pigmentinin ekstraksiyonla elde edilebileceği görülmüştür. Konsantrenin geri sulandırılmasıyla elde edilen ürünün taze karpuz suyunun tadına benzerlik gösterdiği belirtilmiştir (Hour ve ark. 1980a).

Hayaloğlu ve arkadaşlarının karpuz suyunun pastörize edilerek dayandırılması amacına dayanan çalışmasında karpuz sularında en çok tercih edilen şeker-asit oranının 11:0.8 (%) olduğu belirlenmiş ve 70 °C’de 5 veya 10 dakikalık muamelenin mikrobiyel inaktivasyon için yeterli olmadığı ortaya çıkarılmıştır. 80 °C’de 5 dakikalık ısıtıl işlemin ise pastörizasyon için yeterli olduğu, fakat tüm pastörize karpuz sularının tat ve aromasının bu uygulamadan hissedilir derecede olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir. Ayrıca, -20 °C’de depolanan karpuz suyu örneklerinin depolama sıcaklığından olumsuz etkilenmediği görülmüştür. Depolama süresince karpuz suyunda renk, tat ve aroma özellikleri gibi duyuşal özellikler bakımından herhangi bir değişme olmamıştır (Hayaloğlu ve Fenercioğlu 1990).

2.2.2. Karpuz suyunun diğer meyve suları ile karıştırılması

Karpuz suyunun tat ve aromasının ısıtıl işlemden olumsuz etkilenmesi üzerine karpuz suyunun diğer meyve sularıyla karıştırılarak tüketilmesi üzerine araştırmalar da yapılmıştır. Yüksek früktoz:glukoz oranı sayesinde karpuz suyu, diğer meyve sularının tatlandırılmasında kullanılabilmektedir (Hayaloğlu ve Vardin 2001).

Hour ve ark. 1980 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada, karpuz suyunu ananas, portakal ve greyfurt sularıyla farklı seçim ve oranlarda karıştırmışlar ve duyuşal testlerle tüketici beğenilerini ölçmüşlerdir. Hazırlanan 10 farklı içecekten en az beğeniyi %100 karpuz suyundan olan, en yüksek beğeniyi ise %80 karpuz, %10 ananas ve %10 portakal suyundan oluşan içecek almıştır. Ayrıca, %80’e kadar

karpuz suyu içeren örneklerin kabul edilebilir olduğu bulunmuştur (Hour ve ark. 1980b).

Karpuz suyu, meyve suyu karışımlarına hoş bir renk ve aroma kazandırmaktadır. Yapılan bir diğer araştırmada Hour ve ark. (1980), beyaz greyfurt suyunun rengini pembeleştirmek ve tadını iyileştirmek amacıyla greyfurt suyu ve karpuz suyunu karıştırmışlardır. 60 °Brix'e kadar koyulaştırılmış karpuz suyundan katılan çok az bir miktar bile greyfurt suyunun renk ve aromasını büyük ölçüde değiştirmiştir. En fazla beğeni kazanan örnekler, içerisinde en fazla karpuz suyu konsantresi içerenler olmuştur. 5-27 °C'de 15-45 gün saklanan örneklerin renginde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Fenercioğlu 1993, Hour ve ark. 1980c).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise Fenercioğlu ve ark. (1993), karpuz, vişne ve elma sularının çeşitli oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen 10 farklı örneği duyuusal testlere tabi tutmuşlardır. Örnekler içinde en fazla beğeniyi %50 karpuz, %25 vişne ve %25 elma suyu içereni, en düşük beğeniyi ise tamamı karpuz suyundan oluşan örnek almıştır. Vişne suyu katkılı olan karpuz suları, elma suyu katkılı olanlara oranla daha fazla beğeni toplamıştır (Fenercioğlu ve ark. 1993).

Bir diğer çalışmada, Hayaloğlu ve Vardin (2001), farklı oranlarda karpuz ve nar suyu kullanılarak elde edilen meyve suyu karışımlarının tüketiciler tarafından kabul edilebilirlik düzeylerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Yapılan duyuusal değerlendirmeler sonucunda Brix:Asit oranı 13:1'e ayarlanmış örnekler daha çok beğeni kazanmıştır. Tüm örnekler içerisinde en fazla tercih edilen %75 karpuz +%25 nar suyu ve %75 nar +%25 karpuz suyu içeren örnekler olmuştur (Hayaloğlu ve Vardin 2001).

2.2.3. Vurgulu elektrik alan (VEA) uygulaması ile karpuz suyu üretimi

VEA uygulaması, uygulandığı gıdanın besinsel ve duyuşal özelliklerini önemli ölçüde korurken, bozulma etmeni ve patojen mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktive edildiğı alternatif bir muhafaza yöntemidir. Bu teknoloji, kesikli ya da sürekli sistemlerde iki elektrot arasına yerleştirilen gıda maddelerine kısa sürelerde (μs - ms), yüksek elektrik voltaj uygulaması (genellikle 20–80 kV/cm) prensibine dayanmaktadır. Proses düşük sıcaklıklarda ($<50\text{ }^{\circ}\text{C}$) gerçekleştirilmekte olup, bu teknikte ısııl işleme oranla daha az enerji harcanmaktadır (Mosqueda-Melgar ve ark. 2008, Elez-Martinez ve ark. 2006). Yöntem sıvı gıdalarda daha başarılı sonuçlar vermektedir (Güleç 2006).

Karpuz suyunun VEA yöntemi ile muhafazası üzerine de son yıllarda yapılan çalışmaların sayısında artış gözlenmektedir. Fakat bu araştırmalar genel olarak, karpuz suyunun rengi, viskozitesi ve besinsel içeriğı üzerine yoğunlaşmış olup, karpuz suyunda doğal olarak bulunan mikroorganizmaların inaktivasyonuna yönelik çalışmalar sınırlı düzeyde kalmıştır. Bu çalışmalardan birinde Mosqueda-Melgar ve ark. (2007), vurgulu elektrik alan (VEA) yöntemini kullanarak karpuz suyuna inoküle ettikleri *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes* popülasyonları üzerinde frekans ve muamele süresinin etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonunda, VEA uygulamasının karpuz suyuna inoküle edilen *S. enteritidis*, *E. coli* ve *L. monocytogenes* mikroorganizmalarında sırasıyla 3.56 ± 0.12 , 3.6 ± 0.4 ve 3.41 ± 0.13 log birimlik azalma sağladığı belirlenmiştir (Mosqueda-Melgar ve ark. 2007).

VEA tekniğinin, meyve ve sebze sularında bakteriyosinler, enzimler, esansiyel yağ asitleri ve organik asitler gibi doğal antimikrobiyel maddelerle kombinasyon halinde kullanımının, mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkiyi arttırdığı bilinmektedir. Mosqueda-Melgar ve ark. (2008), yaptıkları bir diğer araştırmada karpuz suyunda raf ömrünü uzatmak ve patojenik mikroorganizmaları inaktive etmek için, yüksek şiddetli vurgulu elektrik alan (HIPEF) yöntemi ile doğal antimikrobiyel maddeleri (sitrik asit ve tarçın kabuğu yağı) kombine halde denemişlerdir. Çalışmada farklı konsantrasyonlarda sitrik asit ve tarçın kabuğu yağı kullanılmış ve bu kombinasyonların *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* ve *Listeria monocytogenes* popülasyonlarına karşı etkisi incelenmiştir. Araştırma sonucunda, sırasıyla %1.5 ve %2.0 sitrik asit veya %0.2 tarçın kabuğu yağı içeren karpuz suyunda 193 Hz'de 35 kV/cm şiddetinde elektrik alana 4 µs süresince maruz kalan her üç mikroorganizmanında 5 log birimden daha fazla azaldığı görülmüştür. Bu muamele ile mezofilik ve psikrofilik bakteriler ile maya ve küf popülasyonları inaktive edilebilmiş ve karpuz suyunun 5 °C'de 91 günden daha fazla bir süre raf ömrüne sahip olduğu belirlenmiştir (Mosqueda-Melgar ve ark. 2008).

Karpuz suyunun en temel özelliklerinden biri onun cazip ve canlı rengidir. Bu özelliği karpuz suyunun tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle esmerleşme reaksiyonları, karpuz suyunda istenmeyen reaksiyonlardır. HIPEF prosesi, gıda güvenliği ve stabilitesini sağlamada ısı işlem kadar etkili olmasa da, karpuz suyunun başlangıçtaki doğal ve canlı rengini koruma konusunda oldukça yararlı etkilere sahiptir. Aguiló-Aguayo ve ark. (2009), çilek, domates ve karpuz sularını HIPEF prosesine tabi tutmuşlar ve böylece enzimatik

olmayan esmerleşme reaksiyonlarından kaçınmayı amaçlamışlardır. Çalışmanın sonucunda, HIPEF uygulamasına maruz kalan ürünlerin renginin ısıtma işlemi uygulananlara oranla daha iyi olduğu, ayrıca oluşan HMF konsantrasyonunun da bu ürünlerde daha düşük olduğu saptanmıştır. (Aguiló-Aguayo ve ark. 2009b).

Aguiló-Aguayo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2010), HIPEF ve ısıtma işlemi proseslerine tabi tutulan karpuz suyunun renk ve viskozite özellikleri incelenmiştir. Araştırmada, karpuz suları HIPEF ve ısıtma işlemi proseslerinin ardından 4 °C’de 56 gün depolanmıştır. Depolama sonucunda HIPEF’e maruz kalan karpuz sularının ısıtma işlemi görmüş olanlara oranla daha parlak ve canlı bir renge ve daha yüksek viskoziteye sahip olduğu görülmüştür (Aguiló-Aguayo ve ark. 2010a).

Karpuz suyunda aroma, tüketici tarafından tercih edilmede önemli bir kriterdir. Yapılan çalışmalar, karpuz aromasının 75 kadar bileşenden oluşan kompleks bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu bileşenler içinde miktar bakımından en fazla bulunanlar, aldehit, keton, alkol ve furanlardır. Isıtma işlemi prosesi ve sonrasındaki depolama işlemi sırasında aroma bileşenleri büyük ölçüde kayba uğramaktadır. Aguiló-Aguayo ve ark. (2010) yaptıkları bir çalışmada, ısıtma işlemi ve HIPEF prosesine tabi tutulan karpuz sularının aroma bileşimindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Araştırmada, karpuz suları HIPEF ve ısıtma işlemi proseslerinin ardından 4 °C’de 56 gün depolanmıştır. Araştırma sonucunda hekzanal, (E)-2-nonanal, nonanal, 6-metil-5-hepten-2-on ve geranilaseton konsantrasyonlarının HIPEF prosesinde ısıtma işlemi oranla yaklaşık %20 daha fazla olduğu bulunmuştur. Ayrıca, 21 günlük depolamadan itibaren HIPEF’le muamele edilmiş karpuz suyu aromalarının duyusal yönden ısıtma işlemi uygulanmış olanlara oranla daha iyi ve yoğun olduğu tespit edilmiştir (Aguiló-Aguayo ve ark. 2010c).

2.2.4. Yüksek hidrostatik basınç (YHB) uygulaması ile karpuz suyu üretimi

YHB uygulaması; sıvı veya katı gıdaların, ambalajlı veya ambalajsız olarak 100–1000 MPa basınca maruz bırakılmasıyla yapılan bir işlemdir (Özlü ve Atasever 2007). Bu uygulamadaki basıncın mikroorganizmaların yıkımına olan etkisi; protein denaturasyonu veya modifikasyonuna, enzim aktivasyonu veya inaktivasyonuna, karbonhidratların ve yağların özelliklerindeki değişikliklere olan etkisinden daha fazladır (Deliza ve ark. 2005). YHB uygulamasının, özellikle meyve suyu endüstrisinde kullanımı üzerine yapılan pek çok araştırma vardır (Varela- Santos ve ark. 2011, Patterson ve ark. 2011, Bayındırlı ve ark. 2006).

Karpuz suyu üzerine YHB uygulamasının etkisini ölçmek üzere yapılan araştırmalar sınırlı düzeydedir. Bu araştırmalardan birinde Zhang ve ark. (2011), ısıtma işlemi, ultraviyole ışınlama ve yüksek basınç uygulaması yöntemlerinin karpuz suyunun kalite parametreleri (renk, esmerleşme derecesi, dinamik viskozite, pektin metilesteraz inaktivasyonu ve likopen içeriği) üzerine etkisini karşılaştırmıştır. Çalışmanın sonucunda, her bir muamelenin parametreler üzerinde farklı etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Yüksek basınç muamelesi, renk, likopen konsantrasyonu, dinamik viskozite ve esmerleşme derecesi üzerinde diğer yöntemlerden daha az değişikliğe neden olmuştur. Özetle, yüksek basınç uygulamasının karpuz suyunun muhafaza edilmesinde diğer yöntemlere oranla daha olumlu sonuçlar verdiği bulunmuştur (Zhang ve ark. 2011).

Bir diğer araştırmada ise ılımlı ısıtma işlemi ve yüksek basınç uygulamasının kombine bir şekilde kullanımının, karpuz suyunun kalite parametreleri üzerine

etkilerini incelemiştir. Çalışma sonucunda polifenoloksidaz, peroksidaz ve pektin metilesteraz enzimlerinin tümünün aktivitesi bu kombine işlemle önemli ölçüde azalma göstermiştir. pH, likopen içeriği ve esmerleşme derecesinde azalma meydana gelmiştir. Titrasyon asitliği artmış, viskozite ise değişmemiştir. Sonuç olarak, bu yüksek basınç uygulaması ve ılımlı ısı işlem kombinasyonunun kaliteli karpuz suyu üretiminde çok önemli avantajlara sahip olduğu belirlenmiştir (Liu ve ark. 2011).

2.2.5. Ultraviyole (UV) ışınlama metodu ile karpuz suyu üretimi

Meyve ve sebze sularının muhafazası için uygulanan ısı olmayan teknolojilerden biri de UV ışınlamadır. Bu uygulama, geleneksel ısı işlem tekniklerine göre daha düşük sıcaklıklarda yürütüldüğünden, sıcaklığın meyve suyu kalitesi üzerine olumsuz etkisi en aza indirilmektedir. UV ışın teknolojisindeki son gelişmeler bu teknolojinin, meyve sularının muhafazasında uygulanan pastörizasyon işlemine bir alternatif olabileceği konusunda oldukça ümit verici olduğunu göstermektedir (Uysal-Pala ve Kırca-Toklucu 2010). Elma, portakal, ananas, mango ve tropikal meyve sularının muhafazası üzerine yapılmış olan çalışmalar mevcuttur (Keyser ve ark. 2008, Guerrero-Beltran ve Barbosa-Canovas 2005, Tran ve Farid 2004).

Zhang ve ark. (2011), ısı işlem, ultraviyole ışınlama ve yüksek basınç uygulaması yöntemlerinin karpuz suyunun kalite parametreleri üzerine etkisini inceledikleri araştırmada pektin metilesteraz enziminin inaktivasyonu, ultraviyole ışınlama yönteminde aynı sıcaklık ve sürede uygulanan diğer yöntemlere oranla daha

fazla olmuştur. Fakat tüm parametreler göz önüne alındığında ultraviyole ışınlama metodu, yüksek basınç uygulamasının gerisinde kalmıştır (Zhang ve ark. 2011).

Taze kesilmiş karpuzla uygulanan UV ışınlama metodunun karpuzun mikrobiyel yükü ve kalitesi üzerine etkilerinin incelendiği araştırmalarda, bu metodun karpuzu yüzey kontaminasyonlardan koruma da başarılı olduğu görülmüştür. Karpuz yüzeyinde oluşan ince yüzey tabakası sayesinde karpuzun sertlik ve bütünlüğünün korunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca UV ışınlarının karpuzun renk ve görsel özelliklerinde önemli değişikliklere neden olmadığı ve UV ışınlarına maruz kalan karpuz örneklerinin UV ışınları uygulanmamış örneklerle oranla daha iyi bir aromaya sahip olduğu belirlenmiştir (Manzocco ve ark. 2011, Fonseca ve Rushing 2006).

2.2.6. Ultrasonikasyon uygulaması ile karpuz suyu üretimi

Ultrason veya bir başka deyişle ultrasonikasyon gıda endüstrisi için umut vadeden alternatif teknolojilerden biridir. Termosonik (ısı ve sonikasyon), manosonik (basınç ve sonikasyon) ve manotermosonik (ısı, basınç ve sonikasyon) işlemler mikroorganizmaların inhibisyonu amacıyla etkili bir şekilde kullanılabilir. Termosonikasyon işleminde yani ultrason uygulamasının ısı ile kombine kullanılması durumunda, uygulanan ısıl işlemin yoğunluğu ve uygulanma süresi, dolayısıyla açığa çıkabilecek olumsuzluklar en aza indirgenmiş olur (Güleç 2006).

Karpuz suyunun termosonikasyon uygulaması ile muhafazası üzerine yapılan tek çalışmada Rawson ve ark. (2011), termosonikasyon uygulamasının taze sıkılmış karpuz suyunda bulunan biyoaktif bileşenler üzerindeki etkisi incelemiştir. Renk değerleri, likopen, fenolik madde ve antioksidan madde içeriği ölçülmüştür. Sonuçlara göre uygulama süresi ve genlik arttıkça likopen, askorbik asit ve fenolik madde içeriği önemli ölçüde azalmıştır. Termosonikasyon uygulamasının karpuz suyunun kalite parametrelerini önemli ölçüde etkilediği ortaya çıkmıştır (Rawson ve ark. 2011).

2.2.7. Fermantasyon ile karpuz suyu üretimi

Laktik asit fermantasyonu, sebze sularının duyusal, besinsel ve raf ömrü özelliklerini büyük ölçüde korumaktadır (Cagno ve ark. 2009, Demir ve ark. 2006). Sebze sularının laktik asit fermantasyonu ile muhafazası üç farklı şekilde olmaktadır. Bunlar; (i)sebze sularının doğal olarak yapısında bulundurduğu antagonistik mikroorganizmalar ile fermantasyonu, (ii) herhangi bir proses işlemine tabi tutulmamış sebze sularına starter kültür eklenmesiyle gerçekleşen kontrollü fermantasyon ve (iii) ısıtılma işlemine tabi tutulmuş sebze sularının starter kültür ilavesiyle fermantasyonudur. (ii) numaralı laktoferment yöntemi ile sebze suyu ve sebze mayşesinin starter kültür adı verilen mikroorganizmalar ile kontrollü ve çabuk fermantasyonu sağlanır. Bu yöntem ile laktik asit fermantasyonu yönlendirilir, kontrol edilir ve aynı zamanda da ortamda bulunabilen istenmeyen mikroorganizmaların üremesi engellenir. Laktik asit bakterileri ortama hakim olur ve

böylece renk ve tat değişimleri de engellenmiş olur (Özdemir ve Acar 1996, Gökmen ve Acar 1992). Mikroorganizmalar olmadan fermantasyonun gerçekleştirilmesi mümkün değildir (Cagno ve ark. 2009).

Laktik asit bakterileri (LAB), genellikle hücre morfolojilerine veya glukozu parçalamak için kullandıkları fermantasyon yoluna göre sınıflandırılmaktadır (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010, Stiles ve Holzapfel 1997). Gram pozitif çubuk ve koklardan oluşan LAB, *Firmicutes* filumuna ait çeşitli bakteri cinslerinden oluşmaktadır. Spor oluşturmayan ve katalaz negatif olan bu grubun önemli cinsleri arasında *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* yer almaktadır. Bütün LAB anaerobik koşullar altında gelişim gösterebilmektedir. Ancak, pek çok anaerobik bakterinin tersine oksijene karşı duyarlı değildirler, yani oksijen varlığında da gelişim gösterebilmektedirler. Bu nedenle de aerotolerant anaerob organizmalar olarak adlandırılmaktadırlar. Fermantasyon sonucu ana ürün olarak laktik asit üreten bu bakteriler sitokrom içermemekte ve elektron taşıma sistemi taşımamaktadırlar. Bu nedenle LAB'da enerji eldesi yalnızca substrat düzeyinde fosforilasyon ile gerçekleştirilmektedir. (Dinçer ve ark. 2009, Kılıç 2008).

LAB, glukozu parçalama yollarına göre homo- ve heterofermantatif laktik asit bakterileri olmak üzere ikiye ayrılır. Homofermantatif LAB (Bazı *Lactobacilluslar*, *Pediococcus*, *Lactococcus* vb.) Embden-Meyerhof Parnas yolunu kullanarak şekerlerden esas ürün olarak laktik asit oluştururken, heterofermantatif LAB (Bazı *Lactobacilluslar*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* vb.) heksozmonofosfat (pentoz fosfat yolunu) kullanarak birincil ürün olarak laktik asit

yanında, etil alkol, asetik asit, diasetil ve karbondioksit gibi ikincil ürünleri de üretirler (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010, Fettahoğlu, S. 2009, Kılıç 2008). Sebze ve meyve sularının fermantasyonunda en sık kullanılan LAB, homofermantatif *Lactobacillus* cinsi bakterileridir. *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus xylosus*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus delbruckii* ve *Lactobacillus brevis*'dir (Cagno ve ark. 2009, Gökmen ve Acar 1992). Bu mikroorganizmalar ile homofermantatif bir fermantasyon sağlanarak laktik asit oluşturulmaktadır (Gökmen ve Acar 1992).

