

**TARÇIN YAĞI VE ATIMLI ELEKTRİK ALANI PROSESİNİN
ELMA SUYUNUN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

BENGİ KARAOĞUZ TURGUT

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

TEMMUZ 2011

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı

Prof. Dr. Nihat Çelebi

Enstitü Müdürü

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

Prof. Dr. Barbaros Özer

Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek

Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

İmza

1. Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek

.....

2. Prof. Dr. Barbaros Özer

.....

3. Doç. Dr. Fatma Yeşim Ekinici

.....

ÖZET

TARÇIN YAĞI VE ATIMLI ELEKTRİK ALANI PROSESİNİN ELMA SUYUNUN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Karaoğuz Turgut, Bengi
Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek

Temmuz 2011, 107 sayfa

Bu çalışma kapsamında, atımlı elektrik akımı (PEF) teknolojisinin tarçın uçucu yağı (Tuy) ilave edilen ve edilmeyen elma suyu örneklerinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışmada elma suyuna ilave edilen tarçın uçucu yağı için 0, 0.0005, 0.003 ve 0.06 $\mu\text{L/mL}$ olmak üzere dört farklı konsantrasyon belirlenmiştir. Daha sonra elma suyu örnekleri farklı uygulama sürelerinde (0, 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs) proses edilmiştir. Örnekler 3 μs atım süresi, 500 pps frekans, 30 kV/cm elektrik alan şiddeti değerlerinde PEF ile proses edilmiştir. Elde edilen verilere göre kontrol örnekleri, sadece PEF ile muamele edilmiş örnekler ve de PEF+Tuy ile muamele edilmiş örneklerin tümünde pH, titrasyon asitliği (%TA), °Briks, toplam fenolik madde, toplam antioksidan kapasite, FT-IR analiz değerlerinde önemli bir değişiklik görülmemiştir ($p>0.05$). Bununla birlikte, Tuy ilave edilen ve edilmeyen kontrol örnekleri arasında kondaktivite ve renk ölçümü (L^* , a^* , b^* , TCD, hue ve kroma) değerlerinde farklılıklar belirlenmiştir ($p\leq 0.05$). Yalnızca PEF'in uygulandığı elma suyu örneklerinde söz konusu değerlerde böyle bir değişim görülmemiştir ($p>0.05$). Artan uygulama süresi ve tuy konsantrasyonunun, örneklere inoküle edilen *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* bakterilerinde önemli miktarda inaktivasyona neden olduğu görülmüştür. Ayrıca, uygulama süresi sabit tutulduğunda, artan Tuy konsantrasyonunun mikroorganizmalar üzerindeki letal etkisinde artışa neden olduğu görülmektedir ($p\leq 0.05$). Sonuç olarak, PEF+Tuy uygulamasının Tuy konsantrasyonuna bağlı olarak elma sularının prosesinde elma suyunun fiziksel ve kimyasal özelliklerinde değişime neden olmadan istenmeyen mikroorganizmaların inaktive ederek başarılı bir şekilde uygulanabileceği görülmektedir. Bu sonuçlar elma suyunda lezzet artırıcı ajanların kullanılarak farklı

bir ürün eldesine imkan verebileceğini aynı zamanda antimikrobiyal özellik gösteren bu Tuy gibi doğal ürünlerin PEF gibi yeni teknolojilerle birlikte kullanılması ile mikrobiyal inaktivasyon üzerinde bir sinerji yaratılabileceğini göstermesi açısından gıda endüstrisi için umut vericidir.

Anahtar kelimeler: Atımlı elektrik akımı (PEF), elma suyu, tarçın uçucu yağı, mikrobiyal inaktivasyon.

ABSTRACT

EFFECTS OF PULSED ELECTRIC FIELDS AND CINNAMON ESSENTIAL OILS ON THE QUALITY OF APPLE JUICE

Karaoğuz Turgut, Bengi
MSc., Department of Food Engineering
Supervisor: Assoc. Prof. Gülsün Akdemir Evrendilek

July 2011, 107 pages

The influence of pulsed electric fields (PEF) on some physical properties of apple juice with or without addition of cinnamon essential oil (ceo) was investigated in this study. Apple juice samples were treated by PEF alone, 0.0005 $\mu\text{L/mL}$ ceo+PEF, 0.003 $\mu\text{L/mL}$ ceo+PEF and 0.06 $\mu\text{L/mL}$ ceo+PEF. PEF treatment parameters were 3 μs pulse duration, 500 pps frequency, 30 kV/cm electric field strength and 0 (control), 101, 202, 302, 403, 504, and 604 μs treatment time. Results revealed that regardless of the concentration of added ceo and PEF processing conditions no significant difference was detected among the control, PEF-treated and ceo+PEF treated samples for pH, titratable acidity (%TA), °Brix, total phenolic substances, total antioxidant capacity and FT-IR spectra ($p>0.05$). The same process parameters caused significant reduction on inoculated *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* cultures ($p\leq 0.05$). Moreover, increased ceo concentration, when treatment time was constant, caused more inactivation of both cultures ($p\leq 0.05$). It was concluded that ceo+PEF application depending on ceo concentration can successfully used to process apple juice samples without adversely affecting some important quality parameters and with inactivation of pathogenic microorganisms. Addition of natural plant essential oils such as cinnamon essential oil to apple juice samples, which provides new food product development and carries antimicrobial activity, and following PEF processing which has synergistic effect on microbial inactivation is promising approach in food industry.

Key words: Pulsed electric field (PEF), cinnamon essential oil, apple juice, microbial inactivation.

Aileme

TEŞEKKÜR

Araştırma konumun seçiminde yardımcı olan ve tezimin her aşamasında benden bilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Doç. Dr. Gülsün AKDEMİR EVRENDİLEK'e sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Barbaros ÖZER ve Yeditepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Fatma Yeşim EKİNCİ' ye tez jürimde yer alarak değerli görüş ve katkıları ile tezime olan desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca yüksek lisans eğitimine birlikte başladığım arkadaşım Elif Ece ABCA'ya, laboratuvar çalışmalarım boyunca beni yalnız bırakmayan çalışma arkadaşlarım Zehra KADAŞ ve Birsen HİTİT'e, tez dönemim boyunca desteğini ve yardımını hiç esirgemeyen sevgili eşim Soykan TURGUT'a, kuzenim Burçe ÇANGIR'a ve tüm öğrenim hayatım boyunca bana inanan ve beni hep destekleyen annem Esma KARAOĞUZ ve babam Mustafa Yaşar KARAOĞUZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca tezimin gerçekleşmesinde maddi destek sağlayan Devlet Planlama Teşkilatı'na (proje no: DPT 2009 K 120 410) ve elma suyu örneklerinin sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Koray AYBEK'e (Dimes Gıda Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi, Tokat) teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
İTHAF.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
1.GİRİŞ.....	1
1.1.Elma.....	3
1.2.Elma Kimyası.....	5
1.3.Elma Suyu-Elma Şırası.....	6
1.4.Tarçın.....	8
1.5.Atımlı Elektrik Akım Prosesleri.....	11
1.5.1.Atımlı Elektrik Akımı Sistem Ekipmanları.....	16
1.5.1.1.Elektrik Akım Jenaratörü- Kapasitör.....	17
1.5.1.2.Yüksek Akım Uygulama Odacıkları.....	17
1.5.1.2.1.Durağan Sistem Odacıkları.....	18
1.5.1.2.2.Sürekli Sistem Odacıkları.....	19
1.5.1.3.Sıvı Gıdanın PEF Sisteminde Taşınımını Sağlayan Sıvı Taşıma Sistemi.....	20

1.5.2.PEF Proseslerindeki Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizması.....	21
1.5.2.1.Elektriksel Yıkım.....	21
1.5.2.2.Elektroporasyon.....	23
1.5.3.PEF Proses Parametreleri.....	24
1.5.4.Kritik Proses Faktörleri.....	26
1.5.4.1.Proses Parametreleri.....	26
1.5.4.1.1.Elektrik alan yoğunluğu.....	26
1.5.4.1.2.Uygulama süresi.....	27
1.5.4.1.3.Dalga modeli.....	28
1.5.4.1.4.Uygulama sıcaklığı.....	31
1.5.4.2.Ürün Parametreleri.....	32
1.5.4.2.1.İletkenlik - İyonik direnç.....	32
1.5.4.2.2.Gıdanın asitliği.....	34
1.5.4.2.3.Gıdanın partikül yapısı ve viskozitesi.....	35
1.5.4.2.4.Gıdanın su aktivitesi.....	35
1.5.4.2.5.Gıda muhafazasında kombine prosesler kullanılarak PEF’ in etkinliğinin artırılması.....	36
1.5.4.2.5.1.PEF- pH ilişkisi.....	36
1.5.4.2.5.2.PEF- a_w ilişkisi.....	37
1.5.4.2.5.3.PEF-antimikrobiyal madde ilişkisi.....	38
1.5.4.3.Mikrobiyal Parametreler.....	39
1.5.4.3.1.Mikroorganizma türü.....	39
1.5.4.3.2.Mikroorganizma yoğunluğu.....	40
1.5.4.3.3.Mikroorganizmaların gelişme evresi.....	40
2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	42

3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	52
3.1.Materyal.....	52
3.1.1.Elma Suyu.....	52
3.1.2.Tarçın Kabuğu.....	52
3.1.3.Bakteri Kültürleri.....	52
3.1.4.Atımlı Elektrik Akım (PEF) Jeneratörü.....	53
3.2.Yöntem.....	54
3.2.1.Tarçın Kabuğu Esansiyel (Uçucu) Yağının Elde Edilmesi.....	54
3.2.2.Tarçın Uçucu Yağında Bulunan Bileşenlerin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrofotometresi (GC-MS) ile Tayini.....	56
3.2.3.Tarçın Uçucu Yağının Elma Suyuna İlavesi.....	56
3.2.4.Mikroorganizmaların Hazırlanması.....	57
3.2.5.Farklı Konsantrasyonlarda Tarçın Yağı İlave Edilmiş Elma Suyu Örneklerine Atımlı Elektrik Akımı Uygulanması.....	57
3.2.6.Fiziksel ve Kimyasal Analizler.....	58
3.2.6.1.Asitlik.....	58
3.2.6.2.Titrasyon Asitliği.....	58
3.2.6.3.°Briks.....	58
3.2.6.4.Kondaktivite (İletkenlik) Ölçümü.....	58
3.2.6.5.Renk Ölçümü.....	59
3.2.6.6.Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini.....	59
3.2.6.7.Toplam Antioksidan Kapasitesi Tayini.....	60
3.2.6.8.Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri.....	60

3.2.6.9.Yağ Karışımlarının Fark Tarama Kalorimetresi (DSC) ile Ölçümü.....	61
3.2.7.Mikrobiyolojik Analizler.....	61
3.2.8.Verilerin Analizi.....	61
4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	62
4.1.Elma Suyunda Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler.....	63
5.SONUÇLAR.....	88
6.KAYNAKLAR.....	91

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.Tarçın uçucu yağındaki bileşenler.....	62
--	----

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Laboratuvar ölçekli OSU-4A PEF sistemi şematik diyagramı.....	16
Şekil 1.2. Sale ve Hamilton tarafından tasarlanan statik odacık modeli.....	19
Şekil 1.3. Eş zamanlı akış sağlayan sürekli uygulama odacıkları	20
Şekil 1.4. Hücre zarının elektrik akımı altında göstermiş olduğu yapısal değişiklik.	22
Şekil 1.5. Hücre zarı elektroporasyonu.....	23
Şekil 3.1. Deneylerde kullanılan laboratuvar ölçekli PEF sistemi.....	53
Şekil 3.2. İki kutuplu kare şeklinde uygulanan elektrik akım dalgası.....	54
Şekil 3.3. Clevenger tipi buhar distilasyon ünitesi.....	55
Şekil 4.1. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde pH ölçümü.....	64
Şekil 4.2. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde °Briks ölçümü.....	65
Şekil 4.3. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde kondaktivite ölçümü.....	66
Şekil 4.4. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde % titrasyon asitliği ölçümü.....	67
Şekil 4.5. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde renk (L*) ölçümü.....	68
Şekil 4.6. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde renk (a*) ölçümü.....	70

Şekil 4.7. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde renk (b*) ölçümü.....	70
Şekil 4.8. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde Toplam Renk Farkı (TCD) ölçümü.....	72
Şekil 4.9. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde kroma (C*) ölçümü.....	72
Şekil 4.10. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde hue (h*) ölçümü.....	74
Şekil 4.11. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde toplam fenolik madde miktarı ölçümü.....	75
Şekil 4.12. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde (%) toplam antioksidan kapasite ölçümü.....	76
Şekil 4.13. 0.0005 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin FT-IR analizi.....	79
Şekil 4.14. 0.003 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin FT-IR analizi.....	80
Şekil 4.15. 0.06 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin FT-IR analizi.....	81
Şekil 4.16. 0.0005 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin DSC analizi.....	82
Şekil 4.17. 0.003 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin DSC analizi.....	82
Şekil 4.18. 0.006 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin DSC analizi.....	83
Şekil 4.19. Uygulama süresinin ve tarçın yağı konsantrasyonunun değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş elma suyuna inoküle edilen <i>L. monocytogenes</i> 'in inaktivasyonu.....	85
Şekil 4.20. Uygulama süresinin ve tarçın yağı konsantrasyonunun değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş elma suyuna inoküle edilen <i>E. coli</i> O157:H7' nin inaktivasyonu.....	86

1.GİRİŞ

Yapısındaki mevcut organik asitler nedeniyle meyve sularının birçoğu yüksek asit içeriğine sahiptir. Geçmişte, organik asitlerin patojen mikroorganizmaların gelişimini engellediği dolayısıyla da meyve sularının güvenli oldukları varsayılırdı (Parish, 1997). Ancak, tüketicilerin yeme alışkanlıklarında zaman içinde meydana gelen değişimler patojen mikroorganizma varlığıyla da ilişkili olarak toplum sağlığını ilgilendiren sorunlara neden oldu (Balla ve Farkas, 2006). Güçlü duyuşal özelliklere ve besin değerine sahip taze sıkılmış meyve suyu tüketimi de insan diyetindeki bu değişimlerden biri olarak ortaya çıktı (Beser ve ark., 1993; CDC, 1996a,b; Parish, 1997; Boase ve ark., 1999; Powell ve Leudtke, 2000; D' Aoust ve ark., 2001; CDC, 2007). Tüketim alışkanlığındaki bu değişim, meyve sularının patojen mikroorganizmaları bünyelerinde barındırma potansiyeline sahip ürünler olduğunu anlamamızı sağladı (Mosqueda-Melgar ve ark., 2007).

Özellikle *Salmonella spp.* ve *Escherichia coli* O157:H7'nin meyve sularına bulaşan en riskli patojenler olduğu bildirilmiştir (Beser ve ark., 1993; CDC, 1996a,b; Parish, 1997; Boase ve ark., 1999; Powell ve Leudtke, 2000; D' Aoust, ve ark., 2001; CDC, 2007). Son 30 yıl boyunca pastörize edilmemiş meyve sularından kaynaklanan birçok Salmonellosis ve enterohemorejenik *E. coli* salgını rapor edilmiştir (Beser ve ark., 1993; CDC, 1996a,b; Parish, 1997; Boase ve ark., 1999; Powell ve Leudtke, 2000; D' Aoust, ve ark., 2001; CDC, 2007). *Salmonella serovars* Enteritidis, Muenchen, Typhimurium, Hartford, Gaminara ve Rubislaw ve enterohemorejenik *E.*

coli O157:H7 portakal suyunda ve elma sırasında tespit edilmiş gıda kaynaklı salgın hastalıklara neden olan ajanlardır (Beser ve ark., 1993; CDC, 1996a,b; Parish, 1997; Boase ve ark., 1999; Powell ve Leudtke, 2000; D' Aoust ve ark., 2001; CDC, 2007). Buna ek olarak, portakal, greyfurt, limonata gibi turunçgil sularının tüketimi sonrasında *S. Enteritidis* kaynaklı salgın hastalıklarla karşılaşmıştır (Powell ve Leudtke, 2000). Aynı şekilde çilek ve armutta rastlanan *S. group B* ve *E. coli* O157:H7 salgınların sebebi ajanlar olarak rapor edilmiştir (CDC, 2007).

Meyve sularında en yaygın şekilde kullanılan pastörizasyon yöntemi HTST (yüksek sıcaklık, kısa süre) pastörizasyondur. Bu yöntemde, elma suyuna 25-30 sn süre ile 76.6- 87.7°C ısı işlem uygulanır (Moyer ve Aitken, 1980). Isıl işlem saprofit mikroorganizmaları oldukça başarılı şekilde inaktive eder. Ancak, meyve suları ısıya duyarlı gıdalardır ve ısısal pastörizasyon meyve sularının organoleptik, besinsel ve fizikokimyasal özelliklerinde büyük ölçüde tahribata neden olmaktadır (Qin ve ark., 1995b; Jeyamkondan ve ark., 1999; Espachs- Barroso ve ark., 2003; Elez-Martinez ve Martin- Belloso, 2005).

Bugünün tüketicileri yüksek kaliteli tazeye yakın ve mikrobiyolojik açıdan güvenli gıdaları talep etmektedir (Mittal ve Griffiths, 2005). Bu nedenle, gıda güvenliğinin sağlandığı, besinsel ve duyuşal özelliklerin korunduğu düşük işlem sıcaklığı ve enerji tüketimiyle ürünlerin proses edildiği alternatif pastörizasyon metotlarını geliştirmeye yönelik arayışlar içine girilmiştir (Smith ve ark., 2002).

Isıya duyarlı gıdaların işlenmesi için kullanılan yenilikçi teknolojilerden biri de yüksek yoğunluklu elektrikli atım uygulamasıdır (Sitzmann, 1994; Qin ve ark., 1995a; Qin ve ark., 1996; Vega-Mercado ve ark., 1997). Atımlı elektrik alanı (pulsed electric fields, PEF), iki elektrot arasında akışı sağlanan sıvı gıdaya kısa süreli (1-10 μ s) yüksek yoğunluklu elektrik akımı (20-80 kV/cm) verilmesi ile gerçekleştirilir.

PEF uygulamaları mikrosaniye gibi kısa zaman dilimlerinde düşük ısılarda gerçekleşir. Gıda da sıcaklık artışı ve bu artışın neden olduğu enerji kaybı minimum düzeyde kalır (Sitzmann, 1994; Jeyamkondan ve ark., 1999).

Meyve suları birçok özelliğinden ötürü PEF pastörizasyonu için uygun gıdalardır. İçeriğindeki yüksek asit PEF ile tahrip olmuş ancak canlılığını yitirmemiş hücrelerin kendilerini onarmalarına engel olur (Raso ve ark., 1998a). Ayrıca, düşük protein içeriğine sahip olduklarından PEF uygulamaları esnasında elektrik atımları başarılı şekilde uygulanırken koruma kalkını oluşturan anot elektrot üzerinde oluşan birikim minimumdur. Bu birikim süt gibi proteince zengin gıdalarla çalışmalar yapıldığında daha iyi gözlenebilir (Marquez ve ark., 1997). Bu tabaka, sistemde kontaminasyona sebep olabilir; ve hatta uygulama odalarında elektriksel kırılmalar oluşturabilir (Marquez ve ark., 1997).

PEF, meyve suyunda aroma, renk ve besin içeriğinde önemli bir tahribata neden olmaksızın, patojen ve saprofit mikroorganizmaları inaktive eder (Yeom ve ark., 2000; Hodgins ve ark., 2002; Cserhalmi ve ark., 2006). Bununla birlikte, bu yenilikçi teknolojinin organik asit, bakteriyosin, enzimler, baharatlar gibi diğer metotlarla kombine şekilde kullanıldığında gıdaların güvenliği ve korunması açısından çok daha verimli olduğu görülmektedir (Liu ve ark., 1997; Iu ve ark., 2001; Sobrino- Lopez ve Martin-Belloso, 2006; Raybaudi-Massilia ve ark., 2006).

1.1. Elma

Elma (*Malus domestica*) ticari olarak dünyadaki 30°- 60° kuzey ve güney enlemleri arasındaki ılıman bölgelerde yetiştirilir. Elma ağaçları Gülgiller (Rosaceae) familyasındandır (Anonim, 2004). Non-klimakterik bir meyve türüdür. Yetiştigi

iklimin dondurucu kış soğuklarına adapte olur. Meyve oluşumu ağaçların minik güle benzer beyaz çiçekler açtığı bahar sonlarına doğru gerçekleşir. Çiçekler arıları ve böcekleri cezbeden nektar ve polen üretir. Bu sayede tozlaşma gerçekleşir. Elmalar 140-170 günlük süre zarfında olgunlaşır. Yeni ağaçlar da elma oluşumu 6-8 yıl sürer (Sinha, 2006).

Elma dünyadaki meyve üretiminde başı çekmektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütüne (FAO) göre 2005 yılı dünya elma üretiminin 5.26 milyon/ha alanda 58 milyon ton olduğu tahmin edilmektedir. Çin ve ABD yaklaşık % 36 ve %7’lik üretim ile dünyadaki elma üretiminde lider ülkelerdir (FAO, 2003).

Türkiye Asya ve Avrupa arasında yer almaktadır ve büyük biyolojik farklılıklara neden olan birçok ekolojik bölgeye sahiptir. Plantasyona uygun arazileri ve iklimsel koşulları göz önünde bulundurulduğunda Türkiye adeta bir meyve cennetidir. Dünya meyve üretiminin yaklaşık %4’ü Türkiye tarafından karşılanmaktadır. Elma üretimi bakımından ülkemiz dünya sıralamasında ilk 5’te yer almaktadır. Elma Türkiye meyve suyu endüstrisinde en fazla miktarda işlenen meyvelerden biridir. 2007 yılı verilerine göre en sık işlenen 7 meyve (kayısı, şeftali, vişne, portakal, üzüm, nar, elma) arasında meyve üretiminin % 28’ini elma oluşturmaktadır. Yine konsantre üretiminde en önemli kalemi elma suyu konsantresi oluşturmaktadır. Türkiye’ de meyve suyu endüstrisinde işlenen meyveler arasında elma % 49’luk payla birinci sırada yer almaktadır (Anonim, 2008).

Elmalar işleme ve depolama ihtiyaçları göz önüne alınarak hasat edilir. Çünkü erken hasat elmanın aroma, renk, boyut ve dayanıklılık süresini etkiler. Benzer şekilde geç hasat ise meyvenin sertliğini kaybetmesine sebep olur ayrıca depolama ömrünü kısaltır. Hasat sonunda, ürün 12 aydan daha uzun süre kontrollü atmosferde depolanabilir (Sinha, 2006). Hasat sonrası işlenecek meyveler, su ile

soğutma, yıkama, ayıklama, mumlama, sınıflandırma, paketleme işlemlerine tabi tutulur. Reçine ile kaplama (shellac) ve vaksalama yöntemi ile meyve yüzeyinin kaplanması ile meyvede yüksek oksijen ve karbondioksit geçirgenliği sağlanırken su buharı geçirgenliği engellenir. Bu sayede meyve uçucularının ve raf ömrünün depolama boyunca geliştiği rapor edilmiştir (Saftner, 1999).

Elmalar 0- (-1)°C %92- 95 nem içeriğinde soğuk bir ortamda kısa süre muhafaza edilebilir. Hasat sonrası soğutma işleminin derhal yapılması elmadaki yumuşamayı önler. Bu koşullar altında depolanan elmalar 2- 3 ay içinde işlenmelidir. Kontrollü atmosferde depolama ise atmosfer içeriği %1- 33 oksijen %1-3 CO₂ olan 0 °C ortamlarda gerçekleştirilir. Bu sayede meyve respirasyonu yavaşlatılmış olur. Kontrollü atmosfer koşulları altında elmalar niteliklerinden hiçbir şey kaybetmeden yaklaşık 1 yıl depolanabilir (Sinha, 2006).

1.2. Elma Kimyası

Elmaların kalitesi niteliklerinin farklılıklarına bağlı olarak değişir. Elmada tatlılık (°Briks) ve ekşilik (asitlik), taze aroma, katı-sulu yapı, tekstür, renk ve elma etinin görünüşündeki denge kaliteyi belirler. Genel olarak, elma % 85 su, %12- 14 karbonhidrat, % 0.3 protein, iz miktarda da yağ (%<0.10), mineral ve vitaminlerden oluşur (USDA National Nutrient Database, 2003). Bu bileşenler meyvenin yetiştirildiği bölgeye, cinsine, hasat zamanına, olgunluğuna, tarımsal ve çevresel koşullara bağlı olarak oransal olarak değişir. Toplam lif içeriği % 2 sorbitol ise % 0.2 oranında bulunur (Görsel ve ark., 1992). Malik asit ise % 0.3-1'lik oranla elmadaki birincil organik asittir. Bu bileşenlerin nicelikleri elmanın cinsi, olgunluğu, yetiştirilme ve depolama süresince çevresel koşullara göre farklılık gösterir

(Ackermann ve ark., 1992). Lopez ve ark. (2000), Golden Delicious cinsi elmaların normal soğuk depolama ile kontrollü atmosfer koşullarında asitlik, çözünür katı madde, sıklık ve renk değişkenlerini rapor etmiştir. Normal soğuk depolama süresince elmaların kontrollü atmosfer (CA) koşullarında depolanmasına kıyasla çok daha hızlı olgunlaştığı görülmüştür (Sinha, 2006).

1.3. Elma Suyu - Elma Şırası

Elma suyu kalorisiz düşük ve doğal şeker ihtiva eden bir üründür. Ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elma etinden sıvı kısmın ayrılması ile elde edilir. Elde edilen elma şırası içeriğindeki katı kısım (pulp) nedeniyle bulanık görünümlüdür. Amber sarısı rengindedir. Ürün filtre edilmemiş ve pastörizasyon işlemine tabi tutulmamıştır (Sinha, 2006).

Asit toleransı ve düşük bulaşıcı doz özelliği (10-2000 cfu/g) olan *E. coli* O157:H7 pastörize edilmemiş meyve sularında risk oluşturan bir bakteridir. 2001 yılında, FDA pastörize edilmemiş, doğal tüketilen meyve suyunda oluşabilecek gıda kaynaklı hastalıklar nedeniyle meyve suyu proseslerinde riayet edilecek HACCP prensipleri ve Sanitasyon Standart Operasyon prosedürleri (SSOPs) adı altında kurallar yayımlamıştır (Sinha, 2006).

Elma suyu üretimindeki işlem basamakları kısaca aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

1- Meyve seçimi ve hazırlama (hava ile temizleme, yıkama, muayene, sınıflandırma, kalite kontrol vb.): Yıkamadan önce ve sonra bir bant üzerinde ayıklama yapılır. Özellikle çürüklerin ayrılması gerekir. Bu aşama mikroorganizmaların metabolit miktarının sınırlanmasında ki en önemli noktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001)

2- Parçalama / Ezme (kritik işlem basamaklarından bir tanesidir): İri parçalama ile randıman azalırken, çok küçük parçalamada preslenme niteliği kaybolur. Elde edilen mayşeye hemen hiçbir ön işlem uygulanmadan preslenir. Ancak aşırı depolanmış elmalardan elde edilen mayşenin preslenme kabiliyetini arttırmak üzere enzim uygulaması yapılabilir ve presleme yardımcı maddeleri (% 0.5- 2 oranında) ilave edilebilir. Pres yardımcı maddesi olarak kullanılan bazı maddeler arasında buğday kepeği, pirinç kapçığı, testere tozu veya kağıt kırpıntıları yer almaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001).

3- Presleme / Ekstraksiyon: Dalında olgunlaşmış taze elmalardan elde edilen meyve suyu randımanı ortalama % 78-80 dolaylarındadır. Aşırı olgun ve depolanmış elmalarda randıman düşer. Presten elde edilen ham elma suyu bir santrifüj veya elekten geçirilerek içerisinde bulunan kaba parçacıklar ayrılır (Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001).

4- Berraklaştırma (Durultma) / Filtrasyon: Elmadaki kolloidal pektik maddelerin varlığı (nişasta, selüloz, hemiselüloz vs.) elma suyunda bulanıklığa ve faz ayrılmasına neden olur. Bu nedenle, ekstraksiyondan sonra enzimler vasıtasıyla elma suyunda askıda kalan partiküller uzaklaştırılır (Anonim, 2007). Bir enzim preparatı ilavesiyle sıcak depektinizasyon veya artık nadiren yapılan soğuk depektinizasyon uygulanır. Depektinizasyonun pektinin en küçük yapı taşına, yani galakturonik aside parçalanıncaya dek sürmesi gerekir. Depektinizasyon tamamen sona erince jelatin ilavesiyle ürün berraklaştırılır (Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001).

Askorbik asit ve sitrik asidin kombine şekilde kullanımı sülfitin yerine kullanılan ve proses esnasındaki enzimatik esmerleşmeyi önleyen bir durumdur. Enzim uygulamasının sonrasında elma suyu filtrasyon işlemine tabi tutulur (Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001).

5- Pastörizasyon (88°C / 1dk)

6- Paketleme (Hermetikli olarak kutular ya da şişeler kullanılır, aseptik dolum yapılır)

Genellikle elma suyu ve şırasının lezzetini veren, hammadde olarak farklı elma türlerinden yapılan harmandır. Elma suyunun verimi ticari üretimde %70-80 kadardır (Sinha, 2006).

1.4.Tarçın

Tarçın baharat olarak yüzyıllardır bilinmekte ve kullanılmaktadır. Defnegiller familyasındandır. Seylan tarçını olarak da bilinir Yapılan birçok araştırma tarçın kabuğunun antimikrobiyal, antienflamatuar (iltihap sökücü), hipoglisemik ve kolesterol düşürücü etkilerini kanıtlamıştır. Yaraların iyileşmesini hızlandırdığı tespit edilmiştir (Barceloux, 2009).

Tarçın esansiyel yağı en fazla çorba ve insektisitlerde aroma arttırıcı ajan olarak kullanılmaktadır. Klinik olarak gaz giderici, diyare önleyici, antimikrobiyal ve antiemetik olarak kullanılmaktadır. Ticari olarak ise en çok kola benzeri içeceklerde, pastacılık- fırıncılık ürünlerinde, soslarda, likörlerde kullanılmaktadır (Barceloux, 2009).