Karpuz suyunun fermantasyonu üzerine literatürde göze çarpan tek çalışma Koreli bilimcilere aittir. Shin ve ark. (1978), tarafından gerçekleştirilen ve karpuz suyunun doğal yapısının korunarak veya fermantasyona tabi tutularak dayandırılması ile ilgili bir çalışmada, karpuzdan elde edilen meyve suyu oranının % 56.2 olduğu, pulpun 24 saat bekletme sonunda kolaylıkla ayrılabilirdiği, 100 °C'de 5 dakika ısıtmanın renk ve tat özelliklerini önemli seviyede değiştirmedeği ve pastörize karpuz suyunun laktik asit fermantasyonu ile elde edilen içeceğe göre daha çok tercih edilebilir olduğu belirlenmiştir (Fenercioğlu 1993, Shin ve ark. 1978).

2.3. Probiyotik Meyve ve Sebze Suları Üretimi

Son günlerde tüketicilerin süt ürünleri dışında kalan probiyotik bazlı içeceklere ve bu organizmaları içeren kapsül, tablet gibi ürünlere artan bir ilgisi vardır. Bunun en büyük nedenleri süt ürünlerinin kolesterol içermesi, süt proteinlerinin alerjik etkileri ve laktozun bazı bireyler tarafından tolere

edilememesidir. Bu tür içecekler, cazip tadı, ferahlatıcı ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri sayesinde tüm yaş gruplarına hitap etmektedir (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010, Prado ve ark. 2008, Yoon ve ark. 2006).

Probiyotik mikroorganizmalar, çoğunlukla insan ve hayvan kökenli olmasına rağmen, yapılan çalışmalar probiyotik mikroorganizmaların süt ürünleri dışında kalan ve fermente olma özelliğine sahip meyve, sebze ve tahıllar gibi bazı substratlarda da bulunabileceğini göstermiştir (Pereira ve ark. 2011). Özellikle meyve sularına probiyotik ilavesi yapılan fonksiyonel içeceklere karşı dünyada artan bir talep vardır (Espirito Santo ve ark. 2011, Luckow ve ark. 2006). Meyve ve sebzelerin yapısal özelliklerini içerikte önemli bir değişiklik olmaksızın bazı teknolojik işlemlerle değiştirmek mümkündür. Böylece meyve ve sebzeler probiyotik kültürler için uygun bir substrat haline gelmektedir. Meyve ve sebzelerin vitamin, mineral, diyet lif ve antioksidan gibi besin öğelerini yeterli miktarda içermeleri de probiyotik kültürlerin gelişimi için elverişliliklerini arttırmaktadır (Pereira ve ark. 2011).

2.3.1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar

Probiyotikler, yeterli miktarlarda tüketildiğinde konakçı organizmanın gastrointestinal sistemi üzerine olumlu etkileri olan canlılar olarak tanımlanmaktadır (Champagne ve Garner 2008, Gueimonde ve Salminen 2006). Probiyotik olarak kullanılan en yaygın laktik asit bakterileri sınıflandırmada 6 gruba ayrılırlar. Bunlar; *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve

Bifidobacterium'dur. Bunlardan en önemlileri *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Bifidobacterium* cinsine ait türlerdir (Başyigit 2004, Çakır 2003). Fakat istenen probiyotik özelliklere sahip ve klinik olarak etkisi kanıtlanmış suşlar genellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsine ait türlerdir (Gueimonde ve Salminen 2006, Çakır ve Çakmakçı 2004). Probiyotik ürünlerde yaygın olarak kullanılan bazı mikrobiyal türler Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Probiyotik ürünlerde yaygın olarak kullanılan mikrobiyal türler

<i>Lactobacillus</i> Türleri	<i>Bifidobacterium</i> Türleri	<i>Enterococcus</i> Türleri
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Ent. faecalis</i> *
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Ent. faecium</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	
<i>L. gallinarum</i> *	<i>B. infantis</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. lactis</i>	
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. longum</i>	
<i>L. paracasei</i>		
<i>L. plantarum</i>		
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. rhamnosus</i>		

* Hayvanlarda kullanılmaktadır.

2.3.2. Probiyotik mikroorganizmaların seçim kriterleri

Gıdalara ilave edilecek suşların seçiminde son ürünün duyuşal özellikleri kadar, probiyotiklerin depolama süresince stabilitesi ve sağık üzerindeki olumlu etkileri de göz önüne alınmaktadır (Champagne ve Garner 2008). Probiyotik üretiminde kullanılan mikroorganizmalar FDA tarafından GRAS (generally recognised as safe) olarak tanımlanmış mikroorganizmalardır. GRAS statüsünde olan bu mikroorganizmaların konakçı sağığına zarar verecek hiçbir yan etkisi olmamalıdır. Bu nedenle de probiyotik üretiminde kullanılacak mikroorganizmaların kesin tanısının yapılmış olması gerekmektedir. Ağız yoluyla alınan probiyotiklerin beklenen yararlı etkiyi gösterebilmeleri için canlı olarak ve çok sayıda bağırsak sistemine ulaşmaları gerekmektedir. Bu nedenle kullanılan suşların mide asitliğine ve safra tuzlarına karşı dirençli olmaları istenmektedir. Bu özellik aynı zamanda probiyotik mikroorganizma seçiminin en temel kriterlerinden birisidir. Bunun yanında patojenlerle mücadele açısından bakteriyosin veya bakteriyosin benzeri antimikrobiyel bileşiklerin üretimi de çok önemli bir kriterdir (Taş 2008, Başığıit 2004, Çakır ve Çakmakçı 2004, Çakır 2003). Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların taşıması gereken özellikler aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

- Güvenilir olmalıdır. Kullanıldığı insan ve hayvanda yan etki oluşturmamalıdır.
- Gıdalarda ve klinik çalışmalarda kullanımının güvenilir olduğı kanıtlanmış olmalıdır.
- Sağıklı insan bağırsağından izole edilmiş olmalıdır.
- Düşük pH ve safra tuzları gibi olumsuz çevre koşullarında stabil olmalı, bu koşullardan etkilenmeden bağırsakta metabolize olmalıdır.

- Bağırsak hücrelerine tutunabilmeli ve kolonize olabilmelidir.
- Karsinogenik ve patojenik bakterilere antagonistik etki göstermelidir.
- Antimikrobiyal maddeler üretmelidir.
- Konakçıda hastalıklara direnç gibi yararlı etkiler oluşturabilmelidir.
- Antibiyotiklere dirençli olmalıdır. Antibiyotiğe bağlı ortaya çıkan hastalıklarda (diyare) bağırsak florasını düzenlemek amacı ile kullanılabileceğinden, bağırsaktaki antibiyotiklerden etkilenmemelidir.
- Üretim ve depolama sırasında canlılığını ve aktivitesini koruyabilmelidir.
- Probiyotikler patojenik olmamalı ve toksin üretmemelidir. Çok suşlu preparatların hazırlanmasına uygun olmalıdır.
- Probiyotik üretiminde kullanılan suşlar aktarılabılır antibiyotik direnç genleri içermemelidir (Gueimonde ve Salminen 2006, Başyigit 2004, Saarela ve ark. 2000).

2.3.3. Probiyotiklerin etki mekanizması

İntestinal ekosistemin fizyolojik dengesi hastalık, yaşlılık, stres, antibiyotik veya ilaç kullanımı, diyet alışkanlıklarının değiştirilmesi, iklim koşullarında meydana gelen değişimler ve çevresel toksik maddeler gibi faktörlerden direkt veya dolaylı olarak etkilenebilmektedir (Çakır ve Çakmakçı 2004).

Probiyotiklerin konakçıyı intestinal sistem bozukluklara karşı nasıl koruduğunu açıklamaya çalışan birçok mekanizma bulunmaktadır. Etki mekanizması temel olarak 3 şekilde açıklanmaktadır. Bunlar, (i)çeşitli şekillerde konakçının bağışıklık sistemini korumak, (ii) mikroorganizma ve patojenler üzerinde doğrudan etkili olmak ve (iii) gastrointestinal sistemdeki toksinlerin ve zararlı bileşiklerin

detoksifikasyonudur (Oelschlaeger 2010, Çakır ve Çakmakçı 2004, Çakır ve Çakmakçı 2002). Ancak yine de hangi patojenlere karşı hangi probiyotiklerin etkili olduğunun tam olarak belirlenmesi için daha çok çalışmaya gereksinim vardır.

Probiyotiklerin etki mekanizmaları ile ilgili yapılan araştırmalarda probiyotik suşlarının linoleik asiti antienflamatuvar ve antikarsinogenik özelliği olan konjuge linoleik asite çevirdiği tespit edilmiştir. Bu sayede probiyotikler, kolonda yağ asidi profilini düzenleyerek intestinal mikroflorayı değiştirebilmektedir (Yeşilova ve ark. 2010). Probiyotiklerin etki mekanizmalarının açıklanmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir.

2.3.4. Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerindeki olumlu etkileri

Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerinde kanıtlanmış pek çok olumlu etkisi mevcuttur. Yapılan çalışmalar sonucunda probiyotiklerin, patojenik virüsleri ve bakterileri inhibe ederek bağırsak enfeksiyonları, diyare ve kolon kanseri oluşumunu engellediği, bağışıklık sistemini güçlendirdiği, serum kolesterol düzeyini azalttığı, kalsiyum absorpsiyonunu geliştirdiği, vitamin sentezini düzenlediği, antikarsinogenik, antimutajenik ve antimikrobiyel etki sağladığı, proteinlerin sindirilebilirliğini arttırdığı ve bağırsak mikrobiyel dengesinin düzenlediği ortaya konulmuştur (Pereira ve ark. 2011, Kun ve ark. 2008, Taş 2008, Başyigit 2004, Çakır 2003, Çakır ve Çakmakçı 2002).

Probiyotik bakteriler temel olarak bağırsak sisteminde 2 önemli rol oynamaktadırlar. Bunlar; besinlerin sindirilebilirliğini iyileştirmek ve sağlık koşullarını iyi seviyede tutmaktır. Bu nedenle bu bakterilerin arzu edilmeyen

mikroorganizmaların gelişmelerini inhibe etme gücünde olmaları önemlidir. Bunları ya hidrojen peroksit, organik asitler gibi maddeler veya bakteriyosin tipi koruyucu maddeleri üretmekle ya da bağırsak epitel hücrelerine patojen bakterilerin adhezyonunu engellemek suretiyle başarmaktadırlar. Eğer bu antimikrobiyal aktivitenin varlığı in vitro koşullarda ortaya konamıyorsa in vivo koşulda probiyotik suşların kolonizasyon şansları da önemli derecede düşmektedir (Kılıç 2008, İnanç 2005, Çakır ve ark. 2002).

Yapılan araştırmalar sağlıklı bir yaşam sürmek, vücut direncini arttırmak, intestinal düzensizliklerle ve hastalıklarla mücadele etmek için probiyotik ürün tüketimini önermektedir.

2.3.5. Laktik asit fermentasyonu ile probiyotik meyve ve sebze suyu üretimi üzerine yapılan araştırmalar

Probiyotik meyve ve sebze suları tüketiciler için günümüzde oldukça popüler bir hale gelmiştir. Bu nedenle probiyotik meyve ve sebze suları üretimi üzerine çok sayıda araştırma yapılmış ve yapılmaya da devam edilmektedir. Acar ve Gökmen'in yaptıkları araştırmada üç farklı mikroorganizma (*L. plantarum*, *L. delbrucekii*, *L. xylosum*) starter kültür olarak kullanılarak laktoferment yöntemi ile havuç suyu üretilmiştir. Elde edilen havuç suları pastörize edilerek muhafaza edilmiştir. Elde edilen ürünün duyusal yönden kabul edilebilir olduğu belirlenmiştir (Gökmen ve Acar 1992).

Bir diğerk çalışmada ise pektolitik enzimlerle fermente havuç suyunun sıvılaştırılması sağlanmıştır. Araştırma sonucunda enzimatik sıvılaştırma uygulanmayan örneklerin daha fazla tercih edildiği ortaya konulmuştur (zdemir ve Acar 1996).

Kun ve ark. (2008), havuç suyunu seçilmiş *Bifidobacterium* türleriyle fermente etmişler ve fermentasyon boyunca bazı komponentlerde ve mikroorganizma popülasyonunda meydana gelen değişiklikleri incelemişlerdir. Herhangi bir besin maddesi eklenmeksizin saf havuç suyuna 10 log kob/mL oranında inoküle edilen hücreler (*B. lactis* Bb-12, *B. bifidum* B7.1 and B3.2) 6 saatlik inkübasyon ve 24 saatlik fermentasyon sonucunda canlılıklarını korumuştur. Havuç suyunun pH'sı 4.5 değerinin altına düşmüş ve beta-karoten degradasyonu suşa bağımlı olarak %15-45 arasında olmuştur (Kun ve ark. 2008).

Yoon ve ark. (2004), domates suyunun fermentasyonu ile probiyotik ürün elde etmeyi amaçlamışlardır. Domates suyu herhangi bir besin ilavesi ve pH ayarlaması yapılmaksızın 4 farklı kültür ile (*Lb. acidophilus* LA39, *Lb. plantarum* C3, *Lb. casei* A4 ve *Lb. delbrueckii* D7) 30 C'de 72 saatlik fermentasyona tutulmuş ve başlangıç pH'sı 4.1 olan domates suyunda pH'nın zamanla azalarak fermentasyon sonunda 3.5 düzeyine indiği grlmştir. Tüm kültürler hızlı bir şekilde çoğalmış ve fermentasyon sonunda $1.0-9.0 \times 10^9$ kob/mL düzeyine ulaşmıştır. Fermentasyon sonunda elde edilen üründe 4 C'de 4 haftalık depolamanın ardından canlı kalan *Lb. acidophilus* LA39, *Lb. plantarum* C3, *L. casei* A4 ve *Lb. delbrueckii* D7 sayılarının 10^6-10^8 kob/mL arasında değiştiği gözlemlenmiştir (Yoon ve ark. 2004).

Yoon ve ark. (2005), bir başka çalışmada ise kırmızı pancar suyunu aynı probiyotik kültürlerle muamele ederek fermente pancar suyu üretimini araştırmıştır. Kültürlerin tümünün pancar suyunda hızlı bir şekilde geliştiği ve laktik asit oluşturduğu görülmüştür. *Lb. acidophilus* ve *Lb. plantarum* kültürlerinin diğer kültürlerden daha fazla laktik asit ürettiği ve pH değerini daha fazla düşürdükleri bulunmuştur. 48 saatlik fermentasyon sonucunda her iki kültür de pancar suyunun pH'sını 6.3 değerinden 4.5 değerine kadar düşürmüştür. Fermentasyonla birlikte LAB sayısının ciddi bir düzeye (10^9 kob/mL) yükseldiği, ancak 4 °C'de 4 haftalık depolama sonrasında *Lb. acidophilus*'un fermente pancar suyundaki stabilitesinin diğer kültürlerle oranla daha az olduğu ortaya çıkmıştır. Depolama sonrasında diğer kültürlerinin tümünün canlılık düzeyi 10^6 - 10^8 kob/mL olarak belirlenmiştir (Yoon ve ark. 2005).

Yoon ve arkadaşlarının laktik asit bakterileri ile fermentasyon kapasitesini araştırdıkları bir başka sebze suyu ise lahana suyudur. Bir çalışmada *Lactobacillus plantarum* C3, *Lactobacillus casei* A4 ve *Lactobacillus delbrueckii* D7 suşları lahana suyuna inoküle edilmiş ve lahana suyu 30 °C'de 48 saatlik fermentasyona tabi tutulmuştur. Hücre sayıları fermentasyon sonunda 10^9 kob/mL düzeyine ulaşmıştır. Üretilen probiyotik üründeki mikroorganizma sayıları 4 °C'de 4 haftalık depolamanın ardından sayılmış ve *L. plantarum* ve *L. delbrueckii* sayıları sırasıyla 4.1×10^7 ve 4.5×10^5 kob/mL olarak bulunmuştur. *L. casei* popülasyonu ise yüksek asitlikten etkilenmiş ve 2 haftalık depolama sonunda hücreler canlılıklarını kaybetmişlerdir (Yoon ve ark. 2006).

Meyve sularının fermentasyonu üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında ise, portakal, elma, üzüm, muz ve ananas ve yabanmersini suları üzerine yapılmış

araştırmalar göze çarpmaktadır. Sheehan ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada portakal, ananas ve yabanmersini sularına *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* eklendiğinde, mikroorganizmaların gelişiminde asit direncine bağımlı olarak büyük farklılıklar gözlemişlerdir. Denenen suşların tümü portakal ve ananas sularında yabanmersini suyuna oranla daha yüksek oranda canlılığını koruyabilmiştir. En az 12 haftalık depolamanın ardından *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* suşlarının portakal suyunda 7 log kob/mL, ananas suyunda ise 6 log kob/mL düzeyinde canlılıklarını koruduğu belirlenmiştir. Buna rağmen, *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. paracasei* kültürleri, 400 MPa'da 5 dakikalık yüksek basınç uygulamasına ilaveten 76 °C'de 30 saniyelik ve 90 °C'de 1 dakikalık ısıtılma işlem uygulamasının ardından 6 log kob/mL'in üzerinde bir canlılık gösterememişlerdir. Ürün probiyotik özelliğini yitirmiştir (Sheehan ve ark. 2007).

Hücrelerin muhafaza için uygulanan yöntemlere karşı dayanıksız olması ve ürünlerdeki canlı mikroorganizma sayısının 6 log kob/mL'nin altına düşmesi gibi faktörler bu tip çalışmalarda araştırıcıların mikroenkapsülasyon yöntemine başvurmalarına neden olmuştur. Agar, poliakrilamid, kalsiyum pektat jel ve aljinat gibi ajanlar kullanılarak hücreler kapsül haline dönüştürülmüş ve düşük pH, yüksek asitlik, yüksek sıcaklık ve yüksek basınç koşullarına karşı hücreler dirençli hale getirilebilmiştir (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010). Bu uygulamadan faydalanan bir çalışmada kalsiyum aljinata immobilize edilen *Lb. acidophilus* hücreleri muz püresine inoküle edilmiş ve gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda yeni bir probiyotik muz ürünü ortaya çıkarılmıştır (Tsen ve ark. 2007).

Pereira ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada, Amerikan elması suyuna *Lactobacillus casei* inoküle edilmiş ve probiyotik bir içecek üretmek amaçlanmıştır.

Elma suyunun başlangıç pH'sı 6.4, inokülasyon oranı 7.48 log kob/mL, fermentasyon süresi 16 saat, fermentasyon sıcaklığı ise 30 °C olarak belirlenmiştir. 4 °C'de 42 günlük depolama boyunca mikroorganizma sayısında artış olduğu ve hücre sayısının 8 log kob/mL'den daha fazla olduğu ortaya çıkarılmıştır. Fermentasyon ve soğukta depolama süresince kırmızılık değeri azalırken, sarılık, aydınlatma ve toplam renk değerleri artış göstermiştir. Ortaya çıkan ürünün probiyotik içermesi nedeniyle sağlıklı ve alternatif bir fonksiyonel içecek olduğu gösterilmiştir. Amerikan elması suyunun *Lb. caseii* gelişimine süt ürünleri kadar elverişli bir substrat olduğu görülmüştür (Pereira ve ark. 2011).

Hardaliye, hardal tohumu ve benzoik asit ilave edilen kırmızı üzüm suyunun doğal laktik asit fermentasyonuna bırakılmasıyla elde edilen geleneksel bir fermente içecektir (Gücer ve ark. 2009). Trakya Bölgesi'ne özgü bu içekte hardal tohumun eterik yağları hem ürüne aroma kazandırmakta hem de mayalara karşı antimikrobiyel aktivite sağlamaktadır (Prado ve ark. 2008). Arıcı ve (2001) çalışmasında, laboratuvar koşullarında geleneksel yöntemle üretmiş oldukları 26 hardaliye örneğinin pH, renk ve toplam laktik asit bakterisi sayıları ölçmüştür. pH değerlerinin 3.21-3.97, kırmızılık değerinin 1.33-9.66 ve toplam laktik asit bakterisi sayısının 1.0×10^2 ve 4.0×10^4 kob/mL aralığında değiştiği bulunmuştur (Arıcı ve Coşkun 2001).