Tarçın kabuğu tozu antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinden ötürü baharat olarak geniş bir alanda kullanılmaktadır. Antimikrobiyal etkileri bilinen en büyük iki bileşeni sinemaldehit ve öjanoldür. Patojen ve saprofit mikroorganizmaları kontrol altında tutan bu baharatın taze kesilmiş meyvelerde kullanımı ile ilgili literatürde birçok bilgi bulunmaktadır (Raybaudi-Massilia ve ark., 2009). Tarçının gıda koruyucusu olarak faaliyet gösterme yeteneği gizemini korumakta ve

araştırılmaya devam edilmektedir. Tarçının yakın dönemdeki *in vitro* çalışmaları, kendisinin ette bozulmaya neden olduğu bilinen bakterilerin gelişimini inhibite etme hususunda etkin olduğunu göstermiştir (Ouattara ve ark., 1997).

L. monocytogenes ve *E. coli* O157:H7 gibi patojen mikroorganizmaları inaktive etmek için meyve sularında kullanımı ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Yuste ve Fung, (2002) tarafından % 0.1, % 0.2 ve % 0.3 (w/v) tarçın ilave edilen pastörize elma suyunda 5 ve 20°C’ de 1 saat süreyle inkübe edilen *L. monocytogenes* sayısında 4-6 log kob/mL bir azalma tespit edilmiştir. Bu örneklerde 7 günlük depolama sürecinde herhangi bir mikroorganizma gelişimi görülmemiştir. Diğer yandan, Ceylan ve ark. (2004) tarafından, pastörize elma sularına % 0.3 (w/v) tarçın eklendiğinde *E. coli* O157:H7 sayısında 14 gün sonra (8°C) 1.6; 3 gün sonra ise (25°C) 2 log kob/mL seviyesinde bir azalma görülmüştür. Aksine, Iu ve ark. (2001), tarafından 42°C de pastörize edilmemiş elma şirasına % 2 (w/v) tarçın ilave edilmiş, *E. coli* O157:H7 sayısında 2 log kob/mL’ye yakın bir azalma rapor edilmiştir. Sonuçlar göstermektedir ki, benzer koşullar altında tarçın *L. monocytogenes*’e karşı *E. coli* O157:H7 den çok daha etkindir. Dahası, depolama sıcaklığı tarçının antimikrobiyal etkisi üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. Yüksek sıcaklıklarda antimikrobiyal etkinin çok daha fazla olduğu görülmüştür (Raybaudi-Massilia ve ark., 2009).

Yapılan bir başka çalışmada tarçının, üç gün sonunda elma suyu örneklerine inoküle edilmiş bakterilerin %99.5’inin inaktive olduğu tespit edilmiştir. Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) onaylı bir gıda koruyucusu olan sodyum benzoat ile %1’lik bir oranda karıştırıldığında, bakteriler tamamen yok edilmiştir (Ceylan ve Fung, 1999).

Burt (2004), esansiyel yağların antimikrobiyal etkilerinden kaynaklanan bakteriyel duyarlılığın gıdalardaki pH değerinin düşüşüyle ters orantılı şekilde artış

gösterdiğini rapor etmiştir. Çünkü düşük pH'da esansiyel yağların hidrofobik özelliği artmakta hedef bakterilerin hücre membranlarındaki lipit tabakasında yağların çözünmesi çok daha kolay olmaktadır.

Oksidasyona karşı hangi doğal içeriklerin en koruyucu olduğunun belirlenmesi için çok çeşitli deneyler yapılmıştır. Bir deneyde, tarçının BHA veya BHT'den daha güçlü bir antioksidan olduğu sonucuna varılmıştır. Gıda değerinin azalması ya da bozulmasında oksidasyon en temel kimyasal reaksiyondur (Murcia ve ark., 2004). Araştırmacılar, bu baharatların yüksek flavonoid içeriğinin böyle güçlü bir antioksidan faaliyetinin temeli olduğunu ileri sürmüşlerdir. Gıdalar için daha çok doğal koruyucuların kullanımı ile ilgilenenler için, bu bulgular umut vericidir (Roberta Lee ve Michael, 2005).

Aspegillus niger, *Candida albicans* ve *Histoplasma capsulatum*'da tarçındaki sinemik aldehitin (sinnamik aldehit) antifungal etkileri tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada, tarçın kabuğu yağının doğal mantar enfeksiyonlarında potansiyel iyileştirici olduğu ileri sürülmüştür (Singh ve ark., 1995). Sonuç olarak, çeşitli *in vitro* ve hayvan çalışmalarında, tarçından izole edilen sinnamon aldehit ve öjanol anti kanser, anti enflamatuar, ve yara iyileştirici özellikleri rapor edilmiştir (Ka ve ark., 2003; Prasad ve ark., 2004).

Tarçın yağının mekanizmasının hala tam olarak anlaşılamamasına rağmen, Wendakoon ve Sakaguchi (1995) ve Burt (2004), tarçın yağının ana bileşeni olan sinemaldehitin karbonil grubunun sitoplazmik membrana gömülmüş hücre proteinleri üzerindeki aminoasit biyosentezi ve yıkımı için gerekli olan aminoasit dekarboksilaz enzimlerinin aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Diğer yandan Oussalah ve ark. (2006) tarafından, % 0.1 tarçın yağı ilave edilen örneklerde hücre geçirgenliğinin artması nedeniyle intraselüler pH' nın azaldığı, intraselüler ATP

konsantrasyonunun azaldığı ve hücre bileşenlerinin serbest kaldığı rapor edilmiştir. Yine de araştırmacılar elektron mikroskobuyla inceledikleri hücre yüzeyinde tarçın yağı ilave edildiğinde açık bir değişime rastlamamıştır. Aynı şekilde, Gill ve Holey (2004, 2006) % 0.15 ya da % 0.6 sinemaldehit kullanıldığında hücre içi ATP’de ani bir azalma tespit etmiş, fakat hücre dışı ATP’de herhangi bir artış gözlememiştir. Gill ve Holley (2004, 2006) ve Oussalah ve ark. (2006)’na göre gerçekleşen mikroorganizma inaktivasyonunda tarçın yağı ve ana bileşenlerinin parçalanmaların da görüldüğü hücre membranı ile bağlantılı olduğu anlaşılmıştır. Şöyle ki; hücre membranı ATP gibi (ki daha sonra ATPaz enzimi ile indirgenir) büyük hücre bileşenlerini sızdırmaz ancak küçük iyonların hücre dışına çıkmasını engelleyemez.

Bugün tarçın, GRAS (generally recognized as safe) statüsünde bir gıda katkı maddesidir (Barceloux, 2009). Amerika Birleşik Devletleri’nde satılan en önemli ikinci baharattır. Aristo bir zamanlar “Doğanın her şeyinde olağanüstü bir şey vardır” demiştir, ve kesinlikle tarçın doğanın bilgeliğinin yüce bir örneğidir (Roberta Lee ve Michael, 2005).

1.5. Atımlı Elektrik Akım Prosesleri

Atımlı elektrik akım prosesi PEF (Pulsed Electric Field), iki elektrot arasından akışı sağlanan gıdaya 20-80 kV/cm arasında değişebilen yüksek voltajlı elektrik akımı uygulanması ile gerçekleşir. PEF prosesleri oda sıcaklığında ya da oda sıcaklığının altındaki ve biraz üstündeki sıcaklıklarda 1 sn’den az bir zaman diliminde uygulanır (Quass, 1997). Bu proses düşük sıcaklıklarda gıda sterilizasyonuna imkan veren bir uygulama olduğundan geleneksel pastörizasyon yöntemlerine alternatif teşkil eder (Anonim, 2009a). PEF uygulamasında gıda kısa

periyotlarla muamele gördüğünden gıdanın ısı artışından dolayı meydana gelebilecek enerji kayıpları minimum düzeydedir (Qin ve ark., 1996). PEF ile muamele edilmiş bir gıdada duyusal ve fiziksel olarak meydana gelen kayıplar önemli ölçüde azaltılabilmekte ya da tamamen önlenabilmektedir. Bu nedenledir ki; gıdaların nitelikleri yönünden kıyaslandığında PEF'in diğer geleneksel pastörizasyon yöntemlerinden üstün bir teknik olduğu söylenebilir (Quass, 1997). Yapılan bazı çalışmalarda PEF uygulamalarının gıdada bileşen kayıplarını önlediği sonucuna varılmasına rağmen yine de bu teknolojiye bir gıda prosesi olarak yararlanmadan önce gıdaların niteliklerinin ve kimyasal olarak PEF uygulamasının etkilerinin iyi anlaşılması gerektiği vurgulanmıştır (Qin ve ark., 1995b).

Gıdaların PEF ile muamelesi günümüzde hala araştırılmaya devam eden bir konudur (Anonim, 2009b). PEF, sıvı ve yarı- sıvı gıda ürünlerine uygulanabilen bir işlemdir. PEF teknolojisinin meyve suyu, süt, yoğurt, çorba ve sıvı yumurta pastörizasyonlarında başarılı şekilde uygulandığı görülmüştür. PEF sistemi, yüksek elektrik iletkenliğine sahip ve hava kabarcığı olan gıdalarda başarılı bir şekilde uygulanamaz. Uygun bir PEF prosesinin sağlanabilmesi için sıvılardaki maksimum partikül boyutu uygulama odacıklarındaki iki elektrot arasındaki aralıktan küçük olmalıdır. PEF süreklilik arz eden bir metot olup pompalanamayan katı gıdalar için uygun değildir. PEF, şeker ve şeker pancarı gibi diğer gözenekli bitki hücrelerinin ekstraksiyonunda da kullanılan bir yöntemdir. Aynı zamanda bu prosese atık sulardan katı kısmın (lağım pisliği) ayrılmasında da başvurulur (Anonim, 2010).

ABD Gıda ve İlaç Yönetimi (USFDA) tarafından yeni teknolojilere ya da uygulamalara başvurulacağına, meyve suyu üretiminde hedef mikroorganizmalarda en az 5.0 log kob/mL'lik bir azalma sağlanmasını zorunlu kılmaktadır (USFDA, 2002). PEF ile ilgili yapılan araştırmalar ile ticari olarak bu sistemin

uygulanabilirliğini kanıtlanmış ve birçok araştırma ile PEF uygulamaları ileri safhalara taşınmıştır (Braakman, 2003) Yine de PEF uygulanan meyve sularındaki hedef patojenik mikroorganizmaların inaktivasyonu ile ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Mertens ve Knorr, 1992; Liang ve ark., 2002).

PEF ile muamele görmüş ürünler konvansiyonel pastörizasyon işlemine tabi tutulmuş ürünlere nazaran biraz daha farklı ürün özellikleri gösterir. Birçok enzim PEF uygulamasından etkilenmez. PEF uygulamalarında ulaşılan en büyük sıcaklık değeri, termal pastörizasyonda ki maksimum sıcaklık değerinden düşüktür. Böylelikle üründeki aroma maddelerinin kaybına ve/veya ısıl uygulamaya bağlı yeni aroma oluşumuna engel olunur (Anonim, 2009a). Tekstür bozukluğu, aroma ve renk kaybı gibi nedenlerden ötürü termal pastörizasyonun uygulanamadığı ısıya duyarlı sıvı gıdalar için PEF uygulamaları avantaj arz eder (Anonim, 2010). PEF ısı muamelesinin azlığından ötürü biraz da ışınlama uygulamalarına benzetilebilir. PEF' in bakterilerin vejetatif formları, küfler ve mayalar üzerinde ölümcül etkisi vardır. Hemen hemen bütün hücreler, hücre içi ve dışı besin ve atık akışını kontrol eden porlara sahiptir. Por yapısı elektriksel akım yoğunluğu, atım aralığı, atım sayısı gibi faktörlere bağlı olarak tersinir ya da tersinmez bir hale dönüşür (Anonim, 2010). İnaktivasyon, elektrik akım yoğunluğu belli bir eşik değerini geçtiğinde meydana gelir (Knorr ve ark., 1994). PEF ile muamele görmüş hücrelerin membranları küçük molekülleri geçirgen bir hal alır. Oluşan geçirgen yapı zamanla hücrenin şişmesine ve hücre membranında giderek artan parçalanmalara sebebiyet verir (Anonim, 2010). Hücredeki porlar yeterince genişlerse hücre içi bileşenler ortamda serbest kalır ve yabancı maddeler hücre membranından girebilir. Uygulanan elektrik akımı hücre membranındaki porların genişlemesine sonuç olarak da hücre ölümüne ve hücre içi bileşenlerin açığa çıkmasına sebep olur (Anonim, 2009a).

Dielektrik yıkım teorisine göre (dielectric rupture theory), hücreye elektrik akımı verilmesi ile birlikte hücre membranının iki yüzü arasında elektriksel potansiyel bir fark (transmembran potansiyeli) oluşur. Bu potansiyel fark kritik ya da eşik değerini geçtiğinde hücre zarında elektroporasyon dediğimiz olay meydana gelir. Membrandaki geçirgenliğin artışı, uygulanan elektrik akım direnci hücre zarının gösterdiği dirence eşit ya da eşik değerinden az biraz artış gösterdiyse tersinir bir hal alabilir. Transmembran potansiyel eşiği, her ne kadar spesifik mikroorganizma ya da enzimlerin varlığına bağlıysa da ortam koşulları da bu değişimde önemli rol oynar (Knorr ve ark., 1994). Uygulanan elektrik akım şiddeti gıdalardaki mevcut enzimlerin ve mikroorganizmaların çeşidine bağlı olarak değişir. Atımlı elektrik akımı uygulayarak mikroorganizmaları inaktif edebilmek sıcaklık, pH, gıdalarda iletken iyon varlığı, elektrik akım süresi, mikroorganizmaların üreme durumları gibi daha birçok değişkene de bağlıdır (Anonim, 2000).

Sporların inaktivasyonu için ise PEF tek başına yeterli değildir, bu nedenle PEF ile birlikte ısıl işlem uygulanır (Anonim, 2010). Çevrelerinde koruyucu tabakası olan su kaybetmiş hücreler olarak bilinen sporlar PEF prosesinden sonra da canlılıklarını çoğunlukla yitirmezler. Sporların ve enzimlerin canlılığını kaybetmemesi demek ürünlerin PEF ile işlenmesinden sonra soğukta muhafazasını gerekli kılar. Amaç ürünlerdeki enzim aktivitesini yavaşlatmak ve patojen çoğalmasını engellemektir (Anonim, 2009a).

PEF uygulamaları hücre membranından dışarı çıkartılacak ürünler üretmek için oldukça etkili bir yöntemdir. Özellikle meyve ve sebze suyu üretimi için uygun bir işlem basamağıdır. Çünkü hücre porlarının genişlemesi ürünlerdeki suyun ekstraksiyonunu kolaylaştıran bir unsurdur. Aynı zamanda PEF teknolojisinin, şeker pancarından şekerin ekstrakte edilmesinde, yağlı bitkilerden yağ ekstraksiyonunda ve

diğer alg benzeri mikroorganizmalardan ürün elde etme aşamasında da yarar sağlayacağı düşünülmektedir (Anonim, 2009a).