Meyve ve sebze sularının dışında değişik tahıl sularının fermentasyonu üzerine araştırmalar yapılmıştır. Fettahoğlu çalışmasında, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus rhamnosus* bakterilerini kullanarak şerbetçiotu içermeyen malt şirasından malt içeceği üretimi amaçlamıştır. Laktik asit bakterileri ilave edilen % 6 ve % 10 şeker yoğunluklu steril

malt şıraları 25 °C’de laktik asit fermantasyonuna terk edilmiştir. Fermantasyon sırasında toplam asit, pH ve toplam canlı laktik asit bakterisi analizleri yapılmıştır. Fermantasyon sırasında toplam asitlik artmış, buna bağlı olarak pH azalmıştır. % 6 şeker içeren malt şırasına aşıl原因 *Lactobacillus delbrueckii* dışında, diğer denemelerde toplam canlı laktik asit bakteri sayıları önemli oranda artmış, 8.84-8.89 log kob/mL ile en yüksek sayıya ulaşmışlardır. Daha sonra laktik asit bakterisi sayılarında yavaşça azalma gözlenmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre, % 6 şeker yoğunluklu şıradan elde edilen malt içeceklerinden en çok *Lactobacillus fermentum* ve % 10 şeker yoğunluklu şıradan üretilenlerde ise en çok *Lactobacillus rhamnosus* ile elde edilen beğenilmiştir (Fettahoğlu 2009).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bakteri kültürleri

Çalışmada *Lactobacillus helveticus* NRRL B-4526 standart suşu, *Lactobacillus acidophilus* KPb4b ve *Lactobacillus plantarum* bakterileri kullanılmıştır. Suşların tümü Abant İzzet Baysal Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi ve Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.1.2. Karpuz suyu

Çalışmada kullanılan karpuz suyunun elde edildiği karpuzlar, Bolu merkezinde bulunan yerel bir manavdan temin edilmiştir. Karpuzlar, denemeden bir gün önce alınarak laboratuvar ortamında dış kısımları iyice yıkandıktan ve steril bir bıçakla kesildikten sonra Arzum Aspira AR113 (Arzum, Türkiye) katı meyve

sıkacağı ile sıkılarak karpuz suyu elde edilmiştir. Denemede kullanılan karpuzlardan birinin görüntüsü Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan karpuzların görüntüsü

3.1.3. Bakterilerin aktifleştirilmesinde ve sayımında kullanılan kültür ortamları ve kimyasallar

Araştırmada, stok kültürleri aktifleştirmek için Lactobacilli MRS Broth (Difco TM), seyreltme sıvısı olarak MRD (Maximum Recovery Diluent;Merck,

Darmstadt, Almanya), laktik asit bakterileri için besiyeri olarak Lactobacilli MRS Agar (Difco TM) ve maya-küf analizinde besiyeri olarak PDA (Potato Dextrose Agar; Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Kullanılan tüm kültür ortamları ve kimyasallar otoklavda (Yamato SP510, Japonya) 121 °C’de 15 dakika sterilizasyona tabi tutulmuştur.

3.2. Yöntem

3.2.1. Karpuz suyunun elde edilmesi

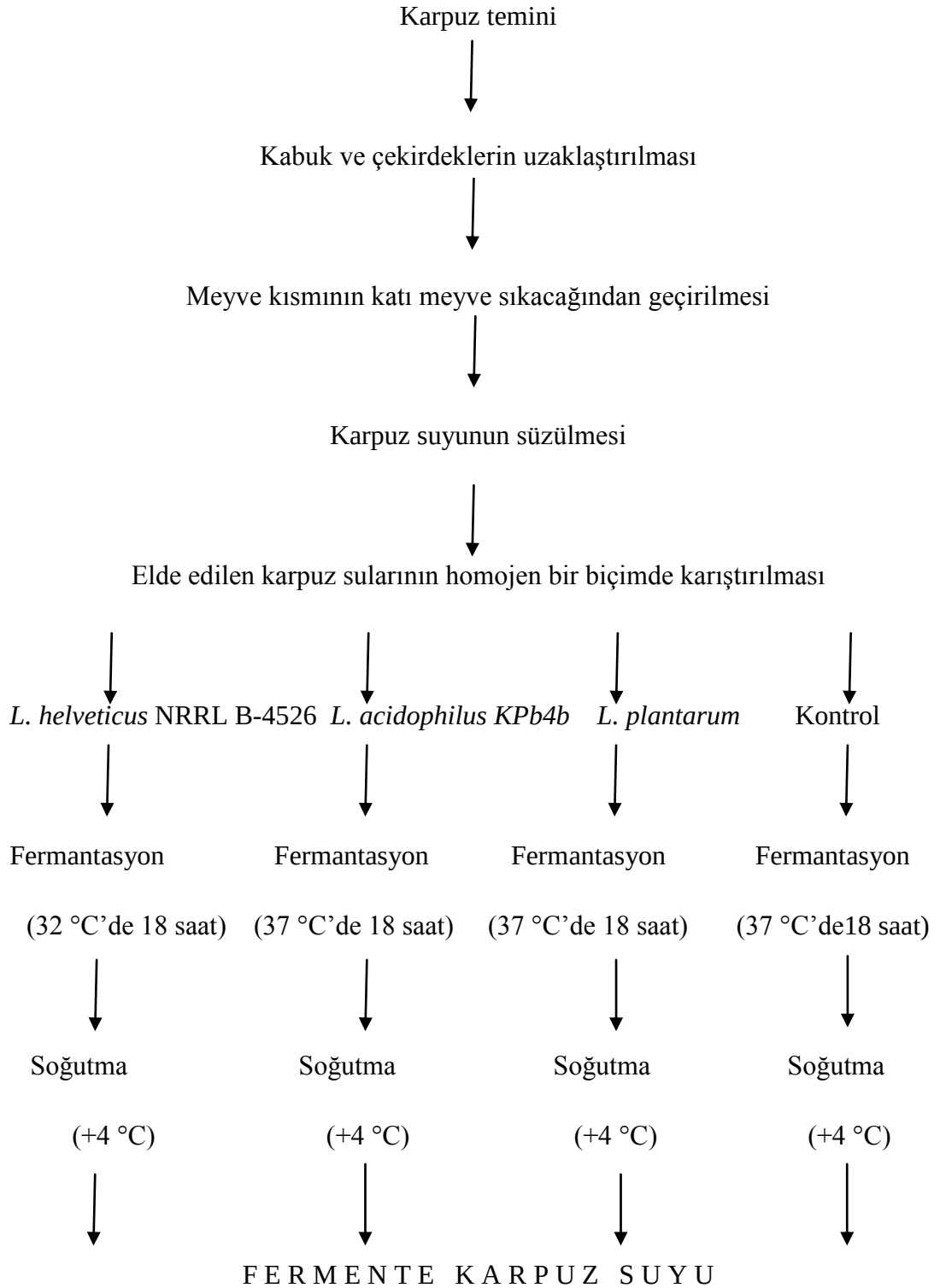
Karpuzlar kesilmeden önce yıkanmış, kabuk yüzeyi ve çalışılan ortam dezenfaktan çözelti yardımıyla dezenfekte edilmiş, kullanılacak bıçak, huni, tülbent, cam şişe gibi alet ve ekipmanlar ise otoklavda (Yamato SP510, Japonya) 121 °C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Ardından karpuzlar dilimlenerek, kabuk kısmı ve çekirdekler uzaklaştırılmış, karpuzun meyve kısmı katı meyve sıkacağından geçirilerek karpuz suyu elde edilmiştir. Elde edilen karpuz suyu, ince bir tülbentten süzülerek meyvenin etinden gelen parçacıkların uzaklaştırılması sağlanmıştır. Bu uygulama ile, partiküllerin fermantasyon sürecinde ve sonrasında yapılacak analizlerde sorun yaratmasını önlemek amaçlanmıştır. Son olarak tülbentten geçirilmiş karpuz sularının tümü, fermantasyon başlangıcında tüm örneklerin aynı içerik ve özelliklerde olmasını sağlamak amacıyla steril cam bir şişeye konularak homojen bir şekilde karıştırılmıştır.

3.2.2. Kültürlerin aktifleştirilmesi

Lactobacillus helveticus NRRL B-4526 standart suşu, ve *Lactobacillus acidophilus* KPb4b ve *Lactobacillus plantarum* kültürleri stoktan ardışık 2 kez pasaj yapıldıktan sonra her birinden 2 mL alınarak 50 mL MRS Broth'a inokülasyon yapılmıştır. Kültürler 37  C'de 48 saatlik inkübasyonun ardından 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj (Sigma 2-16 K, Almanya) işlemine tabi tutularak pelet haline getirilmiştir. Peletler, yıkama işleminden sonra ayrı ayrı taze sıkılmış karpuz sularına inoküle edilmiş ve karıştırıldıktan sonra karpuz suları fermentasyona bırakılmıştır.

3.2.3. Fermentasyon

Taze sıkılmış karpuz suları 1'er litrelik steril cam şişelere konulmuş ve pelet haline getirilmiş kültürler şişelere ilave edilmiştir. Ardından karpuz suları 37  C'de 18 saatlik fermentasyona bırakılmıştır. Denemelerde kontrol olarak kültür eklenmemiş karpuz suyu kullanılmıştır. Fermentasyonun süresince karpuz sularında toplam canlı laktik asit bakterisi sayısı, titrasyon asitliği, renk, suda     n r kuru madde ve pH tayinleri yapılmıştır. Fermentasyon başında ve sonunda alınan örnekler duyuusal analizler için 4  C'de depolanmıştır. Örneklerin bir kısmı ise daha sonraki kimyasal analizler (toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivite ve toplam şeker) için derin dondurucuda -18  C'de saklanmıştır. Denemeler, 2011 yılı Ağustos ayı ve 2012 yılı Temmuz ayında olmak üzere 2 tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir. Fermente karpuz suyu üretimi şekil 3.2.'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Fermente karpuz suyu üretim şeması

3.2.4. Analiz yöntemleri

3.2.4.1. Laktik asit bakterisi ve maya-küf analizleri

Laktik asit bakterisi ve maya-küf sayımı için klasik yayma kültür yöntemi kullanılmıştır. Analiz için 0., 3., 6., 12. ve 18. saatlerde aseptik koşullarda örneklerden 1'er mL alınmış ve 9 mL %0.85'lik steril MRD kullanılarak gerektiği kadar seyreltilmiştir. Daha sonra seyreltilmiş örnek (0.1 mL), MRS agar üzerine yayma yöntemi ile yayılmış ve inkübatörde 37 °C'de 3-4 gün inkübe edilerek oluşan koloniler sayılmıştır. Maya-küf analizi yalnızca 2. tekerrür örneklerinde yapılmış, besiyeri olarak PDA kullanılmış ve seyreltilmiş örnek (0.1 mL) bu besiyeri üzerine yayılarak 28 °C'de 4-5 gün inkübasyona bırakılmıştır (Halkman 2005). Kültürlerin laktik asit bakterisi olduğunu doğrulamak amacıyla 1. ve 2. tekerrür örneklerinde katalaz testi yapılmıştır. Petrilerdeki koloniler üzerine %3'lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılmış ve gaz çıkışı olup olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, 2. tekerrür örneklerinde Tempo LAB ve Tempo YM (Biomerieux, Fransa) hazır kitleri yardımıyla örneklerin fermantasyon sonundaki laktik asit bakterisi sayısı bulunmuştur. Ayrıca, kitlerle kontrol örneğinde fermantasyon başında ve sonundaki maya-küf ile laktik asit bakterisi sayısına da bakılmıştır.

3.2.4.2. pH tayini

Karpuz sularının pH'sı fermantasyonun 0., 3., 6., 12. ve 18. saatlerinde alınan örneklerden doğrudan pH metre (pH-2005, Selecta, İspanya) kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.4.3. Toplam asit tayini

Toplam asit miktarı, fermantasyonun 0., 3., 6., 12. ve 18. saatlerinde ayrılmış olan 40 mL örneğin pH değerinin 8.1'e ulaşana dek 0.1 N NaOH ile titre edilmesi suretiyle belirlenmiştir. Sonuçlar, susuz laktik asit cinsinden g/L olarak verilmiştir.

3.2.4.4. Renk tayini

Fermantasyonun 0., 3., 6., 12. ve 18. saatlerinde alınan örneklerin CIE- $L^*a^*b^*$ renk sistemine göre; L^* (aydınlık değeri), $+a^*$ (kırmızı), $+b^*$ (sarı), C (Chroma-renk yoğunluğu) ve h (hue-renk tonu) değerleri saptanmıştır. Her ölçümden önce cihaz beyaz seramik plakaya karşı ($Y=93.9$, $x=0.3158$, $y=0.3322$) standardize edilmiştir.

3.2.4.5. Suda çözünür kuru madde tayini

Fermantasyonun 0., 3., 6., 12. ve 18. saatlerinde örneklerin suda çözünür kuru madde değerleri doğrudan el tipi refraktometre yardımıyla ölçülmüştür.

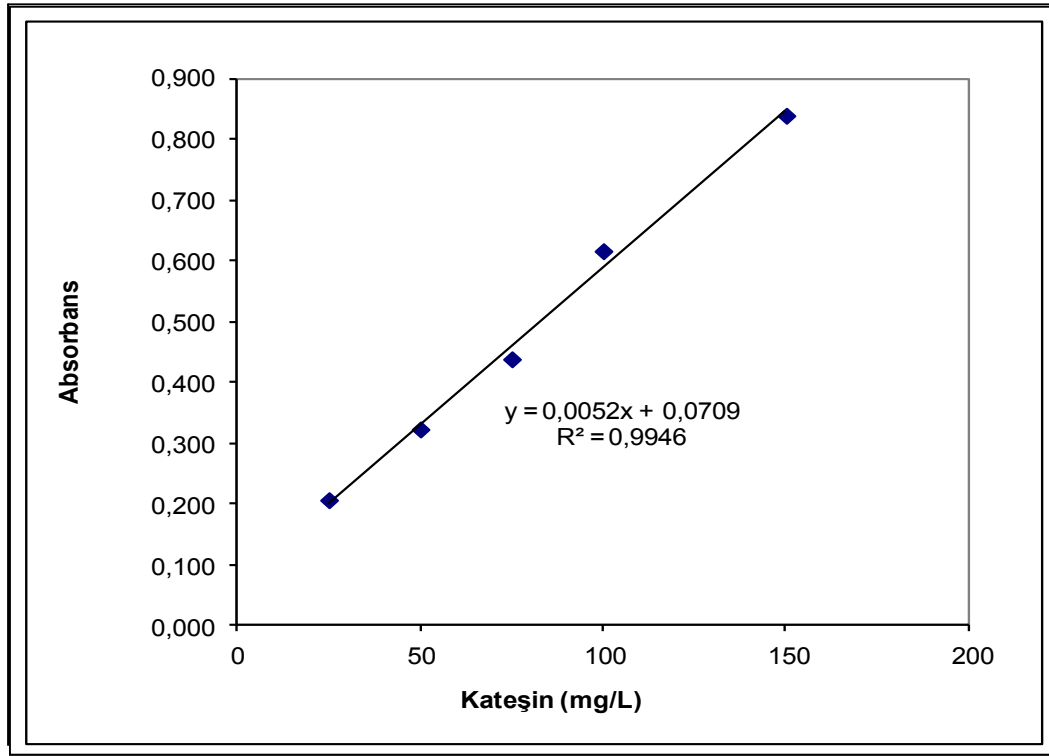
Refraktometre üzerine birkaç damla örnek damlatılmış ve sonuçlar °Brix olarak okunmuştur.

3.2.4.6. Şeker tayini

Fermantasyonun başında ve sonunda alınan ve -18 °C’de muhafaza edilen örneklerde sakaroz, glukoz ve früktoz miktarına bakılmıştır. Analizler, Bolu Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü tarafından TS 13359 (2008) nolu standarda uygun olarak HPLC (Shimadzu, Japan) ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.7. Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde miktarı ölçümü Folin–Ciocalteu kolorimetrik metoduna göre yapılmıştır (Erge 2007). Fermantasyon başında ve sonunda alınan ve -18 °C’de muhafaza edilen karpuz suları öncelikle oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Karpuz suyundan 1 mL alınarak bir behere konulmuş ve üzerine 3 mL saf su eklenerek karpuz suyu seyreltilmiştir. Ardından seyreltilmiş karpuz suyundan 0.5 mL alınmış ve bir tüpe konulmuştur. Üzerine önce 7 mL saf su, ardından 0.5 mL folin ayırıcı konulmuş ve 3 dakika beklendikten sonra %20’lik Na₂CO₃ çözeltisinden 2 mL eklenerek tüp çalkalanmıştır. Tüpler 25 °C’de 1 saat bekletildikten sonra spektrofotometrede (UV-1800, Shimadzu, Japonya) 720 nm’de okuma yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.3.’te verilen kateşin standart kurvesine göre mg kateşin eşdeğeri/L cinsinden hesaplanmıştır (Erge 2007).

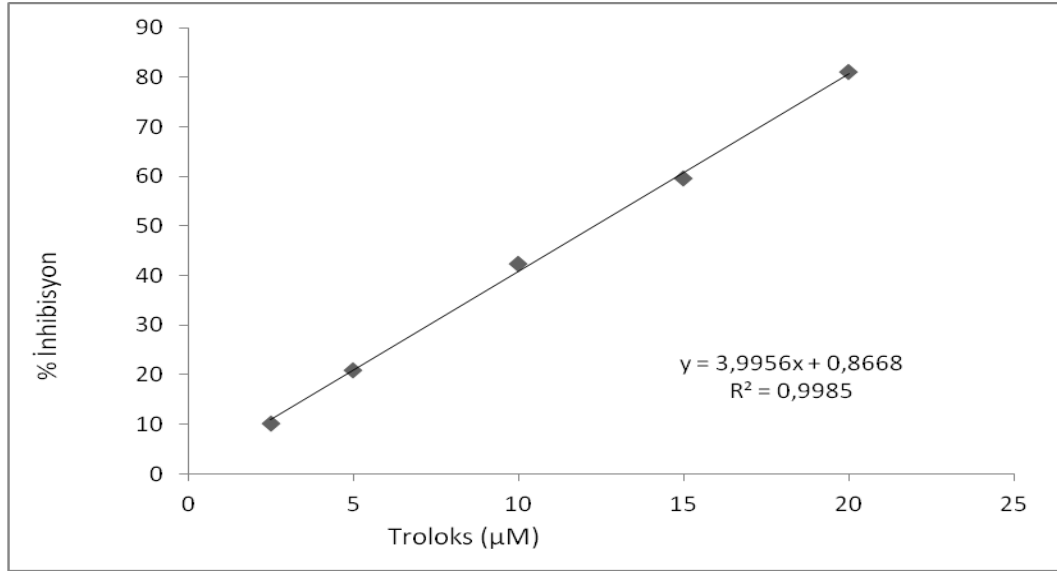


Şekil 3.3. Kateşin standart kurvesi

3.2.4.8. Antioksidan aktivite tayini

Antioksidan aktivite ölçümü TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) metoduna göre yapılmıştır. Yöntemin prensibi, potasyumpersülfat ($K_2S_2O_8$) ve ABTS (2,2-azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) çözeltilerinin karışımından oluşan ABTS*+ radikalinin belirli zaman aralığında indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Fermantasyon başında ve sonunda ayrılan ve -18 °C’de muhafaza edilen karpuz suları öncelikle oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Örneğin analize hazırlanması için Shahidi ve ark. (2001) tarafından önerilen yöntemde modifikasyon yapılmıştır. Karpuz suyundan 1 gr alınmış, %70’lik metanol çözeltisi

ile 10 mL'ye tamamlanmış ve çözelti homojenizatörde (Yellow line DI 18 B, Almanya) 2 dakika karıştırılmıştır. Karışım, 4000 rpm'de 15 dakika santrifüje tabi tutulmuştur. Üstte kalan sıvı faz pipetle balon jojeye aktarılmış ve kalan kısmın üzerine 10 mL %70'lik metanol çözeltisi eklenmiştir. Homojenizasyon ve santrijüj işlemleri tekrar gerçekleştirilmiş ve üstte kalan sıvı balon jojeye eklenmiştir. Balon jojede %70'lik metanol çözeltisi ile 25 mL'ye tamamlanan karışım cam huni ve filtre kağıdı yardımıyla kahverengi şişelere süzölmüştür. Yöntemde, 1 mL ABTS*+ radikal çözeltisi üzerine, hazırlanmış olan örnekten 30 µL karıştırılmakta ve 734 nm dalga boyunda okunan absorbans değeriindeki azalma 6 dakika boyunca ölçölmektedir. Radikalin indirgenmesi absorbans değeriinin yüzde inhibisyonu olarak ifade edilmektedir. Bu yöntemde; 1 g/L konsantrasyonundaki antioksidan bileşik ile aynı inhibisyon yüzdesini veren Troloks'un konsantrasyonu (µmol/L) hesaplanmaktadır. Karpuz sularının antioksidan aktivite sonuçları µmol Troloks/100g cinsinden ifade edilmiştir (Erge 2007). ABTS*+ radikalinin troloks standardına ait % inhibisyon kurvesi Şekil 3.4.'de verilmiştir.