Yüksek voltajlı elektrik akımı üretiminin gerçekleşmesi, sıcaklık artışlarını minimize edebilecek ve gıdalara uniform bir muamele sağlayacak uygulama odacıkları oluşturulması, elektrotların elektroliz riskini en aza indirgeyecek şekilde tasarlanması PEF uygulamalarında dikkate alınması gereken önemli hususlardır. Yüksek voltajlı elektrik akımı bir güç kaynağı (jeneratör) tarafından üretilir. Üretilen bu enerji ise sistemde var olan bir kapasitör dizisi tarafından depolanır ve daha sonra bu kapasitör dizisi depoladığı enerjiyi yüksek voltaj atımı şeklinde sisteme aktarır (Zhang ve ark., 1995a).

PEF ile ilgili muhtemel sorunlar elektriksel ark ve 30°C'nin üstündeki sıcaklık artışlarıdır. PEF'in sıvı gıdalara uygulanması esnasında oluşabilecek gaz baloncukları elektrotlar arası elektriksel ark oluşmasına bu da ürünün yanması ve kanserojen maddelerin oluşumu gibi istenmeyen sonuçlara sebep olabilir. Gaz oluşumunu engellemek için tek çözüm sıvıya basınç uygulamaktır (Anonim, 2009a).

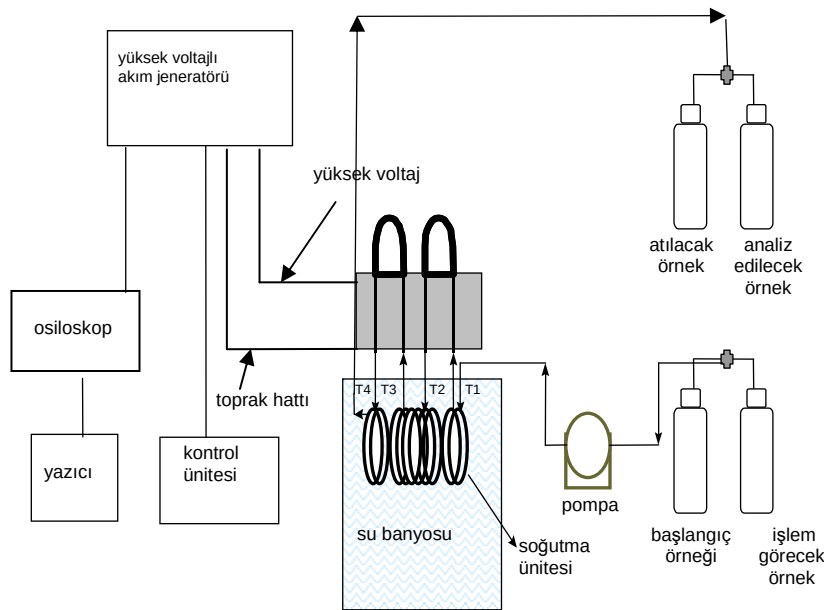
Enerji gereksinimleri ile ilgili yapılan araştırmalar özellikle sürekli sistemlerin kullanıldığı durumlarda termal pastörizasyon işlemleriyle kıyaslandığında PEF uygulamalarının enerji verimliliğinin çok daha yüksek olduğunu göstermiştir (Qin ve ark., 1995a).

Gıda statik (durağan) sistem odalarında tutulabilir ya da sürekli sistem odalarında sirkülasyon yaptırılabilir. Statik odacıklar daha çok laboratuvar ölçekli çalışmalar için uygundur. Pilot işletmelerde ya da endüstriyel ölçekli operasyonlarda sürekli sistem odacıkları tercih edilir (Barbosa-Canovas, 1998).

1.5.1. Atımlı Elektrik Akımı Sistem Ekipmanları

Günümüzde, PEF uygulamalarında iki ticari sistemin varlığından söz edilmektedir (PurePulse Teknolojileri, Inc. ve Thomson-CSF). Sistem, durağan (U şeklinde biçimlendirilmiş ve cam bobinli durağan odacık) ve sürekli (iletken iyon membran odacığı, hazneli odacık, arttırılmış elektrik akım uygulama odacıkları, koaksial odacık) olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadır (Anonim, 2000).

Sistem yüksek voltaj sağlayan güç kaynağı, enerji depolayan kapasitör, uygulama odaları, gıdayı uygulama odacıklarına iten bir pompa, soğutucu donanım, voltaj, akım, sıcaklık ölçüm aletleri ve de operasyonu kontrol edecek bir bilgisayar ünitesinden oluşmaktadır (Anonim, 2000).



Şekil 1.1. Laboratuvar ölçekli OSU-4A PEF sistemi şematik diyagramı (Evrendilek ve ark., 1999).

Laboratuar ölçekli PEF sistemleri temel olarak 5 ana kısımdan oluşmuştur. Bunlar;

- elektrik akım jeneratörü,
- kapasitör,
- uygulama odaları,
- sıvı taşıma sistemi
- monitör sistemidir (Altuntaş ve ark., 2008)

1.5.1.1. Elektrik Akım Jeneratörü (Yüksek Voltaj Sağlayan Güç Kaynağı)-Kapasitör

Jeneratör düşük seviyedeki enerjiyi yüksek enerjiye çevirir ve PEF sistemine yüksek voltaj sağlar. Düşük seviyedeki voltaj bir kapasitör vasıtasıyla sistemde biriktirilip depo edilir ve ardından hemen yüksek seviyedeki voltaja çevrilip elektrik akımı olarak üretilir. Üretilen yüksek voltajlı elektrik akımı mikro saniyelik sürelerde uygulama odasındaki gıdaya verilir ve elektrik akımı mikro saniyelik sürelerde uygulandığından gıdanın ısınması minimum düzeyde olur (Zhang ve ark., 1995a).

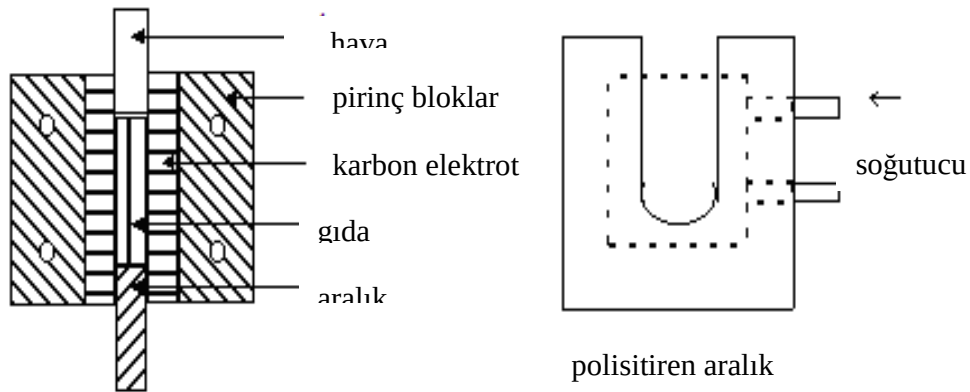
1.5.1.2. Yüksek Akım Uygulama Odacıkları

Atımlı elektrik akım sistemi gıdaya yüksek voltaj iletiminin gerçekleştiği ve içinde elektrotların olduğu uygulama odacıklarında meydana gelir. Kullanılan farklı tipte uygulama odacıkları vardır (Zhang ve ark., 1995a). Sistemde aynı dozda verilen voltajın mikrobiyal hücreler üzerinde benzer etkiler gösterebilmesi için, uygulama odacıklarındaki elektrik alan kuvvetinin tekdüze bir şekilde dağılımı istenir (Fiala ve ark., 2001).

Uygulama odacıklarının dizaynı durağan sistem odacıklarından sürekli sistem odacıklarına doğru gelişim göstermiştir.

1.5.1.2.1. Durağan Sistem Odacıkları (Statik uygulama odaları)

Bu uygulama odaları daha çok laboratuvar ölçekli PEF sistemlerinde kullanılmaktadır (Min ve ark., 2007). İlk olarak 1960'lı yıllarda Sale ve Hamilton tarafından U şeklinde biçimlendirilmiş durağan sistem odacıkları üzerinde çalışılmıştır (Şekil 1.2). Bu uygulama odacığı, pirinç bloklar tarafından desteklenmiş iki karbon elektrot ve bu elektrotların arasında bulunan u şeklindeki bir polietilen bölümden oluşur. Gıdanın yukarısındaki hava nedeniyle oluşan elektriksel yıkımlardan ötürü bu model bir sistem odacığında maksimum uygulanabilir elektrik alan şiddeti 30kV/cm' dir (Alkhafaji, 2006).



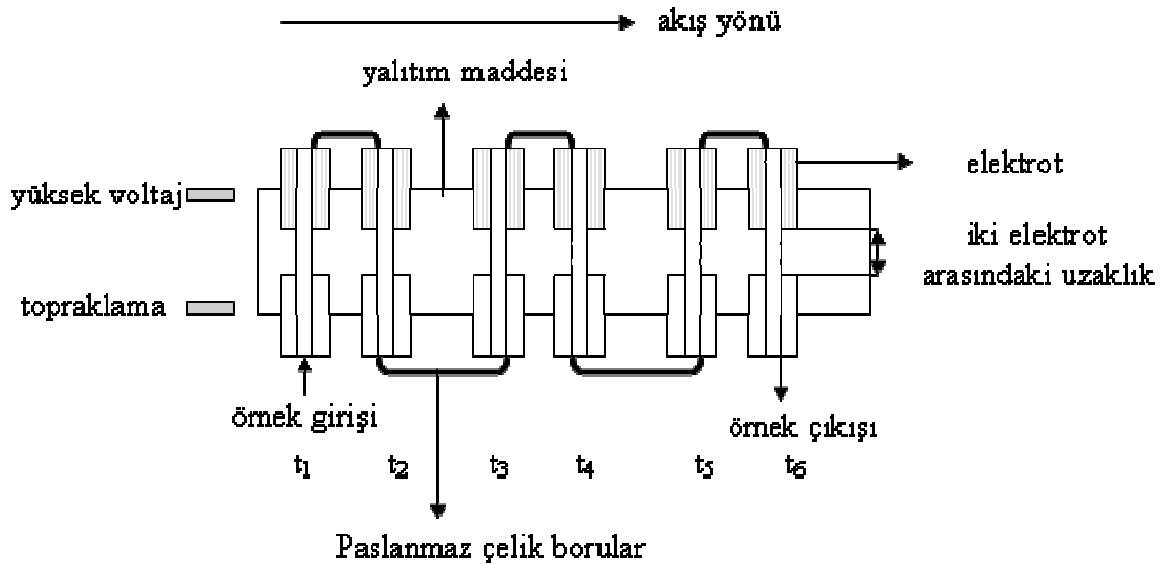
Şekil 1.2. Sale ve Hamilton tarafından tasarlanan statik odacık modeli (Dunn ve Pearlman, 1987).

Bu sistem odacığının kullanıldığı uygulamalarda oluşan ısıнын öldürücü bir etkisi yoktur (Huang ve Wang, 2009). Yapılan araştırmada, Sale ve Hamilton (1967b) tarafından, organizma ölümünün elektrolizden kaynaklanmadığı, meydana

gelen hücre ölümlerinin elektrik akım uygulamaları sırasındaki hücrenin membran faaliyetlerindeki geri dönüşümsüz kayıplardan kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

1.5.1.2.2. Sürekli Sistem Odacıkları

İlk olarak Dun ve Pearlman (1987) tarafından tasarlanmıştır. Bu odacıklar iki paralel plak elektrot ve dielektrik yalıtkandan ibarettir. Elektrotlar gıdadan akrilik asit kopolimer ve sülfonat polisitirenden yapılan iletken bir membran vasıtası ile ayrılır (Şekil 1.3). Şimdiye kadar tasarlanmış olan sürekli sistem odalarının birçoğu statik oda tasarımlarından ilham alınarak dizayn edilmiştir. Daha açık bir deyişle, sürekli sistem odalarının birçoğu yine benzer statik uygulama odalarının modifiye edilmesi sonucu meydana gelmiştir (Martin ve ark., 1997). Doğru şekilde tasarlanmış bir sistem odası, PEF uygulamasının verimliliği açısından oldukça önemlidir (Narsetti ve ark., 2006).



Şekil 1.3. Eş zamanlı akış sağlayan sürekli uygulama odacıkları (Evrendilek ve ark., 2004).

1.5.1.3. Sıvı Gıdanın PEF Sisteminde Taşınımını Sağlayan Sıvı Taşıma Sistemi

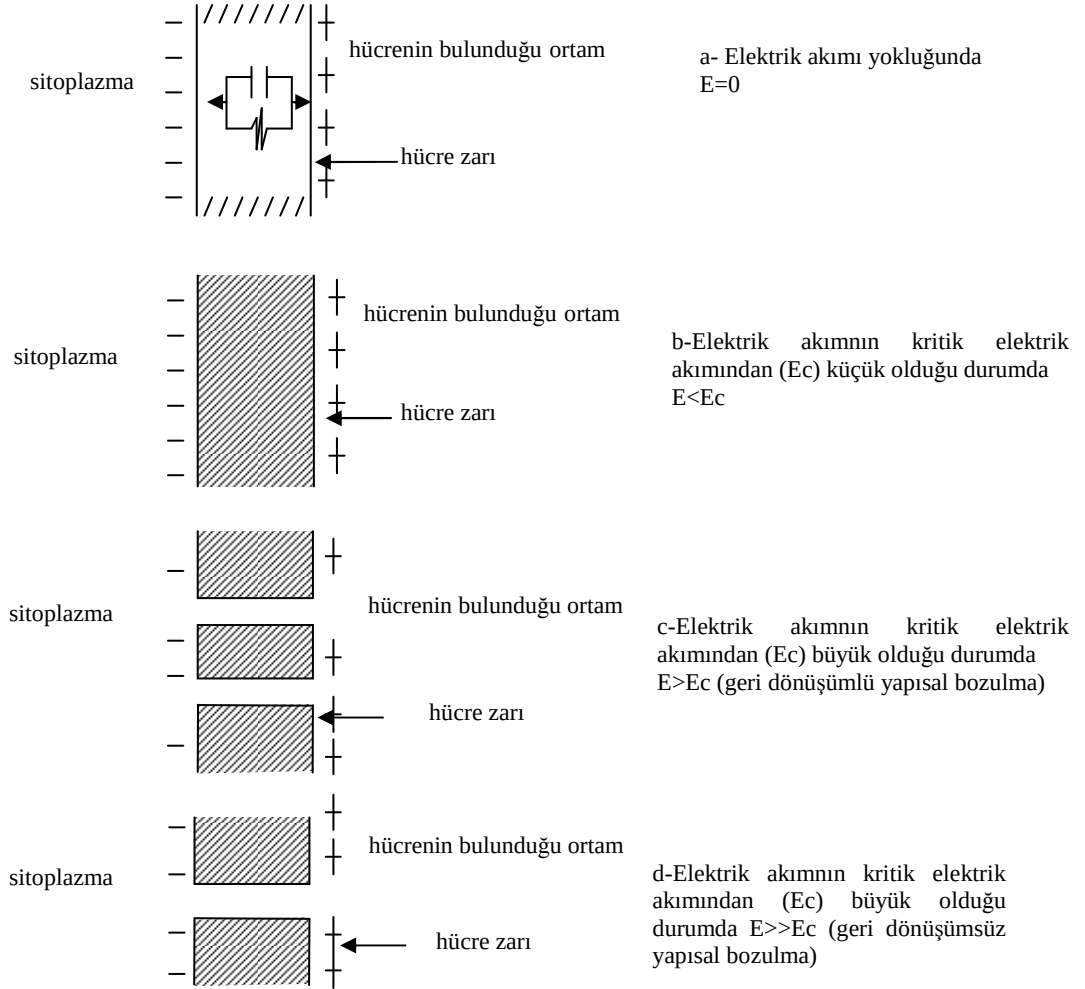
Laboratuvar ölçekli PEF sistemlerinde sıvı taşıma sistemi başlangıç örneği, proses edilecek örnek, proses edilmiş analize alınacak ve atılacak örnekleri içeren örnek kapları, sıvı gıdanın uygulama odacıklarına taşınımını sağlayan esnek plastik tüpler ile gıdanın yapısına uygun nitelikteki, ürünün uygulama odacıklarına iletimini sağlayan bir pompadan oluşmaktadır. Pilot işletmelerde sıvı taşıma sistemi aseptik olarak dizayn edilmiş ürün hazırlama tankları, gaz alma ünitesi, ısı değiştiriciler ve gıdanın sistem içerisinde taşınmasına hizmet eden yarıçapı daha büyük paslanmaz çelik borulardan oluşmaktadır (Altuntaş ve ark., 2008).

1.5.2. PEF Proseslerindeki Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizması

1.5.2.1. Elektriksel yıkım

Zimmermann (1986) tarafından yapılan araştırmada hücre zarının elektriksel yıkımı açıklanmıştır. Membran dielektrik enerjisi ile doldurulmuş bir kapasitör olarak düşünülebilir (Şekil 1.4). Hücre zarı normal şartlarda 10 mV kadar bir potansiyel dirence (hücre içi ve hücre dışı elektriksel yük farklılığı) dayanıklılık gösterebilir (Anonim, 2000). Dielektrik kopma teorisine göre (Dielectric rupture theory), hücreye elektrik akımı verilmesi ile birlikte hücre membranının iki yüzü arasında elektriksel potansiyel bir fark (transmembran potansiyeli) oluşur (Rachana ve Gupta, 2010). Bakteri hücresi ortamın elektriksel yük değişimine kendini adapte etmeye çalışır. Hücre zarında meydana gelen potansiyel yük artışı hücre zarının

incelmesine neden olur (Anonim, 2000). Bu potansiyel fark kritik ya da eşik değerini geçtiğinde hücre zarında elektroporasyon dediğimiz olay meydana gelir.



Şekil 1.4. Hücre zarının elektrik akımı altında göstermiş olduğu yapısal değişiklik (Zimmermann ve Benz, 1980).

Membrandaki geçirgenliğin artışı, uygulanan elektrik akım direnci hücre zarının gösterdiği dirence eşit ya da eşik değerinden az biraz artış gösterdiyse tersinir bir hal alabilir (Rachana ve Gupta, 2010). Eğer ki hücre zarına oranladığımızda porların boyutunda ve sayısında artış olduysa geri dönüşümsüz bir reaksiyon söz konusu demektir.

$$E_{\text{kritik}} = V_{\text{kritik}} / fa$$

a: hücre boyutu

f: hücre şekline bağlı katsayı (Schoenbach ve ark., 1997)

Küresel (kok) şekilli bir hücre için f değeri 1.5' tur. Silindirik hücreler için boy (L) ve elips şeklindeki hücreler için çap (d) göz önünde bulundurulursa

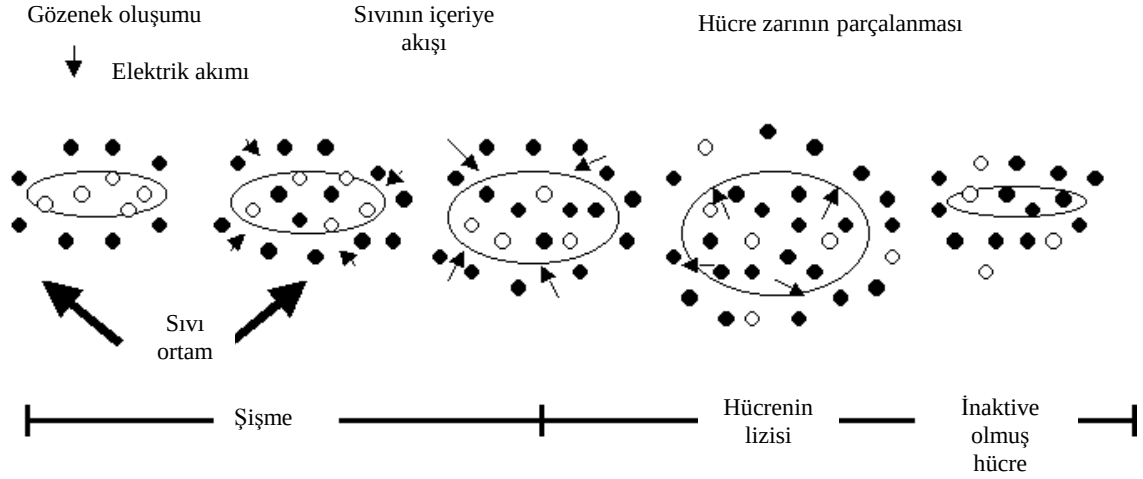
f değeri = $L \times (1-d)/3$ olarak hesaplanır.

1.5.2.2. Elektroporasyon

Elektroporasyon yüksek voltajlı elektrik akımına maruz kalan hücre zarının lipit katmanı ve protein yapısının geçici olarak bozulması olarak tanımlanabilir (Castro ve ark., 1993). Yarı geçirgen hücre plazması elektrik akımı uygulandığı zaman küçük moleküller için geçirgen bir hale dönüşür. Bu geçirgenlik şişmeye ve nihai olarak da yapıda parçalanmalara neden olur. Elektrik akımının mikroorganizmadaki en büyük etkisi membran basıncını arttırması ve por oluşumu nedeniyle yapıya geçirgenlik kazandırmış olmasıdır (Vega-Mercado ve ark., 1996b) (Şekil 1.5). Kinoshita ve Tsong (1977, 1979)'un yaptığı araştırmalarda 1nm çapındaki insan eritrositinde minimum 2.2kV/cm'lik bir elektrik akımında por oluşumu gözlenmiştir.

Kinoshita ve Tsong (1977) tarafından yapılan araştırmada elektrik akım uygulamasının hücre zarında meydana getirdiği elektroporasyonun iki aşamada gerçekleştiği tespit edilmiştir. Birinci aşamada uygulanan voltaj hücre zarını strese

sokar ve hücre zarı iyon konsantrasyonunu dengede tutmaya çalışır. İkinci aşama da hücre zarı yüzeyinde zamana bağlı olarak porlar şekillenir.



Şekil 1.5. Hücre zarı elektroporasyonu (Vega-Mercado ve ark., 1996b).

Lipid (lipozom) yapısındaki iyonların ve su dipollerinin doğal olarak oluşan hidrofobik porlar boyunca elektroforetik hareketi elektroporasyonun başlangıcı olarak varsayılmaktadır. Ek olarak, zar üzerindeki protein kanalları porlar ve membrandaki pompalar uygulanan yüksek voltajlı elektrik akımına karşı oldukça hassastır ve yine elektroporasyon mekanizmasının başlangıç unsurlarını oluştururlar (Tsong, 1990). Hücre membranı elektrikle yüklenir. Lipitler, proteinler, karbonhidratlar, iyonlar ve bunların polarizasyonu elektrik akımına neden olur. Bu yüzden elektroporasyon hem lipozomlarda hem de hücre membranlarında meydana gelir (Anonim, 2000).

1.5.3. PEF Proses Parametreleri

PEF uygulamalarında sisteme verilecek elektrik akımı ve bu akımın sistemde kalış süresi aşağıda belirtilen faktörlere bağlı olarak değişim gösterir ve de bu faktörler kullanılarak hesaplanır.

D: İşlem odasında iki elektrot arasındaki uzaklık (cm)

Φ : İşlem odacığı çapı (cm)

τ : Her bir atımın süresi-genişliği (μs)

f: Frekans (Atım/s): Uygulanan elektrik atımlarının sıklığı

n: Odacık sayısı

V: Uygulanan voltaj

I: Akım (A)

t_c : Sirkülasyon zamanı (dak)

V: Sirkülasyon hacmi (mL)

Q: Gıdanın akış hızı (mL/dak)

σ : Proses sıcaklığında gıdanın elektrik iletkenliği (Siemens/m)

ρ : Proses sıcaklığındaki gıdanın yoğunluğu (g/cm^3)

C_p : Gıdanın spesifik sıcaklığı ($J/g^\circ C$)

E_p : Uygulanan elektrik alan şiddeti (kV/cm)

$$E_p = V / (1000D) \text{ (kV/cm)}$$

t_r = Uygulama süresi (μs)

$$t_r = D/Q_v \text{ (s)}$$

Q_v : Gıdanın ortalama akış hızı

$$Q_v = Q/[(3.14/4) 60 \Phi^2] \text{ (cm/s)}$$

n_p = Gıdaya verilen toplam atım sayısı

$$n_p = t_r f$$

n_t : Proses edilen örnek sayısı

$$n_t = (Q t_c) / v$$

N : Toplam işlem zamanı

$$N = n_p \tau n n_t \text{ (}\mu\text{s)}$$

W : Saniyedeki enerji girişi

$$W = V I \tau f 10 \text{ (J)}$$

T : Ardışık iki uygulama odacığında meydana gelen sıcaklık artışı

$$\Delta T = [(E_p^2) n_p \tau \sigma] / (0.01 \rho C_p) \text{ (}^\circ\text{C)}$$

PEF prosesi esnasında monitör vasıtasıyla kontrol edilebilen önemli parametreler şunlardır:

- Verilen elektrik alanın şiddeti-volt
- Verilen elektrik alanın direnci-amper
- Elektrik akımı uygulama süresi- μ s
- Uygulanan elektrik akımının dalga şekli
- Uygulanan elektrik akımının tekrarlama oranı-frekans
- Her işlem odasına giriş çıkış sıcaklıkları- $^\circ\text{C}$

- Akış hızı-mL/s

1.5.4. Kritik Proses Faktörleri

PEF teknolojisinde mikrobiyal inaktivasyonun başarısı üç temel faktöre bağlıdır. Bunlar; proses parametreleri, ürün parametreleri ve mikrobiyal parametreler olarak sınıflandırılır (Min ve ark., 2007).

1.5.4.1. Proses Parametreleri

1.5.4.1.1. Elektrik alan yoğunluğu

Elektrik alan yoğunluğu mikrobiyal inaktivasyonun başarısını etkileyen önemli bir parametredir (Hüshelguer ve Niemann, 1980; Dunne ve ark., 1996). Dielektrik parçalanma teorisine göre, dışarıdan uygulanan elektrik alan hücre membranı boyunca transmembran potansiyel denilen bir elektrik potansiyel farkı oluşturur. Bu potansiyel kritik bir değere ulaştığında, hücre membranında por oluşumu veya elektroporasyon başlar, geçirgenliği artar. Hücre membranının koruyucu özelliği ortadan kalkar ve hücre içindeki yaşam materyalleri kaybolur. Bu geçirgenlikteki artış, dışarıdan uygulanan elektrik alan gücü (yoğunluğu) kritik değere eşit ya da çok az aşmışsa geri dönülebilir düzeydedir. Gıda pastörizasyonu olarak da nitelendirebileceğimiz PEF uygulamalarında ise bu değerin aşılması ve hücre duvarlarında geri dönüşümsüz tahribat için işlem süresinin veya şiddetinin artırılması gerekmektedir (Anonim, 2007). Elektrik alan yoğunluğu transmembran

potansiyelinin ne kadar üzerine çıkarsa mikrobiyal inaktivasyon o derece artar (Oin ve ark., 1998).

Hücrede kritik elektrik potansiyel fark oluşturacak kadar bir elektrik alan yoğunluk artışı (kritik transmembran potansiyeli) mikrobiyal inaktivasyonun da artışı anlamına gelir (Qin ve ark., 1998). İnaktivasyonun gerçekleşmesi için uygulanması gereken en düşük elektriksel alan yoğunluğu kritik elektrik alan (E_c) olarak tanımlanır. Büyük hücrelerin transmembran (geçirgenlik) potansiyeli daha yüksektir (Jeyamkondan ve ark., 1999). Uygulanan atım genişliği de kritik elektrik alanı (E_c) etkiler. Örneğin; 50 mikrosn'den geniş atımlarda (dalga genişliği) E_c 4,9 kV/cm; 2 mikrosn'den az atımlarda E_c 40 kV/cm kullanılır (Schoenbach ve ark., 1997).

1.5.4.1.2. Uygulama süresi

PEF teknolojisinde uygulama süresi, belirli bir zaman dilimindeki atım sayısını ve atım süresini ifade eder. Bu değişkenlerden herhangi birinin artışı mikrobiyal inaktivasyonu da artırır (Sale ve Hamilton, 1967a). Uygulanan atım genişliği de (atımın dalga boyu) mikrobiyal inaktivasyon açısından önemli bir parametre olup, E_c değerini etkilemektedir. Uygulanan atımın dalga boyu arttıkça E_c değeri düşer dolayısıyla yüksek oranda mikrobiyal inaktivasyon gerçekleşir. Fakat, dalga boyunun artması, atım süresinin de uzaması anlamına gelir ki bu durum gıdada istenmeyen sıcaklık artışlarına sebep olabilir (Anonim, 2000).

PEF proseslerinde hedef, üründe istenmeyen sıcaklık artışlarına sebep olmadan yüksek oranda mikrobiyal inaktivasyonu gerçekleştirebilmektir. Kritik uygulama süresi aynı zamanda uygulanacak elektrik alan yoğunluğuna bağlıdır.

Kritik elektrik alan (E_c) değerinin üstünde elektrik alanının artmasıyla kritik uygulama süresi azalır (Anonim, 2000).

1.5.4.1.3. Dalga modeli

PEF teknolojisinde, kare, logaritmik olarak azalan, titreşimli ve ani geri dönüşümlü dalga modelleri kullanılabilir (Qin ve ark., 1994; Ho ve ark., 1995). Ancak pratikte daha çok logaritmik olarak azalan ve kare dalga modeli kullanılmaktadır. Her iki dalga modelinde de sadece pozitif atımların uygulandığı mono polar (tek kutuplu) ya da arka arkaya pozitif ve negatif atımların uygulandığı bipolar (çift kutuplu) atım biçimine başvurulabilir. Hem dikdörtgen hem de logaritmik azalan dalga modeli uygulamaları için, bipolar atım uygulamaları, monopolar atım uygulamalarına göre daha etkilidir (Qin ve ark., 1994; Ho ve ark., 1995). Bipolar uygulamaların enerji ihtiyacı düşüktür. Elektrot yüzeyinde kalıntı birikimine engel olur. Elektrolitik reaksiyonları sınırlandırır (Qin ve ark., 1994; Barbosa-Canovas ve ark., 1999). Monopolar atımlara göre iki kat daha etkin bir uygulama vaat eder (Qin ve ark., 1994).