Şekil 3.4. ABTS*+ radikalinin troloks standardına ait % inhibisyon kurvesi

3.2.4.9. Duyusal analizler

Fermantasyon başlangıcında ve sonunda alınan örneklerin duyusal analizi Şekil 3.5.'de verilmiş olan formda belirtildiği üzere renk, koku, tat ve genel beğeni kriterlerine göre 8 adet panelist tarafından gerçekleştirilmiş ve örnekler beğeni derecesine göre puanlandırılmıştır.

Değerlendirme Formu					
Örnek Kodu	Duyusal Kodu	Renk	Koku	Tat	Genel Beğeni

Yukarıdaki 4 adet ürünü inceleyip tattıktan sonra her bir kriter için değerlendirmelerinizi aşağıdaki rakamları kullanarak puanlandırınız.

Puanlandırma: 1: Çok Kötü 2: Kötü 3: Orta 4: İyi 5: Çok İyi

Şekil 3.5. Duyusal analiz formu

3.2.4.10. İstatistiksel analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde kontrol örneği ile *Lb. helveticus* B4526, *L. acidophilus* KPb4b ve *Lb. plantarum* eklenen karpuz sularının arasında fermentasyonun 0. 3. 6. 12. 18. saatlerinde toplam bakteri sayısı yönünden fark olup olmadığı, fermentasyon başlangıcında ve sonunda örneklerin arasında toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve duyusal analiz yönünden fark olup olmadığı ve fark varsa hangi grubun (veya grupların) diğerlerinden farklı olduğu, fark yoksa ortalamaların ne olduğu araştırılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar incelenirken, normal dağılan iki gruplu karşılaştırmalar için *t* testi, normal dağılmayan iki gruplu karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. İki'den fazla gruplu karşılaştırmalar için ise Anova veya Kruskal-Wallis testleri kullanılmıştır. Normal dağılan ikiden fazla gruplu karşılaştırmalar Anova, normal dağılmayan ikiden fazla

gruplu karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalarda, hangi grubun diğerlerinden farklı olduğunu belirlemek için, Tukey ve Tamhane's T2 testleri kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivite arasındaki korelasyon ise Pearson korelasyon testi ile incelenmiştir. Veriler SPSS 16.00 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı ile analiz edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Denemelerde Kullanılan Karpuz Suyunun Bileşimi

Denemelerde kullanılan karpuz sularının genel bileşimi Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Karpuz sularının bileşimi

Bileşim	Karpuz Suyu
pH	5.6
*Toplam asit (g/L)	0.67
Suda çözünür kuru madde (°Brix)	7.5
Sakkaroz (g/100 g)	3.00
Früktoz (g/100 g)	2.45
Glukoz (g/100 g)	0.95

*Laktik asit cinsinden

Çizelge 4.1.'de görüldüğü üzere denemelerde kullanılan karpuz suyunun pH değeri 5.6 olup, laktik asit cinsinden toplam titrasyon asitliği 0.67 g/L'dir. Suda çözünür kuru madde miktarı ise 7.5 °Brix olarak bulunmuştur. Karpuz sularının

ortalama şeker içerikleri de tabloda verilmiş olup, sakaroz, früktoz ve glukoz miktarlarının sırasıyla 3.00, 2.45 ve 0.95 g/100 g olduğu görülmüştür.

4.2. Karpuz Suyu Fermantasyonunda Laktik Asit Bakterilerinin Gelişimi

Fermantasyonun 0. 3. 6. 12. ve 18. saatlerinde fermente karpuz suyunda bulunan toplam laktik asit bakterisi sayıları Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Fermantasyon başlangıcında karpuz sularına inoküle edilen probiyotik laktik asit bakterisi sayısının zamanla nasıl değiştiğini belirlemek, fermantasyonun gidişi hakkında bilgi sahibi olma açısından önem taşımaktadır. Probiyotikler, fermente olabilir nitelikteki şekerleri kullanarak, bir yandan laktik asit, etanol, CO₂ gibi metabolitler üretmekte ve ortamın bileşimini değiştirmekte, bir yandan da gelişerek sayılarını arttırmaktadır (Pereira ve ark. 2011, Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010). Denemelerdeki karpuz sularının fermantasyonunda da bu durum gözlenmiştir.

Çizelge 4.2.'de görüldüğü üzere başlangıç inokülasyonları sırasıyla 7.3, 6.4 ve 7.4 log kob/mL olan *Lb. helveticus* B4526, *Lb. acidophilus* KPb4b ve *Lb. plantarum* kültürlerinin sayısı 37 °C'de 18 saatlik fermantasyon sonucunda 9.7, 9.0 ve 10.0 log kob/mL olmuş ve bakteri sayıları önemli ölçüde artmıştır (p<0.05).

Çizelge 4.2. Toplam laktik asit bakterisi sayısının fermantasyonla değişimi

Toplam Laktik Asit Bakterisi Sayısı (log kob/mL)				
Süre	<i>Lb. helveticus</i> NRRL B-4526	<i>Lb. acidophilus</i> KPb4b	<i>Lb. plantarum</i>	Kontrol Örneği
0. saat	7.3±0.6 ^{a,A}	6.4±1.3 ^{a,A}	7.4±0.64 ^{a,A}	2.2±0.3 ^{b,A}
3. saat	7.6±0.6 ^{a,A}	6.6±1.52 ^{a,b,A}	8.6±0.32 ^{a,B,C,D}	2.9±0.47 ^{b,A,B}
6. saat	8.4±0.33 ^{a,B}	7.6±0.96 ^{a,A}	9.3±0.35 ^{a,C,D,E}	4.8±0.75 ^{b,B,D}
12. saat	9.1±0.2 ^{a,C,D}	9.0±0.42 ^{a,B}	9.5±0.61 ^{a,D,E}	7.4±1.42 ^{b,D,E}
18. saat	9.7±0.4 ^{a,D}	9.0±0.32 ^{b,B}	10.0±0.87 ^{a,E}	9.0±0.19 ^{b,E}

P<0.05 seviyesinde önemli.

^{a,b,c} Aynı satırda yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (p<0.05)

^{A,B,C} Aynı sütunda yer alan farklı büyük harfle gösterilen değerler arasındaki saatlere bağlı farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (p<0.05)

MRS Broth ve MRS Agar besiyeri laktobasiller için selektif olmakla birlikte başta *Escherichia coli* olmak üzere bazı bakteriler ve mayalar da bu besiyerinde gelişebilmektedir. Bu nedenle, şüpheli durumlarda klasik yöntemle bulunan sonuçların katalaz testi ve gram boyama gibi metotlarla doğrulanması gerekebilmektedir (Halkman 2005). Bilindiği üzere laktik asit bakterileri çoğunlukla katalaz oluşturmayan, uzun ve kısa çubuk veya kok şeklinde hücrelerdir (Çakmakçı ve ark. 2011). Bu bilgiler ışığında klasik sayımla elde edilen sonuçların doğrulanması amacıyla 1. tekerrürde fermantasyon başlangıcı ve 18. saat sonundaki örneklerle ait petrilere katalaz testi uygulanmış ve başlangıçta inokülasyon yapılan örneklerle ait

tüm kolonilerin katalaz negatif olduğu bulunmuştur. Buna ek olarak, hücre morfolojilerinin de kısa ve uzun zincirler halinde çubuk şeklinde olduğu görölmüştür. Aynı işlem inokülasyon yapılmış 2. tekerrür örneklerine de uygulanmış ve aynı sonuçlara varılmıştır.

1. tekerrür kontrol örneklerine ait petrilerde yapılan katalaz testinde fermentasyon başlangıcındaki hücrelerin büyük çoğunluğunun katalaz negatif, 18. saat sonundaki hücrelerin tamamına yakınının katalaz pozitif olduğu görölmüştür. Karpuz, *Pseudomonas* sp., *E. coli*, *Enterobacter* sp. ve *Salmonella* sp. gibi çeşitli mikroorganizmaların gelişmesi için uygun bir substrattır (Mosqueda-Melgar ve ark. 2008, Fonseca ve Rushing 2006). MRS agarda diğerk bakteriler ve mayaların da gelişebilme ihtimali göz önüne alındığında, bu durum kontrol örneğinde başlangıçta ortama laktik asit bakterilerinin hakim olduğu, fakat fermentasyon sonunda mayaların veya diğerk kontamine bakterilerin ortam hakimiyetini ele geçirdiği şeklinde yorumlanmıştır.

1. tekerrürde kontrol örneğinde meydana gelen hızlı artışı araştırmak amacıyla, 2. tekerrürün kontrol örneğinde klasik yöntemle ve Tempo YM hazır kiti ile maya-küf analizi yapılmıştır. Ayrıca hem kontrol örneği, hem de inokülasyon yapılan örneklerde fermentasyon sonundaki toplam laktik asit bakterisi sayısına Tempo LAB hazır kiti ile bakılmış olup, Çizelge 4.3.'de verilmiş olan sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. 2. Tekerrür örneklerinde elde edilen bakteri ve maya-küf sayıları

Laktik Asit Bakterisi ve Maya-Küf Sayıları				
Örnek	Laktik asit bakterisi sayısı (log kob/mL)		Maya ve Küf Sayısı (log kob/mL)	
	Tempo LAB Sonucu	Klasik Sayımla Elde Edilen Sonuç	Tempo Sonucu YM	Klasik Sayımla Elde Edilen Sonuç
<i>Lb. helveticus</i> NRRL B-4526 (18. saat sonunda)	9.4	9.7	-	Tespit edilmedi.
<i>Lb. acidophilus</i> KPb4b (18. saat sonunda)	<6.0	8.7	-	Tespit edilmedi.
<i>Lb. plantarum</i> (18. saat sonunda)	8.4	9.2	-	Tespit edilmedi.
Kontrol Örneği (0. saatte)	<6.0	2.4	<3.0	2.5
Kontrol Örneği (18. saat sonunda)	<6.0	8.4	<5.0	5.0

Çizelge 4.3. incelendiğinde kültür inoküle edilmiş örneklerde 18. saat sonunda kitle ölçülen toplam laktik asit bakterisi sayılarının, klasik yöntemle elde edilen laktik asit bakterisi sayısına oranla kısmen daha az olduğu tespit edilmiştir. Örneğin klasik yöntemle, *Lb. helveticus* NRRL B-4526 sayısı 9.7 log kob/mL olarak bulunurken, kit ile bulunan değer 9.4 log kob/mL olarak bulunmuştur. Bu durum, kitle analiz edilen örneklerin dondurulmuş ve analiz öncesi çözündürülmüş olmasıyla açıklanabilir. Dondurup çözündürme sırasında buz kristallerinin hücrelere zarar vermesi sebebiyle hücrelerde kayıp meydana gelebilmektedir (Halkman ve Doğan 2000). Bu durum göz önüne alındığında kitle elde edilen sonuçların klasik yöntemle

elde edilen laktik asit bakterisi sonuçlarını doğruladığı ve klasik yöntem sonuçlarının güvenilir olduğu söylenebilir.

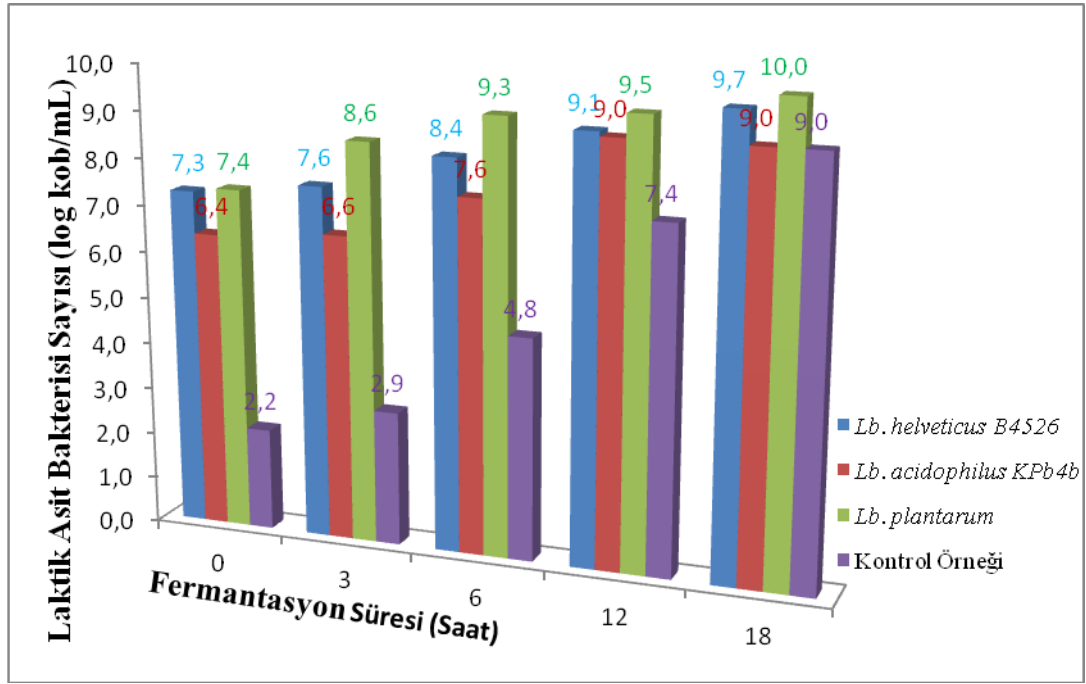
Buna karşın, 2. tekerrürde kontrol örneğine ait toplam laktik asit bakterisi sayısı için aynı şeyi söylemek mümkün değildir. Çizelge 4.3.'te verilen sonuçlara bakıldığında klasik yöntemle bulunan laktik asit bakterisi sayısının fermantasyonla birlikte 6.0 log kob/mL artış gösterdiği, fakat Tempo LAB kiti ile yapılan sayım sonucunda laktik asit bakterisi sayısının değişmediği gözlenmiştir. Başlangıçta <6.0 log kob/mL olan sayı fermantasyon sonunda da aynı kalmıştır. Kontrol örneğinde fermantasyonla birlikte pH'da meydana gelen düşüşün (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.2) ve laktik asit miktarında meydana gelen artışın (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.3.) karpuz suyunun doğasından gelen bu mikroorganizmalardan kaynaklandığı söylenebilir. Literatürde karpuzun da içinde bulunduğu *Cucurbitacea* familyasına ait türlerde *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. pentosus* ve *Leuconostoc* sp. gibi laktik asit bakterilerinin fermantasyon gerçekleştirebildiği ortaya konulmuştur (Rodríguez ve ark. 2009). Diğer yandan kontrol örneğinde 0. ve 18. saat sonundaki sonuçlara göre maya-küf sayısının hem klasik yöntemle yapılan analizler hem de Tempo YM kiti ile yapılan analizler sonucunda arttığı saptanmıştır. Bu nedenle 18. saat sonundaki kontrol örneğinde, klasik yöntemle yapılan analiz sonucunda elde edilen kolonilerin bir kısmının (<6.0 log kob/mL) laktik asit bakterisi, geriye kalan kısmının ise MRS'de gelişme yeteneğine sahip diğer mikroorganizmalar olduğu düşünülmüştür. Bu mikroorganizmaların, karpuz suyu elde edilmesi sırasında kontamine olan maya ve diğer bakterilerden kaynaklandığı düşünülmektedir. İnokülasyon yapılmış örneklerde de aynı kontaminasyon riski söz konusudur. Fakat meyve ve sebze sularına bulaşan, özellikle patojen ve bozulma yapan, mikroorganizmaların 6.4-7.4 log kob/mL düzeyinde inoküle edilen laktik asit bakterileri ile rekabet şansı düşüktür (Cagno ve

ark. 2011). Ayrıca, fermentasyonla birlikte açığa çıkan laktik asit başta olmak üzere çeşitli organik asitler, hidrojen peroksit, bakteriyosin ve benzeri inhibe edici maddeler ile düşük pH değerleri patojen ve bozulma yapan mikroorganizmaların gelişimini önlemektedir (Çakır ve Çakmakçı 2004, Çakır ve Çakmakçı 2002).

2. Tekerrür örneklerinde 18. saat sonunda yapılan maya-küf analizinde maya-küf tespit edilememiştir. Bu tespit düşük pH değerlerindeki (4.24-4.50, bakınız Çizelge 4.4) ürünün mikrobiyolojik güvenilirliği açısından önem taşımaktadır. Çünkü küf ve mayalar düşük pH değerlerinde (3.0-5.5) gelişmekte ve çoğalmaktadır (Çakmakçı ve ark. 2011).

Çizelge 4.2.'de (bakınız sayfa 46) görüldüğü üzere fermentasyon başlangıcında karpuz suların içerdiği laktik asit bakterisi sayısında kontrol örneği dışında kalan örneklerde önemli bir farklılık olmadığı ve kontrol örneğinin diğer üç örnekten farklı olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). 3. saat sonunda *Lb. acidophilus* KPb4b sayısı diğer iki bakteriden daha az artış göstermiş ve *Lb. helveticus* NRRL B-4526 ile *Lb. plantarum* sayıları arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık yokken, *Lb. acidophilus* KPb4b sayısının diğerlerinden farklı olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). 6., 9. ve 12. saatlerde *Lb. acidophilus* KPb4b sayısının gösterdiği artış sebebiyle 0. saate benzer bir durum gözlenmiş, 18. saat sonunda ise 3. saate benzer şekilde *Lb. helveticus* NRRL B-4526 ile *Lb. plantarum* kendi aralarında farklılık göstermiyorken, bu iki bakteriye ait sayıların kontrol *Lb. acidophilus* KPb4b suşunun sayısından önemli ölçüde farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Kontrol örneğinde meydana gelen önemli ölçüdeki ($p < 0.05$) artışın sebebi yukarıda da açıklandığı üzere MRS agarda gelişebilen kontamine mikroorganizmalar olduğu düşünülmüştür. Ayrıca kontrol örneğinde herhangi bir kültür ilavesi yapılmamış

olmasına rağmen, karpuz suyunun doğasından gelen laktik asit bakterileri de mevcuttur.



Şekil 4.1. Fermantasyon süresince laktik asit bakterisi sayısındaki değişim

Şekil 4.1.'de belirtildiği gibi fermantasyon sonunda karpuz sularında en yüksek sayıya ulaşan kültür *Lb. plantarum* (10.0 log kob/mL) olmuştur. Başlangıçta 7.4 log kob/mL inokülasyon yapılmış, bu değer sürekli bir artış göstererek 12. saat sonunda 9.1 log kob/mL, 18. saat sonunda da 10.0 log kob/mL olmuştur. Fermantasyon tamamlandığında kültürler hala çoğalma aşamasındadır. Yoon ve ark. (2006) lahana suyundan fermente ürün elde etmeyi amaçladıkları çalışmalarında başlangıçta $8.0 \pm 6.26 \times 10^5$ düzeyinde olan *Lb. plantarum* sayısının 30 °C'de 72 saatlik fermantasyon sonucunda $17.5 \pm 7.05 \times 10^8$ düzeyine ulaştığını bulmuştur

(Yoon ve ark. 2006). *Lb. plantarum* sayısı karpuz sularınınin fermentasyonunda da lahana suyu fermentasyonuna benzer şekilde yaklaşık 3.0 log kob/mL artış göstermiştir.

Yoon ve ark. (2005) bir başka çalışmada ise, kırmızı pancar suyunu dört farklı probiyotik kültürlerle muamele ederek fermente pancar suyu üretimini araştırmıştır. *Lb. acidophilus* ve *Lb. plantarum* kültürlerinin de içinde olduğu dört içeceğin tümünde de fermentasyonla birlikte LAB sayısının 10^9 kob/mL düzeylerine yükseldiği tespit edilmiştir (Yoon ve ark. 2005). Fermente karpuz suyu içeceklerinde de *Lb. acidophilus* KPb4b (9.0 log kob/mL) ve *Lb. plantarum* (10 log kob/mL) kültürlerinin sayıları lahana suyu içeceğindeki LAB sayısına oldukça yakın bulunmuştur.