Kare dalga modeli ile, logaritmik olarak azalan atım modeline göre daha yüksek oranlarda letal etki sağlanmaktadır (Qin ve ark., 1994; Ho ve ark., 1995). Çünkü dikdörtgen dalga modeli kullanıldığı durumda, uygulama toplam atım süresince sabit yoğunlukta meydana gelmektedir. Oysa, logaritmik azalan dalga modeli formunda uygulama yoğunluğu, taban seviyesine ulaşana kadar, kritik elektrik akımı seviyesinden geçen elektrik akımının pik noktası ile çeşitli subletal elektrik akımı yoğunlukları arasında değişkenlik gösterir (EPRI ve Army, 1997; EPRI,1998). Qin ve ark. (1994) kare dalga modelinde logaritmik olarak azalan dalga

modeline göre inaktivasyon oranının %60 daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Mikrobiyal inaktivasyonun en az gerçekleştiği model ise titreşimli dalga modelidir (Qin ve ark., 1994; Ho ve ark., 1995).

Bipolar atım uygulamalarında oluşan elektrik alan kutuplaşması (polarite) membranın içindeki ve dışındaki yüklerin hareket yönünde değişimlere neden olur. Yüklü guruplar alternatif olarak aynı zamanlarda yön değiştirirler. Membranda oluşan mekanik salınımlar hücrede strese, yapısal bitkinliğe ve elektriksel kırılmalarda artan hassasiyete neden olur (Qin ve ark., 1994; Ho ve ark., 1995; Barbosa-Canovas ve ark., 1999).

Bacillus spp. sporları (Ho ve Mittal, 1997) ve *E. coli* inaktivasyonları arasındaki (Qin ve ark., 1994) farklılıkların rapor edildiği bir çalışmada bipolar atım uygulamada, yüklü molekül hareket değişimlerinin her iki mikroorganizma içinde hücre zarında strese neden olduğu ve bununla membranda elektriksel yıkımlara yol açtığı görülmüştür.

Bipolar atımların pozitif ve negatif grupların bekleme süresi olmaksızın art arda derhal hücreye uygulanması şeklindeki özel durumlarda bu uygulama ani geri dönüşümlü atım modeli uygulamaları olarak tanımlanır. Bu şekilde uygulanan elektrik atımlarının arttırılmış etkinliğe sahip olduğu ve yüksek inaktivasyon derecelerine çok daha kolay ulaşıldığı iddia edilmektedir (Ho ve ark., 1995). Yinede bu konu, bağımsız araştırma grupları tarafından doğrulanmış değildir. Konunun kesinliğe ulaştırılmasında daha pek çok araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (EPRI, 1998).

Ani geri dönüşümlü atım, ilk önce pozitif yönde hemen arkasından da negatif yönde uygulanır. Bu atım modelinin karakteristiği gıdanın iletkenliğinden etkilenir. Bu göz önüne alındığında gıda iletkenliğindeki artış hem pozitif hem de negatif atım

süresini kısaltır. Bipolar atım ile ani geri dönüşümlü atım arasındaki fark iki atım arasında geçen serbest zamandır. Ani geri dönüşümlü atım uygulamasındaki inaktivasyon etkisinin hücredeki stresten kaynaklandığı ve bunun da hücrede yapısal bozulmalara yol açtığı düşünülmektedir. Ho ve Mittal (1997) tarafından geri dönüşümlü atım modelinin hücrenin elektroporasyonu için gerekli olan kritik elektrik alan yoğunluğunu azaltabileceği rapor edilmiştir. Diğer atım modellerindeki uygulamalarla kıyaslandığında bu atım modelindeki inaktivasyon başarısı ile 1/5-1/6 oranında bir enerji tasarrufu sağlandığı ve ekipman maliyetinin de düşük olduğu görülmüştür.

Zhang ve ark. (1997) portakal suyunun raf ömrü üzerine yaptıkları bir araştırmada logaritmik olarak azalan atım modeli (622.5kV/cm elektrik alan şiddeti, 0.57 μ s atım genişliği, 40 μ s uygulama süresi), kare atım modeli (35kV/cm elektrik alan şiddeti, 0.32 μ s etkili atım genişliği, 60 μ s uygulama süresi), ani geri dönüşümlü atım modeli (37kV/cm elektrik alan şiddeti, 0.96 μ s etkili atım genişliği, 400 μ s uygulama süresi) kullanılmıştır. Çalışma sonunda, kare atım modeli ile muamele edilmiş ürünlerin diğer iki atım modeli kullanılarak işlenmiş ürünlere kıyasla daha uzun bir raf ömrüne sahip oldukları gözlenmiştir.

Love (1998) tarafından yapılan başka bir araştırmada ise yine dikdörtgen biçimli atım modelinin çok daha etkin bir inaktivasyon sağladığı görülmüştür. Qin ve ark. (1994)'nın *S. cerevisiae* kültürünün inaktivasyonu üzerinde yaptıkları bir çalışmada ise dikdörtgen biçimli atım modeli ile logaritmik azalan atım modelleri kullanılmış; her iki atım modelinde de mikrobiyal inaktivasyon gerçekleşmiş fakat dikdörtgen atım modeli ile yapılan uygulamada daha etkin bir başarı sağlanmıştır.

1.5.4.1.4. Uygulama sıcaklığı

Deneyisel çalışmalar uygulama sıcaklığının mikrobiyal gelişimi etkilediğini göstermektedir. PEF uygulamalarında, mikroorganizmaların inaktivasyonunda sinerjistik etkinin oluşabilmesi için ortalama sıcaklığın 50-60°C civarında olması gerektiği belirtilmektedir (Dunn ve Pearlman, 1987; Jayaram ve ark., 1992). Sabit bir elektrik akım şiddetinde, sıcaklığın artması ile mikrobiyal inaktivasyon da artmaktadır. PEF teknolojilerinde, gıdanın termal pastörizasyon sıcaklık derecelerinden daha aşağıda tutulması gerekir. Sisteme elektrik akımı verildiğinde ise gıdanın sıcaklığında belli ölçülerde artış meydana gelir. Sistemde bulunan uygun bir soğutma ekipmanı ile istenmeyen bu sıcaklık artışları engellenebilmektedir.

Yapılan bir çalışmada, sistem sıcaklığının 32°C den 55°C ye yükseltilmesiyle *E. coli* inaktivasyonunda 1 log kob/mL'den 6.5 log kob/mL gibi bir artışın olduğu görülmüştür (Vega-Mercado ve ark., 1996a). PEF uygulamalarında, sıcaklığın 5-10°C'den 25°C'ye çıkarılmasıyla daha yüksek derecede bir letal etki sağlamıştır. Bunun sebebinin yüksek sıcaklık değerlerinde sıvıdaki elektrik iletkenlik (kondaktivite) artışından kaynaklandığı düşünülmektedir (Marquez ve ark., 1997). Bazı araştırmacılar, iyonların kinetik enerjisinin artışının sıcaklık artışlarının sebebi olabileceğini, oluşan bu sıcaklık artışı ile de hareketli iyonlarda sızıntı meydana gelebileceğini belirtmiştir. Yüksek sıcaklıklar hem kabuk hem de çekirdek çevresindeki çözgen moleküllerin hareketini arttırır. Bu durum, moleküllerin bir elektrottan diğerine doğru göçüne neden olabilir (Anonim, 2000).

Yüksek sıcaklık uygulamalarının başka bir etkisi de hücre zarının akışkanlığı ve geçirgenliğini değiştirebilmesidir. Sonuç olarak, hücrede mekanik zararlara karşı

hassasiyet oluşur. Bununla beraber, düşük transmembran potansiyeli E_c değerini düşürür ve mikrobiyal inaktivasyonu artırır (Anonim, 2000).

1.5.4.2. Ürün Parametreleri

Bir ürünün elektrik iletkenliği, yoğunluğu, viskozitesi, pH değeri ve su aktivitesi PEF prosesinin başarısını etkileyen faktörlerdir. Bu nedenle, PEF teknolojisinin ticari olarak uygulanabilmesi için gıdaların fiziksel özelliklerinin en iyi şekilde bilinmesine, her ürün için nitelik farklılıkları gözetilerek en uygun PEF ekipmanının tasarlanmasına ve optimum PEF proses parametrelerinin belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Ruhlman ve ark., 2001).

1.5.4.2.1. İletkenlik - İyonik Direnç

Bir ortamın elektrik iletkenliği (σ , Siems/m), elektrik akımını iletme kabiliyeti olarak ifade edilebilir. Kondaktivite (elektrik iletkenliği), öz direncin tersi olup, ohm-metre ile ölçülür (Barbosa-Canovas ve ark., 1999). PEF, düşük elektrik iletkenliğine sahip gıdalardaki mikroorganizma inhibisyonunda etkinliği olan bir uygulamadır (Vega-Mercado, 1996b). Yüksek iletkenliğe sahip gıdalar PEF teknolojisinde başarılı şekilde proses edilemezler (Barbosa-Canovas ve ark., 1999).

Sabit enerji girişi olan bir sistemde ortamın elektriksel iletkenliğinin artışı mikroorganizma inhibisyonunu azaltır (Vega-Mercado, 1996b). Düşük elektrik iletkenliği ortam ve mikroorganizma sitoplazması arasındaki elektriksel iletkenlik farklılığını artırır. Aradaki bu iletkenlik farkı PEF uygulama süresince hücre dışına iyonik madde akışını dolayısıyla da mikroorganizmaların membran yapılarını

zayıflatır (Pothakamury ve ark., 1996). Meyve sularının elektriksel iletkenliği üzerinde elektrik akım şiddetinin etkisi rapor edilmiştir (Raso ve ark., 1998a). Düşük elektrik iletkenliği yüksek elektrik alan (akım) şiddetine sebep olmakta nihayetinde mikrobiyal inaktivasyonda artış sağlanmaktadır (Min ve ark., 2007). PEF ile proses edilen *Lactobacillus brevis*' in inaktivasyon başarısı üzerine yapılan bir çalışmada da, akışkan iletkenliği arttığında uygulama odasının direncinin azaldığı görülmüştür. Akım genişliği azalmış ve inaktivasyon oranı düşmüştür. İletkenlik artarsa sıvıdaki iyonik dirençte artar. Gıdadaki iyonik direnç artışı ise düşük inaktivasyon oranı demektir. Ayrıca, ortam ve mikrobiyal sitoplazma arasındaki iletkenlik farkı membran yapısını zayıflatır. Nitekim, ürünün elektrik iletkenliği ne kadar az olursa mikroorganizmaların inaktivasyon oranı o kadar yüksek olur (Jayaram ve ark., 1992).

Dunne ve ark. (1996) tarafından *E. coli* ve *L. innocua* üzerinde yapılan diğer bir araştırmada öz direncin PEF uygulamasının başarısına bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak tartışılan bu sonucun mikroorganizmalardan ya da ortam koşulundan kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

PEF uygulama odalarındaki sıcaklık PEF uygulaması süresinde artış gösterir. Düşük elektrik iletkenliğine sahip gıdalarda uygulama boyunca minimum sıcaklık değişimi söz konusudur. Yüksek yoğunluğa sahip gıdalar için de aynı durum geçerlidir. PEF uygulaması boyunca artan sıcaklık gıdada mevcut havanın çözünürlüğünü azaltır (Zhang ve ark., 1995b). Sıcaklık artışı ile açığa çıkan hava elektriksel alanda dielektrik kırılmalara neden olur. Bu yüzden etkin bir PEF uygulaması için uygulama sırasında oluşabilecek sıcaklık artışları minimize edilmelidir (Min ve ark., 2007).

1.5.4.2.2. Gıdanın asitliği

Ortamın asit düzeyinin mikrobiyal inaktivasyon başarısı için önemli olduğu rapor edilmiştir. *E. coli*'nin pH 5.7'de pH 6.8'e göre çok daha etkin şekilde inhibe edildiği görülmüştür (Vega-Mercado ve ark., 1996b). Meyve sularındaki küf sporlarının düşük pH ortamında PEF uygulamalarının letal etkisini arttırdığı tespit edilmiştir (Raso ve ark., 1998a).

Ortam pH'sındaki değişimin PEF muamelesi boyunca *E. coli* üzerindeki subletal etkisi araştırılmıştır (Garcia ve ark., 2003). Ortam pH'sı 4 (19kV, 400 µs) iken hücrelerin % 99.95'inin canlılıklarını yitirdikleri gözlenirken, pH 7'de hücrelerde hafif-subletal hasar tespit edilmiştir.

Ortamın düşük pH derecesinin *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7 ve *Yersinia enterocolitica* inhibisyon başarısına etkilerinin boyut ve şekil gibi mikroorganizmaların karakteristik özelliklerine kıyasla PEF uygulamasının başarısında çok daha önemli rol oynadığı rapor edilmiştir (Garcia ve ark., 2005).

1.5.4.2.3. Gıdanın partikül yapısı ve vizkozitesi

Partiküllü sıvı gıdalarda PEF teknolojisi ile mikroorganizma inaktivasyonu Dunn (1996) tarafından çalışılmıştır. *E. coli*, *L. innocua*, *S. aureus* ve *Lactobacillus acidophilus* 2 mm aljinat taneli bir modele inoküle edilmiş ve PEF ile muamele edilen örneklerdeki mikroorganizma inaktivasyonu gözlenmiştir. Partiküllerin içine yerleştirilmiş mikroorganizmaların PEF uygulaması sonrasındaki canlılıklarını koruyamadıkları görülmüştür. Ancak, bu başarı için 5 log kob/mL'lik bir

inaktivasyon derecesinden daha fazlasını elde etmek gereklidir. Bunun için ise yüksek enerji girdisine (bakteri türüne göre 70-100 J/mL) ihtiyaç vardır. Yüksek elektrik akım yoğunluğunda ise elektriksel yıkım söz konusudur. Qin ve ark. (1995c) tarafından, elektriksel yıkımın, sistemde bulunan hava ya da sıvı içindeki gazdan dolayı oluşabileceği rapor edilmiştir. Bunun nedeni ise sıvı ve gaz arasında bulunan dielektrik katsayı farklılığıdır. Aynı şekilde, bu elektriksel yıkımlar, partiküllü sıvı gıdalarda oluşabilmektedir.

Gıdaların viskozitesi PEF sistemindeki akışın karakterini belirlemektedir. PEF uygulama odacıkları boyunca tekdüze bir akış sistemin başarısı için önemlidir (Ruhlman ve ark., 2001).

1.5.4.2.4. Gıdanın su aktivitesi

PEF uygulamalarında düşük su aktivitesi (a_w) olan ortamlarda mikrobiyal direnç yüksektir. Çikolata likörü ya da model bir sistemde su aktivitesi artmasına bağlı olarak *Enterobacter cloacae*'nin inhibisyon derecesinin de arttığı tespit edilmiştir. Düşük su aktivitesinin olduğu ortamlarda hayatta kalabilen *E. cloacae* PEF pastörizasyonuna dirençli bir mikroorganizmadır (Min ve ark., 2002). PEF ile mikroorganizma inhibisyonu amaçlanırken ortamın su aktivitesi ve mikroorganizmaların, su aktivitesi düşük ortamlara karşı dayanıklılıkları gözden geçirilmesi gereken unsurlardır.