Lb. acidophilus KPb4b suşunun fermentasyon süresi içindeki gelişimine bakıldığında, başlangıçta 6.4 log kob/mL olan inokülasyon sayısının ilk üç saat boyunca önemli bir değişiklik göstermediği ($p < 0.05$) ve 3. saat sonunda ancak 6.6 log kob/mL düzeyine ulaşabildiği görülmüştür. Kültürler, bu aşamada başlangıç (lag) fazında olup, yeni besin ve çevre koşullarına uyum sağlamaya çalışmaktadır (Çakmakçı ve ark. 2011). 3. saatten 6. saate kadar geçen üç saatlik sürede kültür bir logaritmik artış göstermiş olup, 6. saat sonunda sayı 7.6 log kob/mL olarak ölçülmüştür. 12. saate kadar kültür sayısındaki artış devam etmiş ve 12. saat sonunda 9.0 log kob/mL olmuştur. Ancak 18. saat sonucunda kültür sayısında herhangi bir değişiklik olmaması (9.0 log kob/mL) geçen 6 saatlik dilimde kültürün durma fazında olduğunu göstermektedir.

Tsen ve arkadaşları *Lb. acidophilus* hücrelerini serbest ve immobilize şekilde muz püresine inoküle etmiş ve gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda yeni bir probiyotik muz ürünü ortaya çıkarmıştır. Çalışma sonucunda immobilize hücrelerin

canlılık oranlarının daha yüksek olduğu ve immobilizasyonun probiyotik kültürü fermantasyon şartlarına karşı koruduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada serbest olarak püreye inoküle edilen bakteri sayısının başlangıçta yaklaşık olarak 5 log kob/mL düzeyinde iken, 40 saatlik fermantasyon sonucunda yaklaşık 7 log kob/mL değerine ulaştığı ve bu saatten itibaren fermantasyonun sonlandırıldığı 80. saate kadar olan kısımda sayıda önemli bir değişiklik olmadığı görülmüştür (Tsen ve ark 2007). Çalışmamızda da benzer şekilde *Lb. acidophilus* KPb4b sayısında başlangıçtan 12. saate kadar olan kısımda 2.6 log kob/mL düzeyinde bir artış gerçekleşmiş, 12. saatten fermantasyon sonuna kadar olan kısımda sayıda herhangi bir değişiklik olmamıştır.

Fermantasyonun sonlandırıldığı anda hücreler ölüm fazına olduğundan bu durum, son üründe depolama ve raf ömrü boyunca probiyotiklerin canlı kalma süresinin kısalması anlamına gelmektedir. Bu açıdan *Lb. acidophilus* KPb4b içeren karpuz suyu fermantasyonun 12. saat sonunda sonlandırılması bakteri sayısı açısından ideal gibi gözükse de, bu süre sonunda pH değeri (4.73) henüz güvenilir sınır olan 4.6'nın altına düşmemiş olduğundan fermantasyona bir süre daha devam edilmesi gerekmektedir.

Son olarak *Lb. helveticus* NRRL B-4526 bakterisinin karpuz suyundaki gelişimi incelendiğinde, başlangıç inokülasyonu (7.3 log kob/mL) ile 3. saat (7.6 log kob/mL) ve 6. saat sonundaki (8.4 log kob/mL) bakteri sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p < 0.05$). Bakteri sayısı 12. saat sonunda 9.1 log kob/mL, 18. saat sonunda ise 9.7 log kob/mL olmuştur. Fermantasyon tamamlanmadan hemen önce, *Lb. plantarum*'a benzer şekilde *Lb. helveticus* NRRL B-4526 bakterisinin de çoğalma hızının azaldığı, ancak çoğalmanın devam ettiği sonucu ortaya çıkmıştır. Bu durum, son üründe bulunan probiyotiklerin

fermantasyon sonrasında canlılığını daha uzun sürdürmesi ve raf ömrü süresinin artması açısından önem taşımaktadır. Çünkü durma fazında hücreler biriken metaboliklerden ve yüksek asitlikten zarar görmektedir (Çakmakçı ve ark. 2011).

4.3. Fermentasyon Süresince pH Değişimi

Karpuz sularının fermentasyonu sırasında probiyotik suşlar, şekerleri kullanarak başta laktik asit olmak üzere organik asitler üretmekte ve artan hidrojen konsantrasyonu nedeniyle pH, fermentasyon boyunca giderek düşmektedir. Fermente ürünlerde pH'nın düşüşü, patojenlerin ve bozulma yapan bakterilerin gelişiminin engellenmesi amacıyla büyük önem taşımaktadır (Liu ve ark. 2011, Sheehan ve ark. 2007). Bu nedenle pH değeri güvenli olarak kabul edilen 4.6 değerinin altına düşene kadar fermentasyonun sürdürülmesi gerekmektedir (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010).

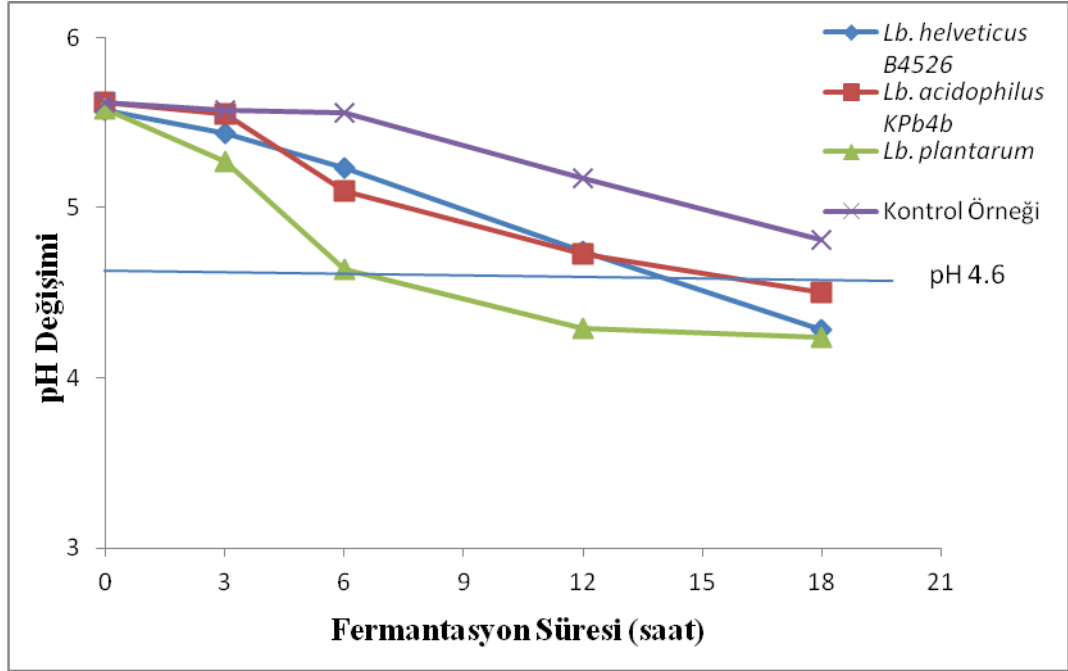
Lb. helveticus B4526, *Lb. acidophilus* KPb4b ve *Lb. plantarum* kültürlerinin eklendiği karpuz suları ile kontrol olarak kullanılan karpuz suyunun başlangıç pH'ları Çizelge 4.4.'te görüldüğü üzere birbirine oldukça yakındır ve pH değerleri 5.57-5.62 arasında değişmektedir. Hayaloğlu ve Fenercioğlu'nun (1990) karpuz suyunun pastörize edilerek dayandırılmasını hedefledikleri çalışmada, kullanılan karpuz suyunun başlangıç pH'sı 5.2 olarak ölçülmüştür (Hayaloğlu ve Fenercioğlu 1990). Ayrıca bir başka çalışmada Perkins-Veazie ve Collins (2004), taze kesilmiş olan Summer Flavor 800 ve Sugar Shack karpuz türlerinin pH değerlerinin 5.74-5.97 arasında değiştiğini bulmuştur (Perkins-Veazie ve Collins 2004).

Çizelge 4.4. Fermantasyonla pH değişimi

pH Sonuçları				
Süre	<i>Lb. helveticus</i> NRRL B-4526	<i>Lb. acidophilus</i> KPb4b	<i>Lb. plantarum</i>	Kontrol Örneği
0. saat	5.57±0.06	5.62±0.08	5.58±0.05	5.62±0.05
3. saat	5.44±0.08	5.55±0.03	5.27±0.05	5.57±0.07
6. saat	5.23±0.06	5.10±0.17	4.64±0.20	5.56±0.07
12. saat	4.74±0.27	4.73±0.43	4.29±0.27	5.17±0.04
18. saat	4.28±0.36	4.50±0.44	4.24±0.28	4.81±0.02

Fermantasyon boyunca pH değerleri giderek düşmüştür. Fermantasyonun 3. 6. 12. ve 18. saatlerinde alınan örnekler üzerinde yapılmış olan ölçümler, 3. ve 6. saatler sonunda en hızlı düşüşün *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş olan karpuz suyunda olduğunu göstermiştir (Şekil 4.2.) Bu durum 18. saatin sonunda da devam etmiş ve fermantasyon sonunda pH değeri en düşük olan karpuz suyunun (4.24±0.28) *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş karpuz suyu olduğu görülmüştür. Kontrol örneği dışında tüm karpuz sularında 18. saat sonundaki pH değerleri 4.6 değerinin altında bulunmuştur. Bu nedenle fermente karpuz suyu içeceğinde hastalık etmeni ve bozulma yapan bakterilerin gelişiminin zor olduğu ve düşük pH değerlerinin ürün güvenilirliğini arttırdığı savunulabilir. Buna karşın, herhangi bir kültür eklenmeyen kontrol örneğine ait fermantasyon sonrası pH değerinin de (4.81±0.02) başlangıç örneğine kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bilindiği üzere sebze ve meyveler *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. xylosus* ve *Lb. sakei* gibi pek çok laktik asit bakterisini doğal olarak bünyelerinde bulundurmaktadır (Pereira ve ark. 2011, Cagno ve ark.

2009). Kontrol örneğinin pH değerinin fermantasyon süresi boyunca azalma göstermesinin, karpuzun doğasından gelen laktik asit bakterilerinin faaliyetlerinden kaynaklandığı söylenebilir.



Şekil 4.2. Fermantasyonla pH değeri değişimi

Yoon ve ark. (2004), domates suyunu *Lb. acidophilus* LA39, *Lb. plantarum* C3, *Lb. casei* A4 ve *Lb. delbrueckii* D7 kültürleri ile fermente etmiş ve kültürlerin 30 °C'de 72 saatlik fermantasyon süresince domates suyunda gelişerek pH'yı 4.1'den 3.5 değerine kadar düşürdüğünü bulmuştur (Yoon ve ark. 2004).

Yoon ve ark. (2005) bir başka çalışmada ise, kırmızı pancar suyunu aynı probiyotik kültürlerle muamele ederek fermente pancar suyu üretimini araştırmıştır. Bu araştırmanın sonunda *Lb. acidophilus* LA39 ve *Lb. plantarum* C3 bakterileri pH

değerini diğer bakterilere oranla daha fazla düşürmüş ve pancar suyunun 6.3 olan başlangıç pH'sının 4.5 değerine inmesi için 30 °C'de 48 saatlik fermantasyon yeterli olmuştur (Yoon ve ark. 2005). Karpuz sularının fermantasyonunda ise *Lb. plantarum* ile *Lb. helveticus* NRRL B-4526 suşları fermantasyon sonunda karpuz suyunun pH'sında, *Lb. acidophilus* KPb4b suşuna kıyasla daha fazla düşüş sağlamıştır. *Lb. plantarum* ile *Lb. helveticus* NRRL B-4526 ile inoküle karpuz sularının fermantasyon sonrası pH değerleri sırasıyla 4.24 ± 0.28 ve 4.28 ± 0.36 iken *Lb. acidophilus* KPb4b eklenen karpuz suyunda 4.50 ± 0.44 olmuştur.

Pereira ve ark. (2011), Amerikan elması suyuna *Lactobacillus casei* inoküle ederek probiyotik bir içecek üretmek amaçladıkları çalışmalarında, elma suyunun başlangıç pH'sının 6.4 olduğunu ve sırasıyla 7.00, 7.30 ve 7.48 log kob/mL kültür inoküle edilen elma sularının 24 saatlik fermantasyon sonundaki pH değerlerinin 4.55, 4.26 ve 4.17 değerlerine düştüğünü bulmuştur. Ayrıca çalışma sonucunda 7.48 log kob/mL ilave edilen elma suyunun pH değerinin 16 saatlik fermantasyon sonunda 4.6'nın altına düştüğü ve fermantasyon süresinin uzatılmasının pH düşmesi sebebiyle hücrelere zarar verdiği, düşük pH değerlerinde hücre gelişiminin azaldığı belirtilmiştir. Bununla birlikte, başlangıç kültür inokülasyonu en fazla olan örnekte pH'daki düşüş de en fazla olmuştur (Pereira ve ark. 2011). Karpuz sularının fermantasyonunda ise *Lb. helveticus* NRRL B-4526 ve *Lb. acidophilus* KPb4b inoküle edilen karpuz sularında pH'nın 4.6'nın altına 18. saat sonunda düştüğü, *Lb. plantarum* inoküle edilen karpuz suyunda ise 12. sonunda pH değerinin 4.29 ± 0.27 olduğu ve 18. saate kadar olan kısımda pH'da önemli bir değişiklik olmadığı bulunmuştur. Fakat Çizelge 4.4 ve Şekil 4.2.'de de görüldüğü üzere asitliğin artması sebebiyle pH meydana gelen düşüşün, *Lb. plantarum* hücrelerinin gelişimine zarar vermediği ortaya konulmuştur.

4.4. Fermantasyon Süresince Toplam Titrasyon Asitliği Değişimi

Laktik asit fermantasyonu boyunca kültürler, glukozu parçalamakta ve kullanılan metabolik yola göre farklı son ürünler oluşturmaktadır. Homofermantatif LAB son ürün olarak laktik asit oluştururken, heterofermantatif LAB birincil ürün olarak laktik asit yanında, etil alkol, asetik asit, diasetil ve karbondioksit gibi ikincil ürünleri de üretirler (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010, Fettahoğlu, S). Karpuz sularının fermantasyonu sırasında da bu durum gözlenmiş olup, toplam titrasyon asidi miktarı fermantasyon süresince artmıştır. Çizelge 4.4.'te de görüldüğü üzere fermantasyonun başında örneklerin laktik asit cinsinden toplam asit miktarı birbirine oldukça yakın olup 0.66-0.69 g/L aralığında değişmektedir. Karpuz sularının başlangıç titrasyon asidi miktarı literatürle uyum göstermektedir. Örnek verilecek olursa, Hayaloğlu ve Fenercioğlu (1990) çalışmalarında kullandıkları ‘‘Halepkarası’’ karpuzundan elde edilen karpuz suyunun toplam asit miktarının 0.5 g/L olduğunu belirtmişlerdir (Hayaloğlu ve Fenercioğlu 1990).

Fermantasyon sonunda en fazla titrasyon asidi içeren örneğin 3.30 ± 0.12 g/L ile *Lb. helveticus* NRRL B-4526 ile inoküle edilen örnek olduğu tespit edilmiştir. Bu örneği sırasıyla *Lb. plantarum* (3.02 ± 0.25 g/L) ve *Lb. acidophilus* KPb4b (2.90 ± 0.30 g/L) ile fermente edilen örnekler izlemiştir. Buna karşın Yoon ve ark. (2005), 4 farklı kültür kullanarak probiyotik pancar suyu üretmeyi amaçladığı çalışma da en fazla asitlik artışının *Lb. plantarum* ve *Lb. acidophilus* ile inoküle edilen pancar sularında olduğunu bulmuştur (Yoon ve ark. 2005). Karpuz suyu fermantasyonunda tam tersi bir durum gözlenmesinin nedeninin *Lb. plantarum* ve *Lb. acidophilus* KPb4b kültürlerinin başlangıç inokülasyonlarının *Lb. helveticus* NRRL B-4526 bakterisinin başlangıç inokülasyonuna oranla daha az olması düşünülebilir.

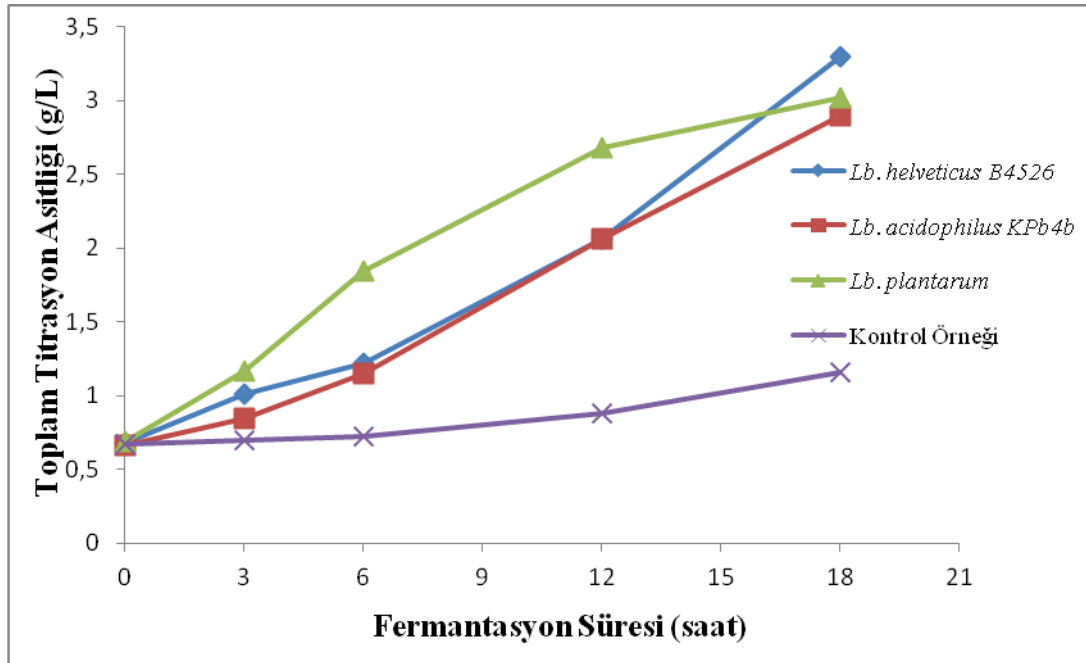
Çizelge 4.5. Fermantasyon süresince toplam titrasyon asidi miktarındaki değişim

Toplam Titrasyon Asitliği* (g/L)				
Süre (saat)	<i>Lb. helveticus</i> NRRL B-4526	<i>Lb. acidophilus</i> KPb4b	<i>Lb. plantarum</i>	Kontrol Örneği
0.	0.68±0.03	0.66±0.02	0.69±0.03	0.67±0.02
3.	1.01±0.15	0.84±0.03	1.17±0.04	0.70±0.02
6.	1.22±0.03	1.15±0.03	1.84±0.62	0.72±0.03
12.	2.06±0.05	2.06±0.05	2.68±0.56	0.88±0.03
18.	3.30±0.12	2.90±0.30	3.02±0.25	1.16±0.07

*Laktik asit cinsinden

Fettahoğlu'nun malt suyunu *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus rhamnosus* bakterilerini kullanarak malt içeceği ürettiği tez çalışmasında, laktik asit cinsinden toplam asitliğin fermantasyon boyunca düzenli olarak arttığı belirlenmiştir. Hem %6 şeker yoğunluklu örnekler hem de %10 şeker yoğunluklu örnekler içinde en fazla artış *Lb. rhamnosus*, en az artış ise *Lactobacillus fermentum* içeren örneklerde gerçekleşmiştir. *Lb. plantarum* içeren %6 şeker yoğunluklu malt suyunun asit miktarı 0.650 g/L iken 7 günlük fermantasyon sonucunda 7.16 g/L değerine ulaşmış, %10 şeker yoğunluklu malt suyunun asit miktarı ise başlangıçta 1.2 g/L iken 10 günlük fermantasyon sonunda 9.2 g/L olmuştur (Fettahoğlu 2009). Buradan varılan sonuç ise, örnekteki başlangıç şeker miktarı arttıkça üretilen toplam asit miktarının da artmasıdır.

Şekil 4.3.'te görüldüğü gibi kontrol örneğinde başlangıçtaki toplam asit miktarı (0.67 ± 0.02 g/L) 6. saat sonuna kadar çok az miktarda artış göstermiş, fermentasyon sonunda ise 1.16 g/L düzeyine ulaşmıştır. Bakteri inoküle edilmiş diğer örneklerden daha az olan kontrol örneğindeki bu artışın karpuzun doğal olarak bulundurduğu laktik asit bakterilerinin üretmiş olduğu laktik asitten kaynaklandığı söylenebilmektedir.



Şekil 4.3. Fermentasyon süresi boyunca toplam titrasyon asitliğindeki (g/L) değişim

4.5. Fermantasyon Süresince Renkte Oluşan Değişmeler

Gıdaların rengi tüketici beğenisinde önemli rol oynamaktadır (Aguiló-Aguayo ve ark. 2009b). Fermantasyon süresince renk değerlerindeki değişim CIE- $L^*a^*b^*$ renk sistemine göre; L^* (aydınlık değeri), $+a^*$ (kırmızı), $+b^*$ (sarı), C (Chroma-renk yoğunluğu) ve h (hue-renk tonu) değerlerinin saptanmasıyla belirlenmiştir. Çizelge 4.6.'da verilen sonuçlara bakıldığında kontrol örneğinin başlangıçtaki L^* , a^* ve b^* değerlerinin sırasıyla 24.42 ± 0.34 , 7.20 ± 0.77 ve 3.26 ± 1.49 olduğu görülmektedir. Aguiló-Aguayo ve ark. (2009), karpuz, çilek ve domates suları üzerinde HIPEF prosesinin etkileri üzerine yaptıkları çalışmada, proses edilmemiş karpuz suyunun başlangıç L^* , a^* ve b^* değerlerini kontrol örneğimize yakın değerler olan 26.047 ± 0.021 , 6.30 ± 0.02 ve 3.97 ± 0.03 olarak saptamıştır (Aguiló-Aguayo ve ark. 2009b).

Çizelge 4.6.'da görüldüğü üzere örneklerin L^* değerlerinde fermantasyonla birlikte büyük bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Tüm örneklerde fermantasyon sonrasındaki L^* değeri başlangıça oranla bir miktar artmış, fakat bu artış düzenli gerçekleşmemiştir. Örneklerin başlangıç L^* değerleri 24.36-25.00 arasında değişirken, fermantasyon sonrasında bu aralık 25.24-25.63 olarak saptanmıştır. Aguiló-Aguayo ve ark. (2010), ısıtma işlem ve HIPEF'e maruz bırakılan karpuz sularının 4 °C'de 56 günlük depolama boyunca L değerlerindeki değişimi incelemişler ve araştırmamıza benzer şekilde her iki örnekte de depolama sonunda L^* değerlerinin düzenli bir biçimde olmasa da artış gösterdiğini bulmuştur (Aguiló-Aguayo ve ark. 2010a).

Çizelge 4.6. Fermantasyon süresince karpuz suyunun renk değerlerindeki değişim

Fermantasyon süresi (saat)	Renk değerleri	<i>Lb. helveticus</i> NRRL B-4526	<i>Lb. acidophilus</i> KPb4b	<i>Lb. Plantarum</i>	Kontrol örneği
0.	L*	24.38±0.35	24.36±0.33	25.00±0.53	24.42±0.34
	a*	6.81±0.65	6.60±0.42	7.42±0.89	7.20±0.77
	b*	3.21±1.76	3.64±1.74	3.70±1.43	3.26±1.49
	C	7.80±0.28	7.30±1.12	9.32±0.29	7.26±1.91
	h	17.34±1.15	19.7±1.32	24.03±1.05	23.76±1.09
3.	L*	24.70±0.76	24.76±0.60	25.20±0.46	24.74±0.63
	a*	8.06±0.45	8.32±0.78	8.76±0.92	8.17±0.80
	b*	3.58±1.28	3.67±1.50	3.90±1.63	4.80±2.07
	C	9.16±0.52	9.30±0.07	9.63±0.17	9.04±0.20
	h	21.00±0.23	22.00±1.05	23.51±1.01	23.57±2.89
6.	L*	25.30±0.78	25.07±0.65	24.24±0.88	26.42±2.64
	a*	8.60±0.99	8.61±0.92	8.76±0.86	8.41±0.79
	b*	3.68±1.44	3.76±1.58	4.27±1.56	4.23±2.58
	C	9.41±0.48	9.51±0.27	9.87±0.15	8.09±2.29
	h	23.25±1.09	24.08±1.05	26.06±1.03	24.25±1.17
12.	L*	24.99±0.77	25.18±0.57	25.55±0.82	25.05±0.55
	a*	8.70±0.74	9.10±0.82	9.28±1.13	8.44±0.87
	b*	4.01±1.61	4.16±1.90	4.50±1.52	5.25±2.88
	C	9.74±0.11	10.15±0.57	10.44±0.35	7.43±3.42
	h	24.75±1.08	23.69±1.05	26.09±1.03	22.39±1.23
18.	L*	25.47±0.77	25.63±0.37	25.46±0.73	25.24±0.98
	a*	9.03±0.73	9.43±1.03	9.31±0.82	9.18±1.47
	b*	4.26±1.55	4.75±1.42	4.71±1.62	5.12±2.14
	C	10.09±0.31	10.65±0.30	10.45±0.15	10.36±0.80
	h	25.25±1.59	26.61±1.06	26.79±1.86	26.99±1.58

Sonuçlara göre, kırmızılığı ifade eden $+a^*$ değerinin, fermantasyon boyunca kontrol örneği dahil tüm örneklerde düzenli bir biçimde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Sarılığı ifade eden $+b^*$ değerlerine bakıldığında ise kontrol örneği dışındaki tüm örneklerde $+a$ kırmızılık değerine benzer şekilde düzenli bir artış olduğu belirlenmiştir. Kontrol örneğinde $+b^*$ sarılık değeri ise başlangıç değerine kıyasla artmış; ancak bu artış düzenli gerçekleşmemiştir. Durum özetlendiğinde tüm örneklerin fermantasyon sonrasındaki L^* , a^* ve b^* değerlerinin fermantasyon başlangıcındaki değerlerden yüksek olduğu ortaya konulmuştur.

Araştırmamıza benzer bir sonuç, Aguiló-Aguayo ve ark. (2009) tarafından 90 °C’de 6 saniye ısıtma işlemine maruz bırakılan karpuz sularının L^* , a^* ve b^* değerlerinde elde edilmiştir. Isıl işlem prosesi de tıpkı fermantasyon prosesinde olduğu gibi karpuz sularının L^* , a^* ve b^* değerlerini arttırmış ve başlangıçta sırasıyla 26.047, 6.30 ve 3.97 olan L^* , a^* ve b^* değerleri proses sonunda 26.198, 11.65 ve 4.03 değerlerine yükselmiştir (Aguiló-Aguayo ve ark. 2009b).

Fermantasyon prosesinin meyve ve sebzelerin renk değerleri üzerinde nasıl bir etkisi olduğunun ölçüldüğü çalışmalar da mevcuttur. Cagno ve ark. (2011), taze meyve sebzelerin karışımlarından meydana gelen kırmızı (vişne, domates, çilek ve kurutulmuş erik) ve yeşil renklere (kivi, ıspanak, papaya ve rezene) sahip 2 ayrı püre karışımına *Weissella cibaria*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus* sp. and *Lactobacillus pentosus* bakterilerden oluşan karışık kültürü eklemiş ve 30 °C’de 4 günlük fermantasyona tabi tutmuştur. Fermantasyonun ardından toplam renk değeri olarak ifade edilen ve $dE^*_{ab} = [(dL)^2 + (da)^2 + (db)^2]^{1/2}$ formülü ile hesaplanan dE^*_{ab} değerinin hem kırmızı hem de yeşil pürede önemli derecede artış gösterdiğini bulmuştur ($p < 0.05$). Fermantasyona bırakılan kontrol örneklerinin toplam renk

değeri de karpuz suyunun kontrol örneğine benzer şekilde artmıştır (Cagno ve ark. 2011).

Zhang ve ark. (2011), ısıt işlem, yüksek basınç ve UV-ışınlama proseslerinin karpuz suyunun kalite parametreleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada farklı proseslerin ve farklı proses parametrelerinin renk değerleri üzerinde farklı etkileri olduğunu bulmuştur. Isıt işlem uygulanan örneklerde $+a^*$ ve $+b^*$ değerlerinin kontrole ($a^*= 6.36\pm0.08$ ve $b^*= 15.7\pm0.35$) oranla arttığı, uygulama süresi arttıkça (5, 20 ve 60 dakika) kontrole oranla artış sürse de artış oranının azaldığı ortaya çıkmıştır. Örneğin, 60 °C’de 5 dakika ısıt işleme maruz kalan karpuz sularında a^* ve b^* değerleri 8.38 ± 0.38 ve 17.87 ± 0.61 iken aynı sıcaklıkta 20 dakika ısıt işlem uygulanan örneklerde a ve b değerleri 6.88 ± 0.05 ve 17.67 ± 0.87 olarak saptanmıştır. Yüksek basınç uygulanan karpuz sularında ise, düşük muamele süresi ve düşük basınçta (5 dakika-300 MPa ve 5 dakika-600 MPa) a^* ve b^* değerlerinin artış gösterdiği, süre ve basınç miktarı arttıkça (20 dakika-900 MPa, 40 dakika-900 MPa, 60 dakika-900 MPa ve 60 dakika-60 MPa) a^* ve b^* değerlerinin kontrol örneğinden daha düşük değerlerde bulunduğu belirtilmiştir. UV uygulamasının da karpuz suyunun rengi üzerinde benzer şekilde etki gösterdiği, ışınlara maruz kalma süresi arttıkça a^* ve b^* değerlerinin azaldığı ortaya konulmuştur (Zhang ve ark. 2011).

Karpuza doğal kırmızı rengi veren başlıca pigment likopendir. Literatürde özellikle domateste likopen miktarı ve renk değerleri arasındaki ilişkiyi ortaya koyan çalışmaların mevcut olduğu bildirilmiştir (Toor ve ark. 2006). Bazı çalışmalarda ise bu durumun aksine karotenid madde miktarı ile renk değerleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır (Erge 2007). Fakat araştırmamızda karpuz sularının

likopen içeriğine bakılmadığından, böyle bir korelasyon olup olmadığına dair bilgi sahibi olunamamıştır.

4.6. Suda Çözünür Kuru Madde ve Şeker Analizi Sonuçları

Karpuzun suda çözünür kuru madde içeriğini bünyesinde bulundurduğu şekerler, organik asitler, vitamin ve mineral gibi minör bileşikler oluşturmaktadır. Fermantasyon prosesi sırasında ortamda bulunan fermente olabilir şekerler laktik asit bakterileri tarafından kullanılmakta, bulunan şekerlerin miktarının azalması sebebiyle ortamın suda çözünür kuru madde içeriğinde de azalma meydana gelmektedir. Karpuz suyunun suda çözünür kuru madde içeriğinin fermantasyon süresince değişimini gösteren sonuçlar Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Suda çözünür kuru madde içeriği (°Brix)

Suda Çözünür Kuru Madde Miktarı (°Brix)				
Süre (saat)	<i>Lb. helveticus</i> NRRL B-4526	<i>Lb.</i> <i>acidophilus</i> KPb4b	<i>Lb. plantarum</i>	Kontrol Örneği
0. saat	7.60±0.57	7.55±0.64	7.50±0.58	7.50±0.58
3. saat	7.23±0.72	7.02±0.56	7.23±0.84	7.35±0.64
6. saat	7.18±0.63	7.00±0.58	7.13±0.90	7.30±0.64
12. saat	6.93±0.78	6.85±0.98	7.03±0.56	7.08±0.61
18. saat	6.67±0.58	6.73±1.30	6.45±0.73	6.88±0.72

Karpuz suyu üzerine yapılan çalışmalarda suda çözünür kuru madde içeriğinin %8.5-%12.4 arasında değiştiği bulunmuştur (Szamosi ve ark. 2007, Perkins-Veazie and Collins 2004, Hayaloğlu ve Fenercioğlu 1990). Araştırmamızda ise karpuz sularının başlangıç suda çözünür kuru madde içeriğinin 7.50-7.60 °Brix arasında değiştiği görülmektedir. Fermantasyonla birlikte tüm örneklerin suda çözünür kuru madde içeriklerinde azalma meydana gelmiştir. Fermantasyon sonunda suda çözünür kuru madde içeriği en çok azalan örnek *Lb. plantarum* eklenmiş olan, en az azalan ise kontrol örneği olmuştur. 18. saat sonunda *Lb. plantarum* eklenmiş olan örnekte suda çözünür kuru madde içeriği 6.45 ± 0.73 °Brix değerine kadar düşmüştür. Bu durum, fermantasyon süresince karpuz suyunda bulunan şekerlerin miktarında meydana gelen azalma ile açıklanabilmektedir. Çizelge 4.8.'de fermantasyon başlangıcında ve sonunda örneklerde bulunan şeker miktarları verilmiştir.

Karpuzda bulunan başlıca şekerler glukoz, früktoz ve sakarozdur. Karpuzda, glukoz ve früktoz gelişimin ilk aşamalarında biriktirilmeye başlamaktadır. Yaklaşık 30 günden sonra biriken glukoz ve früktoz sakaroza dönüştürülmekte ve bu kez sakaroz birikimi başlamaktadır. Bu durum hasattan sonra da devam etmektedir ve glukoz ile früktoz içeriği azalırken, sakaroz içeriği artmaktadır (Yativ ve ark. 2010, Kano 1991).

Çizelge 4.8.'deki sonuçlara bakıldığında, başlangıçta tüm örneklerin glukoz, früktoz ve sakaroz miktarlarının birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Fermantasyon sırasında örneklerde bulunan glukoz ve sakaroz miktarlarında azalma görülürken, früktoz miktarı artış göstermiştir. Sakaroz, bakteriler tarafından doğrudan kullanılamadığı için öncelikle kendisini oluşturan glukoz ve früktoz şekerlerine parçalanmakta, daha sonra açığa çıkan glukoz bakteriler tarafından

kullanılmaktadır. Früktoz da sakaroz gibi bakterilerin doğrudan kullanamadığı bir şekerdir, bu nedenle sakarozun parçalanması ile birlikte karpuz suyunda bulunan früktoz miktarı da artış göstermiştir. Glukoz ve sakaroz içeriği en fazla azalan örnek *Lb. plantarum* içeren örnek olmuştur.

Çizelge 4.8. Fermantasyon başlangıcında ve sonunda örneklerde bulunan şeker miktarı

Örneklerde Bulunan Glukoz, Sakkaroz ve Früktoz Miktarı (g/100 g karpuz suyu)						
Örnek çeşidi	Glukoz		Sakkaroz		Früktoz	
	0. saat	18.saat	0. saat	18.saat	0. saat	18.saat
Lh.	1.00±0.00	0.90±0.14	3.00±0.71	2.35±0.64	2.45±0.07	2.60±0.14
La	0.95±0.07	0.85±0.07	2.95±0.78	2.40±0.42	2.45±0.07	2.65±0.07
Lp	0.95±0.07	0.75±0.07	3.05±0.64	2.25±0.49	2.45±0.07	2.60±0.14
K	0.90±0.00	0.85±0.00	3.05±0.64	2.35±0.35	2.40±0.14	2.50±0.00

*(Lh: *Lb. helveticus* NRLL B-4526 içeren örnek, La: *Lb. acidophilus* KPb4b içeren örnek, Lp: *Lb. plantarum* içeren örnek ve K: Kontrol örneği)

Yapılan çalışmalara bakıldığında Cagno ve ark. (2011), kırmızı ve yeşil iki farklı meyve-sebze püresi karışımını *Weissella cibaria*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus* sp. and *Lactobacillus pentosus* ile fermente etmiş ve fermantasyon süresince suda çözünür kuru madde içeriğinde önemli bir azalma olduğunu, fakat glukoz ve früktoz miktarlarında önemli bir değişiklik olmadığını bulmuştur (Cagno

ve ark. 2011). Araştırmamızda benzer bir sonuç elde edilmiş ve sakaroz miktarındaki azalmadan ötürü suda çözünür kuru madde miktarında azalma meydana gelmiştir.

Kun ve ark. (2008) ise 3 farklı *Bifidobacterium* suşu (*B. lactis* Bb-12, *B. bifidum* B7.1 ve B3.2) kullanarak havuç suyunu fermente etmiş ve 24 saatlik fermantasyon sonunda toplam şeker miktarında azalma meydana geldiğini bulmuştur (Kun ve ark. 2008).

Yoon ve ark. (2006), lahana suyunu 3 farklı *Lactobacillus* suşu (*Lactobacillus plantarum* C3, *Lactobacillus casei* A4 ve *Lactobacillus delbrueckii* D7) ile fermente etmiş ve 72 saatlik fermantasyon süresince tüm örneklerin şeker miktarında azalma olduğunu bulmuştur. En fazla azalma *Lb. plantarum* ile fermente edilen örnekte olmuştur (Yoon ve ark. 2006). Bu araştırmada da benzer şekilde şeker miktarının en fazla tüketildiği örneğin *Lb. plantarum* ile fermente edilen örnek olduğu saptanmıştır.

4.7. Toplam Fenolik Madde Miktarındaki Değişiklikler

Karpuz sularında toplam fenolik madde miktarı Folin–Ciocalteu kolorimetrik metoduna göre yapılmış ve sonuçlar kateşin eşdeğeri cinsinden mg/L olarak verilmiştir. Çizelge 4.9. da görüldüğü gibi fermantasyon başlangıcında örneklerin toplam fenolik madde miktarı 133.86 ± 8.11 ile 137.04 ± 7.74 mg kateşin eşdeğeri/L arasında değişmekte olup, örnekler arasında toplam fenolik madde miktarı yönünden önemli bir farklılık yoktur ($p < 0.05$). Bulunan değerler literatürle uyum göstermektedir (Tlili ve ark. 2011). Fakat fermantasyon sonrasında *Lb. plantarum* inoküle edilen karpuz suyu örneği diğer örneklerden farklılık göstermiş ($p < 0.05$) ve

en fazla toplam fenolik madde, 201.94±4.52 mg kateşin eşdeğeri/L ile bu örnekte bulunmuştur. *Lb. helveticus* NRRL B-4526 ve *Lb. acidophilus* KPb4b ile fermente edilen karpuz suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarının ise fermentasyon sonunda kontrol örneğinden herhangi bir farklılık göstermediği saptanmıştır.

Çizelge 4.9. Karpuz suyunda fermentasyon süresince toplam fenolik madde miktarındaki değişim

Örnek Çeşidi	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg kateşin eşdeğeri/L karpuz suyu)	
	Fermentasyon başlangıcı	Fermentasyon sonu
<i>Lb. helveticus</i> NRRL B-4526	136.47±3.71 ^{a,A}	171.94±9.08 ^{a,B}
<i>Lb. acidophilus</i> KPb4b	133.86±8.11 ^{a,A}	174.82±4.37 ^{a,B}
<i>Lb. plantarum</i>	137.04±7.74 ^{a,A}	201.94±4.52 ^{b,B}
Kontrol Örneği	135.59±5.37 ^{a,A}	151.86±1.08 ^{a,A}

P<0.05 seviyesinde önemli.

^{a,b,c} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (p<0.05)

^{A,B,C} Aynı satırda yer alan farklı büyük harfle gösterilen değerler arasındaki saatlere bağlı farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (p<0.05)

Fermentasyon sonunda, başlangıçta inokülasyon yapılmış örneklerin toplam fenolik madde miktarı, başlangıç değerine oranla önemli ölçüde artış göstermiştir

($p<0.05$). En fazla artış *Lb. plantarum* ile fermente edilen karpuz suyunda gerçekleşirken, kontrol örneğinde meydana gelen artışın istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği görülmüştür ($p<0.05$). Fermantasyonla birlikte karpuz suyunda bulunan fenolik madde miktarında artış meydana gelmesi, fermantasyon başlangıcında eklenen laktik asit bakterilerinin faaliyetleri ile ilişkilendirilebilir. Literatürde fenolik öncül maddesi olan maddelerin fermantasyon sırasında meydana gelen bir takım değişikliklerle birlikte fenolik maddelere dönüştüğü bildirilmektedir. Bu tür dönüşümlerde bakteriler tarafından üretilen β -glukozidaz, lakkaz, α -amilaz, tanin açıl hidrolaz gibi enzimler rol oynamaktadır. Özellikle β -D-glukozidaz enziminin şekerlerle bağlı formdaki fenolik glukozidler serbest fenolik asitlere dönüştürdüğü bilinmektedir (Martins ve ark. 2011).

Fenolik içeriği yüksek sebze ve meyvelerin çeşitli kısımlarının substrat olarak kullanıldığı bazı katı hal fermantasyonları ile fenolik madde üretimi ve ekstraksiyonu üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde karpuz kabukları *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile katı hal fermantasyonuna tabi tutulmuş ve fermantasyon sonrasında fenolik madde içeriğinde araştırmamıza benzer şekilde başlangıca oranla önemli ölçüde bir artış gerçekleştiği görülmüştür (Erukainure ve ark. 2011).

Bir diğer çalışmada Cagno ve ark. (2011), kırmızı ve yeşil iki farklı meyve-sebze püresi karışımını *Weissella cibaria*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus* sp. ve *Lactobacillus pentosus* ile fermente etmişler, fermantasyon sonrasında çalışmamızın aksine toplam fenolik madde içeriğinde önemli bir değişiklik olmadığını bulmuştur (Cagno ve ark. 2011).