1.5.4.2.5. Gıda muhafazasında kombine prosesler kullanılarak PEF'in etkinliğinin arttırılması

Genel olarak, pH, iyonik direnç, gıdaların su aktivitesi ve gıdada mevcut antimikrobiyal bileşenler gibi tüm değişkenlerin birleşimi PEF uygulamaları boyunca mikroorganizma inaktivasyonu açısından etkili rol oynayabilir (Anonim, 2000).

1.5.4.2.5.1. PEF- pH ilişkisi

Düşük pH, kombine prosesler tarafından gıdaların korunmasında en yaygın şekilde kullanılan engellerden biridir. Isısal olmayan teknolojilere karşı mikrobiyal direnç üzerinde pH etkisine dair yapılan çalışmalar farklı sonuçlar ortaya koymuştur. Yapılan bir çalışmada, sitrik, tartarik, laktik, ya da asetik asit ile asit düzeyi 2.5-4.5 aralığında arttırılan satsuma mandarin suyunun içine inoküle edilen farklı mayaların ve küflerin direncinin, pH değişimlerinden ya da eklenen organik asit türlerinden etkilenmediği görülmüştür (Ogawa ve ark., 1990). Bir diğer araştırmada ise pH 3.4'te benzoik ya da sorbik asit (1000 ppm) varlığında *E. coli* O157:H7'ye PEF uygulandığında sinerjistik etki gözlenmiştir (Liu ve ark., 1997).

Kısaca, PEF ile mikrobiyal inaktivasyon üzerinde pH'nın etkileri belirsizliğini korumaktadır. Bazı mikroorganizmalar nötral pH'da PEF'e daha çok dirençliyken, diğerleri asidik pH'da PEF'e daha çok dirençlidir ve de dirençleri uygulama ortamının pH'sından etkilenmez (Alvarez ve ark., 2000; Aronsson ve Ronner, 2001; Wouters ve ark., 2001a).

1.5.4.2.5.2. PEF- a_w ilişkisi

Gıdaların su aktivitesi mikroorganizmaların gelişimlerini etkileyen bir unsurdur. Su aktivitesi azaltılarak gıdaların dayanıklılığı artırılabilir. Buna rağmen, ısısal olan ve olmayan teknolojilere karşı mikrobiyal direncin, su aktivitesi azaltıldığında etkinliği artar. Bu koruma yöntemlerinin birlikte kullanımı ise antagonistik etki yaratır. Su aktivitesindeki azalma, mikroorganizmaları HHP, PEF veya MS uygulamalarının etkilerine karşı korur (Oxen ve Knorr, 1993; Palou ve ark., 1997; Pagan ve ark., 1999; Aronsson ve Ronner, 2001; Wouters ve ark., 2001a). Ancak, uygulama ortamındaki su aktivitesinin azaltılması yoluyla oluşan direnç miktarı farklı inaktivasyon prosesleri içinde farklı olabilir (Pagan ve ark., 1999). Dolayısıyla, düşük su aktiviteli gıdalarda mikroorganizmaları inaktive etmek için şimdiye kadar bahsedilmiş ısısal olmayan teknolojiler daha uygun olabilir. Su aktivitesindeki azalma ısısal olmayan metotlara karşı mikrobiyal direnci artırsa da, farklı tekniklerin kombinasyonu, düşük pH hususunda olduğu gibi, ısısal olmayan proseslerde canlılığını koruyan mikroorganizmaların gelişimi üzerinde azaltılmış su aktivitesinin inhibitör etkisi olduğunu göstermiştir (Raso ve ark., 2005)

1.5.4.2.5.3. PEF-antimikrobiyal madde ilişkisi

Antimikrobiyal maddeleri ısısal olmayan teknolojilerle birlikte kullanma, bu teknolojilerin inaktivasyon etkisini artırır. Bu uygulama ile ürün stabilitesi ve güvenliği bakımından sağlanan avantajların yanı sıra bazı antimikrobiyal maddelerin faaliyet alanı da genişletilmiş olur.

Gıda endüstrisinde gıdanın güvenliğini geliştirmek ve raf ömrünü uzatmak için antimikrobiyal etkisi olan birçok ajan kullanılmaktadır. Yakın zamanda, doğal antimikrobiyallere olan ilgi artarken yapay katkılardan uzaklaşmaktadır. Bu muhtemel doğal antimikrobiyal maddeler, özellikle diğer gıda koruma teknikleriyle birlikte kullanıldığında dayanıklılık arz eder (Gould, 1996). Doğal olarak var olan antimikrobiyal maddelerin ısısal olmayan proses teknolojileri ile birlikte kullanımı bu maddelerin etkinliğini kanıtlamıştır (Cleveland ve ark., 2001).

Isısal olmayan tekniklerle kombine şekilde kullanıldığında yararlı olmalarıyla dikkat çeken doğal antimikrobiyal maddeler, nisin, lizozim, pediosin AcH, laktoferrin, laktoferrisin ya da laktoperoksidaz sistem içerir. Nisin, lizozim ve pediosin AcH gibi doğal antimikrobiyal peptitlerin varlığında vejetatif bakteriler baskılandığında, inaktivasyon oranının arttığı görülmüştür (Kalchayanand ve ark., 1994, 1998; Hauben ve ark., 1996; Masschalck ve ark., 2000, 2001a,b). Gram negatif bakteriler bu antimikrobiyallere karşı çok daha hassastır. Çünkü membranlarının dış yüzeyi, bu maddelerin hücre içine girişlerine engel değildir. Buna rağmen, hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerde büyük ölçüde inaktivasyon gözlenmiştir (Raso ve ark., 1998b).

Nisin, PEF ile kombine şekilde en çok çalışma yapılan antimikrobiyal maddedir. Uygulama ortamında nisinin varlığının, hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler için PEF'in inaktivasyon etkisini arttırdığı saptanmıştır. PEF uygulamasından sonra nisin ile bakteri inkübe edildiğinde, PEF uygulaması süresince nisin mevcut olduğunda veya uygulamadan sonra bakteriyel süspansüyona nisin eklendiğinde, sinerjistik bir etki gözlenmiştir (Kalchayanand ve ark., 1994; Calderon-Miranda ve ark., 1999a,b; Dutreux ve ark., 2000a; Pol ve ark., 2000).

Sinerjinin mekanizması henüz tam anlamıyla anlaşılamamışken, PEF uygulamasının yarattığı stresin muhtemelen antimikrobiyal ajanların sitoplazmik membrana girişini kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Her iki uygulama ile de fazla miktarda büyük ve stabil porların oluştuğu belirlenmiştir (Pol ve ark., 2000; Smith ve ark., 2002).

1.5.4.3. Mikrobiyal Parametreler

1.5.4.3.1. Mikroorganizma türü

Genel olarak, mayalar, boyutları itibariyle elektrik akımından bakterilere kıyasla daha çabuk etkilenir. Bununla birlikte, düşük elektrik akımında gram (-) hücrelere göre çok daha dayanıklı oldukları bilinmektedir (Sale ve Hamilton, 1967a; Qin ve ark., 1995a).

PEF prosesine Gram (+) bakteriler Gram (-) olanlardan çok daha dirençlidir (Hülshager ve ark., 1983). Gram pozitif bakterilerin gösterdikleri bu yüksek direncin hücre duvarlarındaki peptidoglikan tabakasında bulunan teikoik asitle bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (Lado ve Yousef, 2002). Bakteri sporları ve küf askosporları PEF uygulamalarına vejetatif hücrelerden çok daha dirençlidir (Min ve ark., 2007).

Mikroorganizmaların boyutu ya da şekli de PEF uygulamalarının inhibisyon başarısını etkileyebilir. PEF ile muamele gören farklı boyut ve şekillerdeki *Lactobacillus* suşları farklı membran geçirgenliğine sahiptir. Yapılan araştırmalarda hücrelerin boyutları büyüdükçe geçirgenliklerinin arttığı belirlenmiştir (Wouters ve ark., 2001b).

Mikroorganizmaların mikrobiyal inaktivasyon üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Anonim, 2000).

1.5.4.3.2. Mikroorganizma yoğunluğu

Gıdada bulunan mikroorganizmaların konsantrasyonu elektrik akımı ile yapılan inaktivasyonu etkileyebilir. Barbosa-Canovas ve ark. (1999)'da yaptığı bir araştırmada, 70 kV elektrik akım şiddeti, 16 atım ve 2 μ s atım genişliğinde süt örnekleri içine aşıl原因 *E. coli*' nin yoğunluğunun 10^3 ten 10^8 'e çıkartılmasının inaktivasyon oranını etkilemediği rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada, elma suyunda *S. cerevisiae*'nin yoğunluğu artırılmış ve maya konsantrasyonundaki bu artışın inaktivasyon oranını çok az etkilediği sonucuna varılmıştır (25 kV/cm, 1 atım, 25 μ s atım genişliği).

1.5.4.3.3. Mikroorganizmaların gelişme evresi

Mikroorganizmaların gelişme safhaları PEF uygulamalarındaki mikrobiyal inhibisyon başarısını etkilemektedir. Bakteri ve mayaların atımlı elektrik akımına karşı logaritmik faz da durağan faz ve lag fazdan daha duyarlı oldukları bilinmektedir (Pothakamury ve ark., 1996).

S. cerevisiae ile yapılan çalışmalarda elektrik akımından etkilendikleri en hassas dönemin yine gelişme evresi olduğu görülmüştür (Jacob ve ark., 1981; Gaskova ve ark., 1996). Gaskova ve ark. (1996) tarafından PEF'in letal etkisinin

logaritmik faz evresinde durağan faz evresine göre %30 daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Anonim, 2000).

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Charles-Rodriguez ve ark. (2007) tarafından, HTST (yüksek sıcaklık, kısa süre) ve PEF yöntemiyle proses edilen elma suyunun nitelikleri ve mikrobiyal güvenliği ile ilgili karşılaştırmalı araştırmalar yapılmıştır. PEF için elektrik akım yoğunluğu ve frekansı HTST için ise sıcaklık ve süre gibi proses değişkenlerinin ürüne olan etkileri, *E. coli* inaktivasyonu ve ürünün pH ve renk değişimleri karşılaştırılmıştır. Her iki teknik ile de (pastörizasyon için kabul edilmiş standart inaktivasyon derecesi kadar) 5 log kob/mL üzerinde bir mikrobiyal azalma tespit edilmiştir. PEF ile yapılan pastörizasyonda elma suyu kalitesinin korunmasının yanı sıra ürünlerdeki mikrobiyal inaktivasyon başarısı da kanıtlanmıştır. Konvensiyonel HTST pastörizasyonda ürünün pH derecesi üzerinde açık bir etki ve esmerleşmede artış görülmüştür. Her iki pastörizasyon sonrası da renkte değişim gözlenmiştir. PEF uygulamasının elma suyu rengini HTST yöntemine göre daha iyi koruduğu görülmüştür.

Literatürde elma suyunun PEF ile muamelesi ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (Qin ve ark., 1994; Mittal, 1998; Ortega-Rivas ve ark., 1998; Evrendilek ve ark., 2000; Zarate-Rodriguez ve ark., 2000). Ancak, aynı şartlarda geleneksel pastörizasyon yöntemleri ve PEF ile muamele edilen elma suyunun aynı doğrulukta ve güvenilirlikte olup olmadığının tam olarak anlaşılabilmesi için daha pek çok karşılaştırmalı çalışmaya ihtiyaç vardır (Aguilar-Rosas ve ark., 2007).

Mikrobiyal güvenlik ve enerji verimliliğinin anlaşılabilmesi açısından yapılan bir başka çalışmada, elma suyunun PEF ile pastörizasyonunda *Saccharomyces cerevisiae*'nin canlılığında 7 log kob/mL'lik bir azalma rapor edilmiştir. Bu uygulama esnasında ısısal uygulamalar da harcanan elektrik enerjisinin %10 undan daha az bir elektrik enerjisinden yararlanılmıştır (Qin ve ark., 1994). Termal uygulamalarda harcanan 50 kJ/kg enerjiyle karşılaştırıldığında tüketilen enerjinin 20°C'de 5.76 J/mL'den bile daha düşük olduğu rapor edilmiştir (Ortega-Rivas ve ark., 1998). Araştırma sonucunda ani geri dönüşümlü dalga modelinin elma şirasının PEF proseslerinde en başarılı şekilde kullanılan şekli olduğu rapor edilmiştir (Mittal, 1998)

Elma suyuna uygulanan ultrafiltrasyon (UF) ile PEF teknikleri karşılaştırıldığında toplam aerobik mikroorganizmaların canlılıklarında 6 log kob/mL azalma tespit edilmiştir (Ortega-Rivas ve ark., 1998). Ürünün pH ve asitliğinin her iki teknikle de zarar gördüğü tespit edilmiştir. Renk açısından UF'da esmerleşme PEF'de ise solukluk (parlaklığını yitirme) gözlenmiştir (Ortega-Rivas ve ark., 1998; Zarate- Rodriguez ve ark., 2000).

Elma suyundaki lezzet bileşenleri sayıca fazladır. Elmadaki aromatik yapı nedeniyle de bu bileşenleri belirlemek oldukça kompleks bir iştir. Birçok araştırmada sadece 8 aroma uçucu bileşeni tanımlanabilmiştir (Cunningham ve ark.,1986). Elma suyundaki uçucu bileşenlere PEF in etkileri hakkında bir çalışma bulunmamaktadır (Aguilar-Rosas ve ark., 2007).

PEF'in ürünün kalitesi üzerindeki etkisinin anlaşılabilmesi için portakal suyunda yapılmış olan bir takım çalışmalar mevcuttur (Jia ve ark., 1999; Yeom ve ark., 2000). PEF ile muamele görmüş portakal suları ile ısıl işlemle (94.6°C'de 30 s) pastörize edilen portakal suları karşılaştırılmıştır. PEF ile muamele edilmiş olanlarda

termal yolla pastörize edildikten sonra 4°C’de depolanan ürünlere göre vitamin C’ nin ve bazı karakteristik lezzet bileşenlerinin büyük miktarının korunduğu görülmüştür. 90°C’de 3 dakika muamelesi sonrası lezzet bileşenlerinde ise % 40’lık bir kayıp söz konusudur. 240-480 µs’lik atım süresinde 30kV/cm’lik elektrik akımı uygulanan meyve suyu örneklerinde ise bir değişime rastlanmamıştır. PEF prosesi sonrası bazı ürün bileşenlerinin yıkımı elbette söz konusudur, ancak her zaman için bu yıkımlar ısısal uygulamalara göre çok düşük miktarlardadır. Örneğin, 240 ve 480 µs atım sürelerinde proses edilen örneklerde etil bütirat kaybı sırasıyla % 5.1 ve %9.7 iken ısısal uygulamada bu oran % 22.4’lere çıkmaktadır (Jia ve ark., 1999).