Karpuz suyu muhafazasında uygulanan işlemler fenolik madde miktarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Karpuz suyunun termosonikasyon uygulaması

ile muhafaza edilmesi üzerine yapılan bir çalışmanın sonucunda, başlangıçta 138.9 mg GAE/L olarak ölçülen fenolik madde miktarının uygulama süresi ve sıcaklık derecesi arttıkça önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. 45 °C 'de 2, 6 ve 10 dakikalık termosonikasyon uygulaması sonunda fenolik madde miktarının sırasıyla %83.23, %63.11 ve % 41.56 oranında korunabildiği görülmüştür (Rawson ve ark. 2011). Tüm bu araştırmalar bir arada düşünüldüğünde fermantasyon prosesinin karpuz suyunun toplam fenolik madde içeriğinin korunmasında ve arttırılmasında diğer alternatif yöntemlere üstünlük sağladığı görülmektedir.

4.8. Antioksidan Aktivitede Meydana Gelen Değişimler

Antioksidan aktivite ölçümü TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) metoduna göre yapılmış olup, sonuçlar μ M troloks eşdeğeri/100 g karpuz suyu cinsinden verilmiştir. Fermantasyon başlangıcında kültür inoküle edilen örneklerin antioksidan aktivite değerinin kontrol örneğine kıyasla daha fazla olduğu; fakat bu farklılıkların önemsiz olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$).

Çizelge 4.10. incelendiğinde fermantasyon sonrasında *Lb. helveticus* NRRL B-4526 ile *Lb. acidophilus* KPb4b eklenmiş örnekler ve kontrol örneği arasındaki farklılıkların önemli olmadığı, fakat *Lb. plantarum* eklenmiş karpuz suyunun antioksidan aktivite değerinin diğer 3 örnekten önemli miktarda fazla olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Hem 0. saat hem de 18. saatte antioksidan aktivite yönünden örnekler arasındaki farklılıklar toplam fenolik madde miktarlarına ait sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Karpuz suyuna antioksidan özellik kazandıran başlıca bileşenlerin fenolik bileşikler, karotenoidler ve C vitamini olduğu düşünüldüğünde

ve fermentasyonla birlikte fenolik madde miktarındaki artış göz önüne alındığında antioksidan aktivite artışı beklenen bir sonuçtur (Tlili ve ark. 2010, Edwards ve ark. 2003). Nitekim, toplam fenolik madde içeriğindeki artış ile antioksidan aktivite artışı arasında güçlü bir korelasyon olduğu ve bu korelasyonun istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($r=0.85$, $p<0.05$).

Çizelge 4.10. Karpuz suyunda fermentasyon süresince antioksidan aktivitedeki değişim

Örnek Çeşidi	Antioksidan Aktivite (μM troluks/100 g karpuz suyu)	
	Fermentasyon başlangıcı	Fermentasyon sonu
<i>Lb. helveticus</i> NRRL B-4526	$4.88 \pm 0.68^{a,A}$	$5.43 \pm 0.81^{a,A}$
<i>Lb. acidophilus</i> KPb4b	$4.55 \pm 1.34^{a,A}$	$5.60 \pm 0.96^{a,b,A}$
<i>Lb. plantarum</i>	$4.65 \pm 1.13^{a,A}$	$7.53 \pm 1.20^{b,B}$
Kontrol Örneği	$3.78 \pm 0.92^{a,A}$	$4.60 \pm 0.93^{a,A}$

$P<0.05$ seviyesinde önemli.

^{a,b,c} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır ($p<0.05$)

^{A,B,C} Aynı satırda yer alan farklı büyük harfle gösterilen değerler arasındaki saatlere bağlı farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır ($p<0.05$).

Fermantasyon sonrasında antioksidan aktivite değeri önemli ölçüde artan tek örnek *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş karpuz suyudur ($p<0.05$). Diğer örneklerde meydana gelen artışın önemsiz olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

Fermantasyon prosesinin antioksidan aktivite üzerine etkisinin araştırıldığı son dönem çalışmalarda, özellikle katı hal fermantasyonlarının ortamın fenolik madde içeriğini zenginleştirdiği, bunun da fermantasyon sonrası antioksidan aktivite değerini arttırdığı sonucuna varılmıştır. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteyi güçlendirmesi sebebiyle toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivite arasında güçlü bir korelasyon olduğu bildirilmektedir (Martins ve ark. 2011).

Soya içeren fermente ürünler üzerine yapılan çalışmalar da bazı fermente soya ürünlerinin antioksidan kapasitesinin fermente edilmemiş soya fasülyesine oranla çok daha fazla olduğunu göstermektedir. Wang ve ark. (2006) tarafından yapılan benzer bir araştırmada, laktik asit bakterileri (*Lactobacillus acidophilus* CCRC 14079, *Streptococcus thermophilus* CCRC 14085) ve bifidobakterler (*Bifidobacterium infantis* CCRC 14633, *Bifidobacterium longum* B6) ile ayrı ayrı ve karışık şekilde fermente edilen soyaların tümünün antioksidan aktivitesinde artış olduğu bulunmuştur. Ayrıca karışık kültürlerin antioksidan aktiviteyi bakterilerin tek başlarına kullanıldıkları proseslere oranla daha fazla arttırdığı ortaya konulmuştur (Wang ve ark. 2006).

Fermantasyon prosesinin antioksidan aktivitenin korunması yönünden diğer proseslerle karşılaştırılması için literatüre bakıldığında iki çalışma göze çarpmaktadır. O çalışmalardan ilki, Oms-Oliu ve ark. (2009) tarafından karpuz suyunun HIPEF'e maruz bırakıldığı ve ardından bazı kalite parametrelerinin ölçüldüğü çalışmadır. Araştırma sonunda antioksidan aktivite miktarının 250 Hz'de 35 kV/cm elektrik alanda 7 μ s genlikteki prosesten etkilenmediği, fakat genlik 1 μ s,

frekans 50 Hz değerine düşürüldüğünde antioksidan aktivitenin önemli ölçüde azaldığı ortaya konulmuştur (Oms-Oliu ve ark. 2009). Termosonikasyon uygulamasının karpuz suyunun biyoaktif bileşenleri üzerindeki etkisinin incelendiği diğer çalışmanın sonucunda ise, antioksidan aktivitede önemli rol oynayan likopen, toplam fenolik madde ve C vitamini değerlerinin tümünün termosonikasyon prosesinden olumsuz etkilendiği bulunmuştur (Rawson ve ark. 2011). Sonuç olarak, fermantasyon prosesinin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerinin korunmasında diğer yöntemlere üstünlük sağladığını söylemek mümkündür.

4.9. Duyusal Analiz Sonuçları

Yapılan çalışmalar gıdaların tüketiciler tarafından tercihinde en önemli faktörün duyusal özellikler olduğunu göstermektedir (Luckow ve ark. 2006). Bu nedenle, fermente karpuz suyu içeceklerinde tüketici beğenisi ölçülmüştür. Fermantasyon başlangıcında ve sonlandırıldığı 18. saatte alınan örnekler, renk, koku, tat ve genel beğeni kriterleri yönünden 8 adet panelist tarafından analiz edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.11.'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde fermantasyon başlangıcında koku, tat ve genel beğeni kriterlerinde en yüksek puanları alan örneğin *Lb. plantarum* içeren örnek olduğu ve puanların sırasıyla 3.5, 4.0 ve 4.0 görülmektedir. Ancak, 0. saatte örneklerin genel beğeni dereceleri arasında önemli bir farklılık olmadığı bulunmuştur ($p < 0.05$). Fermantasyonun sonunda elde edilmiş olan fermente karpuz suyu içeceklerinin duyusal analiz sonuçlarına bakıldığında ise,

renk puanlarının çok fazla değişmediği; fakat tat, koku ve genel beğeni puanlarında tüm örneklerde azalma olduğu görülmektedir.

Tat ve koku kriterlerinin her ikisinde de en düşük beğeni aynı puanları alan *Lb. acidophilus* KPb4b ve kontrol örnekleri olmuştur. Her iki örneğin tat puanı da çok kötü seçeneğine karşılık gelen 1.0 olarak belirlenirken, koku puanı da 2.0 olarak saptanmıştır. Panelistlere bunun nedeni sorulduğunda her iki örneğin tadında da genzi yakan bir acılık ve yoğun bir ekşilik olduğu cevabı alınmıştır.

Çizelge 4.11. Fermente karpuz sularının duyusal analiz sonuçları

Duyusal analiz sonuçları (1: Çok kötü, 2: Kötü, 3: Orta, 4: İyi, 5: Çok iyi)								
Örnek	Renk		Koku		Tat		Genel beğeni	
çeşidi	0. saat	18. saat	0. saat	18. saat	0. saat	18. saat	0. saat	18. saat
Lh	4.0±0.7	4.0±0.9	3.4±0.7	2.4±1.0	3.5±0.9	2.0±0.8	3.0±0.8 ^{a,A}	2.0±0.9 ^{a,B}
La	3.8±1.0	3.0±0.8	3.4±0.8	2.0±1.2	3.4±1.0	1.0±0.6	3.5±0.9 ^{a,A}	1.5±0.8 ^{b,B}
Lp	4.0±0.8	4.0±0.8	3.5±0.6	3.0±0.6	4.0±0.9	2.8±1.1	4.0±0.6 ^{a,A}	3.0±0.8 ^{c,A}
K	4.0±1.0	3.0±0.8	3.4±0.8	2.0±1.0	3.1±1.0	1.0±0.8	3.0±0.8 ^{a,A}	1.9±1.0 ^{a,b,B}

*(Lh: *Lb. helveticus* NRRL B-4526 içeren örnek, La: *Lb. acidophilus* KPb4b içeren örnek, Lp: *Lb. plantarum* içeren örnek ve K: Kontrol örneği)

P<0.05 seviyesinde önemli.

^{a,b,c} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (p<0.05)

^{A,B,C} Aynı satırda yer alan farklı büyük harfle gösterilen değerler arasındaki saatlere bağlı farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (p<0.05).

Laktik asit fermantasyonu sırasında mikroorganizmalar son ürün olarak, laktik asit başta olmak üzere organik asit, aldehit ve keton gibi tat ve kokuyu olumsuz etkileyen pek çok birincil ve ikincil metabolit açığa çıkarmaktadır. Bu metabolitlerden organik asitlerin ekşimsi, aldehit ve keton gibi bileşiklerin ise acımsı tat ve kokuya neden oldukları bilinmektedir.

Fermantasyon sonundaki örneklerin genel beğeni durumuna bakıldığında, panelistlerin en çok beğendiği örneğin 3.0 puanla *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş örnek olduğu görülmüştür. Bu örneğin tüketiciler tarafından beğeni düzeyi diğer üç örnekten önemli ölçüde fazla çıkmıştır (<0.05) Ayrıca *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş örnek hariç diğer örneklerinin tümünün beğeni düzeyinin fermantasyon sonrasında başlangıça oranla önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur (<0.05). Özetle *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş örnek, panelistler tarafından tüm kriterler yönünden en çok beğenilen örnek olmuştur.

Karpuz suyunun fermantasyonu ile ilgili literatürde bahsedilen tek çalışmada 100 °C’de 5 dakika pastörize edilen karpuz suyunun laktik asit fermantasyonu ile elde edilen içeceğe göre daha çok tercih edilebilir olduğu belirtilmektedir (Fenercioğlu 1993).

Yapılan bir tüketici beğenisi çalışmasının sonunda probiyotik meyve ve sebze sularında, fermantasyon sonrasında oluşan ve arzu edilmeyen tat ve aroma bozukluklarının baskılanması amacıyla tropikal meyve sularının kullanımı tavsiye edilmiştir. Probiyotik portakal sularına %10’luk oranda ilave edilen ananas ve mango suları istenmeyen tat ve aromanın baskılanmasını sağlamıştır (Luckow ve ark. 2006). Fermente karpuz suları için de aynı uygulama denebilir. Böyle bir durumda karpuz suyunun hangi meyve suları ile uyum sağladığını belirlemek gerekmektedir.

Hour ve ark. (1980) yılında yaptıkları bir diğer çalışmada, karpuz suyunu ananas, portakal ve greyfurt sularıyla farklı seçim ve oranlarda karıştırmışlar ve duyusal testlerle tüketici beğenilerini ölçmüşlerdir. Hazırlanan 10 farklı içecekten en az beğeniyi %100 karpuz suyundan olan, en yüksek beğeniyi ise %80 karpuz, %10 ananas ve %10 portakal suyundan oluşan içecek almıştır (Hour ve ark. 1980b).

Fenercioğlu ve ark. (1993), karpuz, vişne ve elma sularının çeşitli oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen 10 farklı örneği duyusal testlere tabi tutmuşlardır. Örnekler içinde en fazla beğeniyi %50 karpuz, %25 vişne ve %25 elma suyu içereni, en düşük beğeniyi ise tamamı karpuz suyundan oluşan örnek almıştır. Vişne suyu katkılı olan karpuz suları, elma suyu katkılı olanlara oranla daha fazla beğeni toplamıştır (Fenercioğlu ve ark. 1993).

Bir diğer çalışmada, Hayaloğlu ve Vardin (2001) farklı oranlarda karpuz ve nar suyu kullanılarak elde edilen meyve suyu karışımlarını duyusal analize tabi tutmuşlardır. Tüm örnekler içerisinde en fazla tercih edilen %75 karpuz +%25 nar suyu ve %75 nar+%25 karpuz suyu içeren örnekler olmuştur (Hayaloğlu ve Vardin 2001).

Tüm bu çalışmalar taze karpuz suyunun çeşitli meyve suları ile karıştırılarak tüketilmesinin tek başına tüketimine oranla daha fazla tercih edildiğini göstermektedir. Karpuz sularının nar ve vişne suyu gibi ekşimsi meyve suları ile olan uyumu da fermente karpuz suyunda yumuşak bir ekşilik tadının tercih edilebilirliği konusunda fikir vermektedir. Ayrıca fermente karpuz sularında meydana gelen tat ve aroma bozukluklarının baskılanması amacıyla çeşitli meyve suları ile karıştırılarak tüketilmesi üzerine de çalışmalar yapılabilir.

5. SONUÇLAR

1- Karpuz sularının fermantasyonu sırasında laktik asit bakterileri sayısında artış meydana gelmiş, 0. saatte sırasıyla 7.3, 6.4 ve 7.4 log kob/mL olan *Lb. helveticus* NRRL B-4526, *Lb. acidophilus* KPb4b ve *Lb. plantarum* kültürlerinin sayısı 37 °C'de 18 saatlik fermantasyon sonucunda 9.7, 9.0 ve 10.0 log kob/mL olmuş ve bakteri sayıları önemli ölçüde artmıştır ($p<0.05$). Bu durum karpuz suyunun, denemede kullanılan probiyotik kültürlerin gelişimi için uygun bir substrat olduğunu göstermiştir. *Lb. acidophilus* KPb4b sayısının fermantasyonun 12. saatinde 9.0 log kob/mL ile en yüksek seviyeye ulaştığı ve 18. saat sonuna kadar geçen sürede sayıda herhangi bir değişiklik olmadığı bulunmuştur. Buna karşılık, diğer iki bakterinin sayısı fermantasyon sonuna kadar artmıştır. Kontrol örneğinde başlangıçta 2.0 log kob/mL düzeyinde olan laktik asit bakterisi sayısı, fermantasyon sonunda 9.0 log kob/mL olmuştur

2- Karpuz sularının fermantasyonu sırasında tüm örneklerde pH değerleri azalırken, toplam asit miktarının arttığı bulunmuştur. Fermantasyon başlangıcında pH değerleri 5.57-5.62 arasında değişmekte iken fermantasyon sonunda bu aralık 4.24-4.81 olarak saptanmıştır. Karpuz suyu içeceklerinde pH değerlerinin fermantasyon sonunda güvenilir sınır olarak kabul edilen 4.6 değerinin altına düştüğü bulunurken, kontrol örneğinin pH değeri 4.81 değerinde kalmıştır. En düşük pH değerine 4.24 ile *Lb. plantarum* inoküle edilmiş karpuz suyunda ulaşılmıştır. Laktik

asit cinsinden toplam asit miktarı başlangıçta 0.71-1.17 g/L aralığında tespit edilmiştir. Fermantasyon sonunda laktik asit miktarı, probiyotik kültür eklenen örneklerde yaklaşık 3 katına çıkmış olup, en fazla laktik asit içeren örneğin 3.30 ± 0.12 mg/L ile *Lb. helveticus* NRRL B-4526 katılan örnek olduğu tespit edilmiştir. Bu örneği sırasıyla *Lb. plantarum* (3.02 mg/L) ve *Lb. acidophilus* KPb4b (2.90 mg/L) inoküle edilen örnekler izlemiştir. Kontrol örneğinde ise diğerlerine kıyasla çok daha az bir artış olmuş ve başlangıçta 0.70 g/L olan laktik asit miktarı fermantasyon sonunda 1.16 g/L olmuştur. Sonuçlar, probiyotik kültür eklenmiş karpuz suyu içeceklerinin fermantasyon sonunda güvenli sınır olarak kabul edilen pH değerinin altına düştüğünü göstermiştir.

3- Örneklerin aydınlatma değeri olarak ifade edilen L^* değerlerinde fermantasyonla birlikte büyük bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Tüm örneklerde fermantasyon sonrasındaki L^* değeri başlangıca oranla bir miktar artmış, fakat bu artış düzenli gerçekleşmemiştir. Sonuçlara göre, kırmızılığı ifade eden $+a^*$ değerinin, fermantasyon boyunca kontrol örneği dahil tüm örneklerde düzenli bir biçimde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Sarılığı ifade eden $+b^*$ değerlerine bakıldığında ise kontrol örneği dışındaki tüm örneklerde $+a$ kırmızılık değerine benzer şekilde düzenli bir artış olduğu, kontrol örneğinde $+b$ sarılık değerinin başlangıç değerine kıyasla artmış olmasına rağmen bu artışın düzenli gerçekleşmediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, tüm örneklerin fermantasyon sonrasındaki L^* , a^* ve b^* değerlerinin fermantasyon başlangıcındaki değerlerden yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Bu sonuçlar ve duyu analizde renk kriteri ile ilgili elde edilen sonuçlar birlikte düşünüldüğünde, fermantasyon prosesinin karpuz sularının renk değerlerini olumlu yönde etkilediği sonucuna varılmıştır.

4- Suda çözünür kuru madde miktarı fermentasyon boyunca tüm örneklerde azalma göstermiştir. Suda çözünür kuru madde miktarı en çok azalan *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş karpuz suyu olurken, en az azalan örnek başlangıçta mikroorganizma miktarı en az olan kontrol örneği olmuştur. Suda çözünür kuru madde miktarındaki azalmanın en önemli sebebi şeker içeriğinde meydana gelen azalmadır. Laktik asit fermentasyonu sırasında bakteriler şekerleri kullanarak çoğalmakta ve birtakım son ürünler oluşturmaktadır. Karpuz suyunda bulunan glukoz, früktoz ve sakaroz miktarlarına bakıldığında sakaroz miktarının tüm örneklerde gözle görülür şekilde azaldığı görülmüştür. Suda çözünür kuru madde miktarına paralel bir şekilde sakaroz miktarında da en çok azalma, *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş karpuz suyunda meydana gelmiştir. Sakarozun parçalanma ürünlerinden olan glukoz fermentasyon sırasında bakteriler tarafından kullanılmakta iken, doğrudan kullanılamayan früktozun miktarında tüm örneklerde artış gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, fermentasyon sürecinde toplam şeker ve sakaroz miktarı tüm örneklerde azalmış, indirgen şeker miktarı (glukoz+früktoz) az miktarda da olsa artış göstermiştir.

5- Toplam fenolik madde miktarı sonuçlarına göre, fermentasyon başlangıcında örneklerin toplam fenolik madde miktarı 133.86 ile 137.04 mg kateşin eşdeğeri/L arasında değişmekte olup, kontrol dahil olmak üzere örnekler arasında toplam fenolik madde miktarı yönünden önemli bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir ($p<0.05$). Fermentasyon süresince kontrol örneği dışında kalan tüm örneklerin toplam fenolik madde miktarının önemli ölçüde arttığı ($p<0.05$), en fazla artışın 201.94 mg kateşin eşdeğeri/L değerine ulaşan *Lb. plantarum* ile fermente edilen karpuz suyu örneğinde olduğu ve bu örneğin fermentasyon sonrasında diğer örneklerden önemli derecede farklı olduğu ($p<0.05$) saptanmıştır. Sonuç olarak,

fermantasyon prosesi karpuz suyunun toplam fenolik madde içeriğini arttırmış ve böylece karpuz suyunun antioksidan aktivitesinin de yükselmesini sağlamıştır ($r=0.98$, $p<0.05$).

6- Antioksidan aktivite sonuçlarına göre, fermentasyon başlangıcında kültür eklenen örneklerin antioksidan aktivite değerinin kontrol örneğine kıyasla daha fazla olduğu; fakat bu farklılıkların önemsiz olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Başlangıç antioksidan aktivite değerlerinin $3.78-4.88 \mu\text{M}$ troloks eşdeğeri/100 g arasında değiştiği ortaya çıkmıştır. Fermentasyon sonunda ise, yalnızca *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş karpuz suyunun antioksidan aktivite değerinde başlangıca oranla önemli bir artış olduğu ve bu örnekteki antioksidan aktivite değerinin diğer 3 örnekten önemli miktarda fazla olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Fermentasyon sonunda *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş karpuz suyunun antioksidan aktivite değeri $7.53 \mu\text{M}$ troloks eşdeğeri/100 g değerine ulaşmıştır. Fermentasyon prosesi boyunca, tüm karpuz sularında toplam fenolik madde miktarındaki artışa paralel olarak antioksidan aktivitede de artış meydana gelmiştir. Sonuçlar, toplam fenolik madde içeriği artışı ile antioksidan aktivite artışı arasında güçlü bir pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir ($r=0.85$, $p<0.05$).

7- Duyusal analiz sonuçları, fermentasyon başlangıcında koku, tat ve genel beğeni kriterlerinde en yüksek puanları alan örneğin *Lb. plantarum* inoküle edilen örnek olduğunu, fakat 4 örneğin genel beğeni puanları arasında başlangıçta önemli bir farklılık olmadığını göstermiştir ($p<0.05$). Fermentasyonun sonunda elde edilmiş olan fermente karpuz suyu içeceklerinin duyusal analiz sonuçlarına bakıldığında ise, renk puanlarının başlangıca göre çok fazla değişmediği; fakat tat, koku ve genel beğeni puanlarında tüm örneklerde azalma olduğu görülmektedir. *Lb. plantarum* inoküle edilen örnek hariç, diğer örneklerin tümünün genel beğeni düzeyinin

fermantasyon sonrasında başlangıca oranla önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur (<0.05). Fermentasyon sonundaki örnekler içinde panelistlerin en çok beğendiğı örneğın 3.0 puanla *Lb. plantarum* inoküle edilen örnek olduğı görölmüştür. Bu örneğın tüketiciler tarafından genel beğeni düzeyi diğeri üç örnekten önemli ölçüde fazla çıkmıştır ($p<0.05$). Sonuç olarak, *Lb. plantarum* inoküle edilen örnek, panelistler tarafından tüm kriterler yönünden en çok beğenilen örnek olmuştur.

KAYNAKLAR

Acar, J. 1988. Meyve ve Sebze Suyu Üretim Teknolojisi. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 602 sayfa.

Aguilar-Rosas, S.F., Ballinas-Casarrubias, M.L., Nevarez-Moorillon, G.V., Martín-Belloso, O., Ortega-Rivas, E. 2007. Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. *Journal of Food Engineering*, 83 (1): 41-46.

Aguiló-Aguayo, I., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2009a. Flavour retention and related enzyme activities during storage of strawberry juices processed by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Food Chemistry*, 116 (1): 59-65.

Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2009b. Avoiding non-enzymatic browning by high-intensity pulsed electric fields in strawberry, tomato and watermelon juices. *Journal of Food Engineering*, 92(1): 37-43.

Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2010a. Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11 (2): 299-305.

Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2010b. Impact of high-intensity pulsed electric field variables affecting peroxidase and lipoxygenase activities of watermelon juice. *Food Science and Technology*, 43(6): 897-902.

Aguiló-Aguayo, I., Montero-Calderón, M., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2010c. Changes on flavor compounds throughout cold storage of watermelon juice processed by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Journal of Food Engineering*, 100 (1): 43-49.

Altaş, S., Kızıl, G., Kızıl, M., Ketani, A., Haris, P.I. 2011. Protective effect of Diyarbakır watermelon juice on carbon tetrachloride-induced toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (9): 2433-2438.

Anonim. <http://www.phenol-explorer.eu/reports/40>. Databases on polyphenol content in foods. (Erişim tarihi:20.08.2012)

Arıcı, M. ve Coşkun, F. 2001. Hardaliye: fermented grape juice as a traditional Turkish beverage. *Food Microbiology*, 18(4): 417-421.

Başığit, G. 2004. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Olarak Kullanılma Özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Doktora Tezi, 106 s.

Bayındırlı, A., Alpas, H., Bozoğlu, F., Hızal, M. 2006. Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzymes in apple, orange, apricot and sour cherry juices. *Food Control*, 17 (1): 52-58.

Cagno, R. D., Surico, R. F., Paradiso, A., Angelis, M. D., Salmon, J., Buchin, S., Gara, L. D. ve Gobbetti, M. 2009. Effects of autochthonous lactic acid bacteria starters on health- promoting and sensory properties of tomato juices. *International Journal of Food Microbiology*, 128 (3): 473-483.

Cagno, R. D., Minervini, G., Rizzello, C. G., Angelis, M. D., Gobbetti, M. 2011. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiology*, 28: 1062-1071.

Champagne, C. P. ve Gardner, N. J. 2008. Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. *Food Research International*, 41: 539-543.

Collins, J.K., Guoyao, W., Perkins-Veazie, P., Spears, K., Claypool, L., Baker, R.A. ve Clevidence, B.A. 2007. Watermelon consumption increases plasma arginine concentrations in adults. *Nutrition*, 23 (3): 261-266.

Çakır, İ., Çakmakçı, M. L., 2002. Probiyotik teknolojisi ve Türkiye’deki durumu. pp. 179-187. Türkiye 7. Gıda Kongresi kitabı, Ankara Üniversitesi, 182 s., Ankara.

Çakır, İ. 2003. Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Doktora Tezi, 84 s.

Çakır, İ. ve Çakmakçı, M. L. 2004. Probiyotik: Tanımı, Etki Mekanizması, Seçim ve Güvenilirlik Kriterleri. *Gıda*, 29 (6): 427-434.

Çakmakçı, M.L., Karahan, A. G. ve Çakır, İ. 2011. Mikrobiyoloji. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Yayın No: 36, Bizim Büro Basımevi, Ankara, 227 sayfa.

Deliza, R., Rosenthal, A., Abadio, F.B.D., Silva, C.H.O., Castillo, C. 2005. Application of high pressure technology in the fruit juice processing: benefits perceived by consumers. *J. Food Engineering*, 67: 241-246.

Demir, N., Bahçeci, K. S. ve Acar, J. 2006. The effects of different initial *Lactobacillus plantarum* concentrations on some properties of fermented carrot juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30: 352–363.

Dinçer E, Kıvanç M, Karaca H. 2010. Biyokoruyucu Olarak Laktik Asit Bakterileri ve Bakteriyosinler. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayını*, 35 (1): 55-62.

Edwards, A.J., Vinyard, B.T, Wiley, E.R., Brown, E.D., Collins, J.K., Perkins-Veazie, P., Baker, R.A. ve Clevidence, B.A. 2003. Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and beta-carotene in humans. *The Journal of Nutrition*, 133: 1043–1050.

Elez-Martinez P., Escola-Hernandez J., Soliva-Fortuny R.C., Martín-Belloso O. 2005. Inactivation of *Lactobacillus brevis* in orange juice by high-intensity pulsed electric fields. *Food Microbiology*, 22: 311-319.

Elez-Martínez, P., Soliva-Fortuny R. ve Martín-Belloso, O. 2006. Comparative study on shelf life of orange juice processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatment. *Eur. Food Res. Technol.*, 222: 321–329.

Erge, H. S. 2007. Domateste (*Lycopersicum esculentum*) Karotenoid Madde Dağılımı ve Antioksidan Aktivite. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora tezi, 91 sayfa.

Erukainure O. L., Oke O. V., Adenekan S. O., Ajiboye J. A. 2011. Antioxidant activities, Total Phenolic and Flavonoid Levels of Watermelon Rinds Subjected to *Saccharomyces cerevisiae* Solid Media Fermentation. *Fermentation Technology and Bioengineering*, 2: 11-16.

Espirito Santo, A. P., Perego, P., Converti, A. Oliveira, M. N. 2011. Influence of food matrices on probiotic viability- A review focusing on the fruity bases. *Trends in Food Science & Technology*, 22: 377-385.

Fenercioğlu, H. 1993. Karpuz Suyunun Meyve Suyu Karışımlarında Kullanım Olanakları Üzerinde Bir Araştırma. *Gıda*, 18 (6): 367-371.

Fettahoğlu, S. 2009. Malt İçeceği Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 41s.

Fonseca, J. M., Rushing, J. W. 2006. Effect of ultraviolet-C light on quality and microbial population of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*, 40 (3): 256-261.

Gökmen, V. ve Acar, J. 1992. Laktoferment Yöntemi İle Havuç Suyu Üretimi. *Gıda*, 17 (6): 395-398.

Gueimonde, M. ve Salminen, S. 2006. New methods for selecting and evaluating probiotics. *Digestive and Liver Disease 38 Suppl.*, 2: 242–247.

Guerrero-Beltrán, J.A., Barbosa-Cánovas, G.V. 2005. Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice by Ultraviolet Light. *J. Food Process Eng.* 28: 437-452.

Gücer, Y., Aydoğdu, H. ve Durgun, T. 2009. A Traditional Thracian Beverage; ‘‘Hardaliye’’. *Trakia Journal of Sciences*, 7(2): 208-210.

Güleç, H. A. Modern Gıda Muhafazasında Vurgulu Elektrik Alan ve Ultrason Uygulamaları. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu.

Halkman, A. K. ve Doğan, H. B. 2000. 8. Bölüm: Kültür Koruma. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı, Sim Matbaa, Ankara, 522 sayfa.

Halkman, A.K. 2005. Laktobasiller, 2. Bölüm: Mikroorganizma Analizi. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Başak Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara, 358 sayfa.

Hayaloğlu, İ. ve Fenercioğlu, H. 1990. Research On The Possibility Of Using Watermelon In The Fruit Juice Industry. *Gıda*, 15(6): 329-332.

Hayaloğlu, İ. ve Vardin, H. 2001. Farklı Oranlarda Karpuz ve Nar Suyu İçeren Kokteyl Meyve Suyunun (Punch) Duyusal Olarak Değerlendirilmesi. *Gıda*, 26 (4): 267-270.

Huor, S.S., Ahmed, E.M. ve Carter, R.D. 1980a. Concentration of watermelon juice. *Journal of Food Science*, 45(3): 718–719.

Huor, S.S., Ahmed, E.M., Rao, P.V., Cornell, J.A. 1980b. Formulation and sensory evaluation of a fruit punch containing watermelon juice. *Journal of Food Science*, 45 (4): 809-813.

Huor, S.S., Ahmed, E.M., Carter, R.D., Huggart, R. L.1980c. Colour and flavour qualities of white grapefruit: watermelon juice. *Journal of Food Science*, 45 (5): 1419-1421.

İnanç, N., Şahin, H., Çiçek B. 2005. Probiyotik ve Prebiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi*, 27 (3): 122-127.

Jayaprakasha, G. K., Murthy, K. N. C., Patil, B. S. 2011. Rapid HPLC-UV method for quantification of L-citrulline in watermelon and its potential role on smooth muscle relaxation markers. *Food Chemistry*, 127: 240–248.

Karipçin, M. Z. 2009. Yerli ve Yabani Karpuz Genotiplerinde Kuraklığa Toleransın Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 259 sayfa.

Kano, Y. 1991. Changes of sugar kind and its content in the fruit of watermelon during its development and after harvest. *Environ. Control in Biol.*, 29 (4): 159-166.

Keyser, M., Müller, I.A., Cilliers, F.P., Nel, W., Gouws, P.A. 2008. Ultraviolet radiation as a nonthermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovat. Food Sci. Emerg. Technol.*, 9: 348-354.

Kılıç S. 2008. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 542, 2. Baskı, 451s.

Kun, S., Rezessy-Szabó, J. M., Nguyen, Q. D., Hoschke, A. 2008. Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. *Process Biochemistry*, 43 (8): 816-821.

Liu, Y., Hu, X., Zhao, X., Song, H. 2012. Combined effect of high pressure carbon dioxide and mild heat treatment on overall quality parameters of watermelon juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13 :112-119.

Luckow, T., Sheehan, V., Fitzgerald, G. ve Delahunty, C. 2006. Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. *Appetite*, 47: 315–323.

Manzocco, L., Pieve, S. D., Maifreni, M. 2011. Impact of UV-C light on safety and quality of fresh-cut melon. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12, (1): 13-17.

Martins, S., Mussatto, S.I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J. Aguilar, C. N. Teixeira, J. A. 2011. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, 29: 365-373.

Mosqueda-Melgar, J., Raybaudi-Massilia, R. M., Martín-Belloso, O. 2007. Influence of treatment time and pulse frequency on *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* populations inoculated in melon and watermelon juices treated by pulsed electric fields. *International Journal of Food Microbiology*, 117 (2): 192-200.

Mosqueda-Melgar, J., Raybaudi-Massilia, R.M., 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 Microbiology*, 25 (3): 479-491.

Oelschlaeger, T. A. 2010. Mechanisms of probiotic actions – A review. *International Journal of Medical Microbiology*, 300: 57–62.

Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2009. Effects of high-intensity pulsed electric field processing conditions on lycopene, vitamin C and antioxidant capacity of watermelon juice. *Food Chemistry*, 115 (4): 1312-1319.

 zdemir, N. ve Acar, J. 1996. Laktoferment Yöntemi ile Havu  Suyu  retiminde Pektolitik Enzim Kullanımı. *Gıda*, 21 (4): 231-237.

 zl , H. ve Atasever, M. 2007. Gıdalara Yüksek Basınc Uygulaması. *Atat rk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 2 (1): 7-27.

Paksoy, M., Aydın, C., T rkmen,  . ve Seymen, B. 2010. Modelling of some physical properties of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) seeds depending on moisture contents and mineral compositions. *Pak. J. Bot.*, 42(4): 2775-2783.

Patterson, M. F., McKay, A. M., Connolly, M., Linton, M. 2011. The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological quality and safety of carrot juice during refrigerated storage. *Food Microbiology*, In Press, Corrected Proof, Available online 1 October 2011.

Penteado, A. L. ve Leitao, M. M. F. 2004a. Growth of *Salmonella enteritidis* in melon, watermelon and papaya pulp stored at different times and temperatures. *Food Control*, 15: 369–373.

Penteado, A. L. ve Leitao, M. M. F. 2004b. Growth of *Listeria monocytogenes* in melon, watermelon and papaya pulps. *International Journal of Food Microbiology*, 92: 89-94.

Pereira, A.L.F., Maciel, T.C., Rodrigues, S. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Research International*, 44 (5): 1276-1283.

Perkins-Veazie, P. ve Collins J. K. 2004. Flesh quality and lycopene stability of fresh cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*, 31: 159-166.

Prado, F. C., Parada, J.L., Pandey, A., Soccol, C. R. 2008. Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41 (2): 111-123.

Quek, S. Y., Chok, N. K. ve Swedlund, P. 2007. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing*, 46: 386–392.

Rawson, A., Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P.J., O'Donnell, C. 2011. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Research International*, 44 (5): 1168-1173.

Rivera-Espinoza, Y. ve Gallardo-Navarro, Y. 2010. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27 (1): 1-11.

Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., Rivas, B., Felipe, F. L., Gómez-Cordovés, C., Mancheño, J. M. Muñoz, R. 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132: 79–90.

Ross, A. I. V., Griffiths, M. W., Mittal, G. S. ve Deeth, H. C. 2003. Combining nonthermal technologies to control foodborne microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 89: 125-138.

Saldamlı, İ. 2007. Bölüm 8: Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri. Gıda Kimyası Kitabı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 3. Baskı, 587 sayfa.

Shahidi, F., Chavan, U.D. ve Naczki, M. 2001. Nutrient distribution and phenolic antioxidants in air-classified fractions of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 49: 926-933.

Sharma, M., Adler, B.B., Harrison, M.D. ve Beuchat, L.R. Thermal tolerance of acid-adapted and unadapted *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in cantaloupe juice and watermelon juice. *Lett. Appl. Microbiology*, 41: 448–453.

Sheehan, V.M., Ross, P. ve Fitzgerald, G.F. 2007. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Sci. Emerg. Technology*, 8: 279–284.

Shin, D. H., Koo, Y. J., Kim, C. D., Min, B. Y. ve Suh, K. B. 1978. Studies on the production of watermelon and cantalopemelon juice. *Korean J. Food Sci. And Tech.*, 10 (2): 215-223.

Stiles, M. E. ve Holzapfel, W. H. 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36: 1-29.

Szamosi, Cs., Némethy-Uzoni, H., Balázs, G. ve Stefanovits-Bányai, É. 2007. Nutritional values of traditional open-pollinated melon (*Cucumis melo* L.) and watermelon (*Citrullus lanatus*[Thumb]) varieties. *International Journal of Horticultural Science*, 13 (2): 29–31.

Tadmor, Y., King, S., Levi, A., Davis, A., Meir, A., Wasserman, B., Hirschberg, J. ve Lewinsohn, E. 2005. Comparative fruit colouration in watermelon and tomato. *Food Research International*, 38: 837–841.

Taş, E. 2008. Probiyotik Laktik Asit Bakterileri ve Baharatların Bazı Gıda Patojenleri Üzerine İnhibisyon Etkisi. Çukurova Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi, 72 s.

Tlili, I., Hdider, C., Lenucci, M.S. Riadh, I., Jebari, H., Dalessandro, G. 2010. Bioactive compounds and antioxidant activities of different watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld) cultivars as affected by fruit sampling area. *Journal of Foods Composition and Analysis*, 24 (3): 307-314.

Tlili, I., Hdider, C., Lenucci, M.S. Riadh, I., Jebari, H., Dalessandro, G. 2011. Bioactive compounds and antioxidant activities during fruit ripening of watermelon cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24: 923–928.

Tongu, İ. E. 2006. Probiyotik Ayran Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Ege Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi, 133 s.

Toor, R.K., Savage, G.P. ve Lister, C.E. 2006. Seasonal variations in the antioxidant composition of greenhouse grown tomatoes J Food Comp. Analysis, 19: 1-10.

Tran, M.T.T. ve Farid, M. 2004. Ultraviolet treatment of orange juices. *Innovat. Food Sci. Emerg. Technol.* 5: 495-502.

Tsen, J.H., Lin, Y.P., Huang, H.Y. ve King, V.A.E. 2007. Accelerated storage testing of freeze-dried immobilized *Lactobacillus acidophilus*-fermented banana media. *J. Food Process. Preserv.*, 31: 688–701.

Tuna, A. L. ve Özer, Ö. 2005. Farklı Kalsiyum Bileşiklerinin Karpuz (*Citrullus lanatus*) Bitkisinde Verim, Beslenme ve Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 42(1): 203-212.

Uysal-Pala, Ç. ve Kırca-Toklucu, A. 2010. Ultraviyole Işın (UV) Teknolojisinin Meyve Sularına Uygulanması. *Akademik Gıda*, 8 (1): 17-22.

Varela-Santos, E., Ochoa-Martinez, A., Tabilo-Munizaga, G., Reyes, J. E., Pérez-Won M., Briones-Labarca, V., Morales-Castro, J. 2012. Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13 :13-22.

Wang, Y-C., Yu, R-C. ve Chou, C.C. 2006. Antioxidative activities of soymilkfermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*, 23: 128–135.

Wang, Y-H., Joobeur, T., Dean, R. A. ve Staub, J. E. 2007. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, Volume 5:Vegetables, Chapter 10: Cucurbits.

Yativ, M., Harary, I. ve Wolf, S. 2010. Sucrose accumulation in watermelon fruits: Genetic variation and biochemical analysis. *Journal of Plant Physiology*, 167: 589–596.

Yeşilova, Y., Sula, B., Yavuz, E. ve Uçmak, D. 2010. Probiyotikler. *J Kartal TR*, XXI(1): 49-56.

Yoon, K.Y., Woodams, E.E., Hang, Y.D. 2004. Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *Journal of Microbiology*, 42: 315–318.

Yoon, K. Y., Woodams, E.E. ve Hang, Y.D. 2005. Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *Labensm.-Wiss. U. Technol.*, 38: 73–75.

Yoon, K. Y., Woodams, E. E., Hang, Y. D. 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 97 (12): 1427-1430.

Zhang, C., Trierweiler, B., Li, W., Butz, P., Xu, Y., Rüfer, C.E., Maa, Y., Zhao, X. 2011. Comparison of thermal, ultraviolet-c, and high pressure treatments on quality parameters of watermelon juice. *Food Chemistry*, 126: 254–260.