PEF elma suyundaki çoğu bozulma etmeni mikroorganizma üzerinde etkisi olan bir uygulamadır. Kalite özellikleri göz önünde bulundurulduğunda, PEF’in elma suyunda bazı duyu nitelikler ve fizikokimyasal özelliklere etkilerini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır (Aguilar-Rosas ve ark., 2007). Evrendilek ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada, elma suyu ve elma şirasının fiziksel ve kimyasal özelliklerinde direkt olarak PEF uygulamalarından kaynaklanan bir değişime rastlanmamıştır.

Barbosa-Canovas ve ark. (1998) ise yaptıkları çalışmada taze elma suyu ve konsantreden yapılmış elma suyu örneklerinin pH ve vitamin C değerlerinde PEF’in önemli bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte elma suyunda lezzet ve aromadan sorumlu olan uçucu bileşen kompozisyonu üzerinde PEF’in etkileri konusunda literatürde açıklayıcı net bilgiler söz konusu değildir (Aguilar-Rosas ve ark., 2007).

Aguilar-Rosas ve ark. (2007) tarafından Golden Delicious türü elmalardan ekstrakte edilen elma suyu PEF ve HTST metotlarıyla pastörize edilmiş ve PEF prosesi laboratuvar ölçekli ünitelerde gerçekleştirilmiştir. Uygulamada 4 µs atım

genişliğine sahip bipolar atım modeli kullanılmıştır. Elma suyu 35 kV/cm elektrik akımında 1200 pps frekansta proses edilmiştir. Termal pastörizasyon ise laboratuvar koşullarında 90°C de 30 sn'de uygulanmıştır. Her iki yöntemin de elma suyundaki pH, toplam asitlik, fenolik madde, uçucu bileşenlerine etkisi araştırılmıştır. pH'da minimal değişiklikler saptanırken, asitlikte önemli bir değişim gözlenmemiştir. İki uygulama karşılaştırıldığında fenolik içerik ve uçucu bileşen bakımından önemli istatistiksel farklılıklar görülmüştür. Yapılan araştırma sonucunda, PEF'in elma suyu üzerindeki bazı kalite özelliklerini korumasının yanı sıra mikrobiyal inaktivasyon başarısı da kanıtlanmıştır. Diğer yandan, konvansiyonel HTST pastörizasyon, elma suyundaki fenolik bileşenler ve aromadan sorumlu uçucu bileşenlerde önemli derecede kayba sebep olmuştur. PEF ile muamele görmüş elma suyunda renk ve aromadan sorumlu uçucu bileşenlerin çoğu korunabilmiştir. Konvansiyonel olmayan metotlarla işlenen elma sularında kalite farklılıklarını tanımlamak için daha pek çok duyuşal değerlendirme önerilmektedir. Genel olarak, ölçülen değişkenler PEF uygulamalarından termal pastörizasyona göre çok daha az miktarda etkilenmiştir.

Isısal olan pastörizasyonlara alternatif olarak elma suyunda rekabetin fazlaca olduğu global pazarlarda PEF'in kullanımı belki de duyuşal özelliklerini kaybetmemiş ürün eldesine imkan sağladığından stratejik olarak önemi olan bir eylem olarak düşünölmektedir (Aguilar-Rosas ve ark., 2007).

S. cerevisiae inoköle edilmiş elma suyu örneklerine 40 kV/cm atımlı elektrik akımı uygulandığında mikroorganizma yükünün 8×10^7 'den 4×10^4 kob/mL'ye kadar azaldığı görölmüştür. Transmisyon elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde PEF uygulamasının *S. cerevisiae* hücrelerinin ve ribosomların neredeyse tümünü yıkıma uğrattığı görölmüştür (Harrison ve ark., 1997)

Laboratuvar ölçekli PEF ile 34kV/cm elektrik akım şiddetinde 166 μ s (toplam uygulama süresi) elma suyundaki *E. coli* O157:H7 sayısında 4.5 log kob/mL azalma tespit edilmiştir (Evrendilek ve ark., 2000). 35 kV/cm elektrik akım şiddeti ve 94 μ s süre ile uygulanan PEF uygulamasının elma suyu ve elma şirasının raf ömrü süresini önemli derecede arttırdığı tespit edilmiştir. PEF (35 kV/cm, 94 μ s) ve termal pastörizasyonun (60°C, 30s) kombine şekilde kullanıldığı elma şirası örneklerinde 4 ve 22°C'lik depolama sıcaklığının her ikisinde de 67 günden daha uzun bir süre depolanabildiği görülmüştür. 35 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 94 μ s uygulama süresinin yer aldığı PEF prosesinde elma suyundaki vitamin C'nin konsantrasyonu değişmemiştir. Duyusal analiz sonuçları taze elma suyunun PEF uygulamasından etkilenmediğini göstermiştir (Evrendilek ve ark., 2000).

Yapılan araştırmalarda, PEF teknolojisi ile pastörize edilmiş elma suyunun duyusal nitelikleri taze sıkılmış elma suyu ile benzer özellikler taşıdığı görülmüştür. Panelistler bu iki örnek elma suyu arasında duyusal niteliklerinde önemli bir farklılık bulamamışlardır. Konsantreden elde edilen elma suyunda (50 kV/cm, 10 atım, 2 μ s atım genişliği ve 45°C maksimum proses sıcaklığı) PEF muamelesi sonrası depolama süresi 28 gün iken taze sıkılmış elma suyunda bu sürenin 21 gün olduğu belirlenmiştir (Simpson ve ark., 1995).

Başka bir çalışma da, elma, armut, portakal ve çilek sularına inoküle edilen *Salmonella* Enteritidis ve *E. coli* O157:H7 popülasyonunun HIPEF prosesin tarçın kabuğu yağı ve sitrik asit ile birlikte kullanımından etkilenip etkilenmediği araştırılmıştır. HIPEF (35 kV/cm, 4 μ s atım genişliği, bipolar atım şekli 40°C'yi aşmayan sıcaklık)'in tarçın yağı ve sitrik asit ile kombine şekilde kullanımının meyve sularındaki patojenler üzerinde inaktivasyonu artırıcı etkileri görülmüştür. Tüm meyve suyu analizlerinde uygulama süresinin mikrobiyal azalmada etkin bir

parametre olduğu görülmüştür. Portakal suyuna HIPEF uygulanması ile *S. Enteritidis* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonunda USFDA'nın belirlediği minimum inhibisyon limiti olan 5 log kob/mL'dan daha fazla bir azalma tespit edilmiştir (Mosqueda-Melger ve ark., 2008).

Helander ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada *Salmonella* Typhimurium'un thymol ve carvacrola (esansiyel yağ bileşenleri) karşı *E. coli* O157:H7'ye kıyasla daha hassas olduğu şeklinde benzer sonuçlar bulmuşlardır. Diğer yandan, HIPEF in uygulandığı meyve sularına tarçın yağı eklendiğinde *S. Enteritidis* ve *E. coli* O157:H7'ye karşı daha büyük bir antimikrobiyal etki ile karşılaşılmıştır. HIPEF ve tarçın kabuğu yağı arasındaki additif etki *S. Enteritidis* için elma armut ve portakal suyuna % 0.1 oranında ve çilek suyu için % 0.05 yağ ilavesi ile tespit edilmiştir. *E. coli* O157:H7 için bütün meyve sularına % 0.05' lik bir yağ ilavesi yapılmıştır.

Simpson ve ark. (1995), maksimum 45°C'lik bir sıcaklıkta da 2 µs'lik zaman aralıklarında 10 atım ve 50kV'lık bir elektrik akım şiddeti uyguladıkları elma suyu örneklerinin raf ömrünü araştırmışlardır. Taze sıkılmış elma suyunda 21 gün olarak tespit edilen raf ömrünün PEF muamelesinden sonra 28 gün olduğu görülmüştür. Proses sonrası örneklerde askorbik asit ve şeker oranlarında hiçbir farklılık görülmemiştir.

Vega-Mercado ve ark. (1996a) bezelye çorbasına 16 atım ve 35 kV/cm elektrik akımına maruz kalacak şekilde 2 basamaklı bir PEF işlemi uygulamışlardır. Uygulamanın iki basamaklı gerçekleşmesinde amaç proses esnasında sıcaklığın 55°C'nin üzerine çıkmasını önlemektir. PEF işlemi sonrası bezelye çorbası 4 haftayı aşkın bir süre buzdolabı sıcaklıklarında depolanmıştır. Hem PEF prosesi sonrası hem de 4 haftalık depolama sonrası ürünün duyuşal, fiziksel ve kimyasal özelliklerinde herhangi bir farklılık görülmemiştir.

Zhang ve ark. (1997) tarafından, portakal suyu örneklerinin entegre bir PEF pilot sistemi ile muamelesinden sonrasında raf ömrünün tespiti ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmada bir dizi seri odacıktan oluşan bir sistem kullanılmıştır. Ortamın sıcaklığı odacıklar arasına yerleştirilen soğutma ekipmanları ile oda sıcaklığına yakın tutulmuştur. Prosesin etkinliğini kıyaslamak açısından 3 farklı atım modeli kullanılmıştır. Atım modelleri içinde dikdörtgen biçimli atım modeli ile en etkin sonuca ulaşılmıştır. Toplam aerobik sayısında 32 kV/cm elektrik akım şiddetinde 3-4 log kob/mL azalma tespit edilmiştir. C vitamini kayıpları oldukça düşük ve renk 90 günün sonunda (saklama sıcaklığı 4°C ya da 22°C) ve 15. günün sonunda (saklama sıcaklığı 37°C) ısısal pastörizasyon işlemine kıyasla oldukça iyi durumdadır.

Qin ve ark. (1995a) ve Ma ve ark. (1997) tarafından, sıvı yumurta üzerine yaptıkları başka bir araştırmada PEF ile muameleden sonra viskozitenin azaldığı fakat taze yumurtaya kıyasla rengin arttığı (beta karoten konsantrasyonunun arttığı) tespit edilmiştir. Qin ve ark. (1995a) tarafından triangle (üçgen) test ile yapılan duyusal panel değerlendirmesi sonrası taze yumurtadan hazırlanmış çırpılmış yumurta ile elektrik akım uygulanmış yumurtalar arasında bir fark gözlenmemiştir. Hatta ikinci seçenek ticari markalar tarafından tercih edilmiştir.

Dunn ve Pearlman (1987) tarafından *Salmonella* Dublin inoküle edilen homojenize süt örneğinde raf ömrüyle ilgili çalışmalar yapılmış ve örnek dayanıklılık testlerinden geçirilmiştir. Süt numuneleri, 25 dak süresince 40 atım/s ve 36.7 kV/cm elektrik akım şiddetine maruz bırakılmıştır. Gerek PEF uygulaması sonrasında gerekse 8 gün boyunca 7-9°C de depolama sonrasında örneklerde *Salmonella* Dublin'e rastlanmamıştır. Uygulama sonrası sütteki doğal bakteri popülasyonu yaklaşık 4×10^2 kob/mL iken uygulamaya tabi tutulmayan süt örneklerinde bu

miktarın 10^7 kob/mL olduğu görülmüştür. Dunn (1996) tarafından yapılan daha sonraki çalışmalar, sütteki aroma degradasyonunun daha az olduğunu ve sütte herhangi bir kimyasal ya da fiziksel değişikliğe rastlanmadığını göstermiştir. Yapılan benzer çalışmalarda, PEF muamelesi sonrasında örneklerle inoküle edilmiş *E. coli* popülasyonunun 3 log kob/mL kadar azaldığı tespit edilmiştir.

Fernandez-Molina ve ark. (2005) tarafından, logaritmik azalan atım modeli kullanılarak 2µs'lık zaman aralıklarında 30 atım ve 40kV/cm elektrik akım şiddeti uygulanan yağsız çiğ sütte (% 0.2 yağ içeren) raf ömrü araştırılmıştır. Artı dört derecede iki hafta depolama sonrasında PEF ve ısıl işleme (80°C'de 6 s) proses edilen sütlerin raf ömürleri karşılaştırılmış ve ikinci uygulamadaki örneklerin bozulmadan kalma süresinin 22 gün kadar fazla olduğu gözlenmiştir. PEF uygulaması boyunca yağsız çiğ sütün sıcaklığı 28°C'nin üzerine çıkmamıştır.

Calderon-Miranda ve ark. (1999a) yağsız çiğ sütte *Listeria innocua* inaktivasyonu üzerine sadece PEF muamelesi ile ya da PEF+10-100 IU nisin/mL kombinasyonu ile süt örneklerinde deneysel çalışmalar yapmışlardır. İlk araştırmada, 32 atım, E=50 kV/cm ve 2 µs atım genişliğinde 2.5 log kob/mL bir azalma tespit edilmiştir. Aynı sayısal değerler kullanılarak yapılan ikinci çalışmada süt örneğine 10 IU/mL nisin ilave edilmiştir. Nisin ile kombine edilen PEF uygulamasında, 30-40 ve 50 kV/cm'lik elektrik alan şiddetlerinde sırasıyla 2, 2.7 ve 3.4 log kob/mL değerlerinde azalmalar saptanmıştır. Üçüncü çalışmada, süte ilave edilen nisin değeri 100 IU/mL ye çıkarılmış ve PEF uygulaması için 32 atım ve E=30, 40, 50 kV/cm elektrik alan şiddeti kullanılmıştır. Tüm bu çalışmalar göstermiştir ki, PEF uygulamasından sonra ilave edilen nisin ile *Listeria innocua* inaktivasyon oranlarında çok daha büyük artışlar gözlenmiştir.

Dutreux ve ark. (2000b) pastörize yağsız süt ve benzer pH ve iletkenlikteki (pH= 6.8, 44.8 mS/cm) bir fosfat tampon çözeltisi içerisindeki *E. coli* ATCC 11775 suşunun PEF muamelesi ile inaktivasyonu üzerine çalışmışlardır. Atım sayısı arttıkça, başlangıç konsantrasyonu 6-7 log kob/mL olan *E. coli*' nin inaktivasyon oranında artış gözlenmiştir. 41 kV/cm (E) lik bir elektrik alan şiddetinde ve 37 °C sıcaklık değerinde her iki örnekte de 10 atımda 2 log kob/mL, 63 atımda ise 4.5 log kob/mL'lik bir azalma meydana gelmiştir

Picart ve ark. (2001), tarafından PEF uygulaması (statik odalarda, logaritmik olarak azalan atım modeli ile, paralel elektrot kullanılarak) ile Na fosfat tampon çözeltisindeki (pH= 7.480 Ohm/cm, 25°C) *Escherichia coli* NTCC 9001 inaktivasyon başarısı araştırılmış ve 45 kV/cm elektrik alan şiddetinde ve 170 µs' lik bir atım genişliğinde 4.7 log kob/mL azalma tespit edilmiştir.

Michalac ve ark. (1999) tarafından, PEF ile muamele görmüş (E=35kV/cm; W=3 µs ve süre= 90 µs) yağsız UHT sütte renk, pH, protein, nem ve partikül boyutu değişiklikleri araştırılmıştır. Sonuç olarak, uygulama öncesi ve sonrasında tüm bu parametrelerde herhangi bir fark gözlenmemiştir. Bendicho ve ark. (2002) süt içindeki riboflavin, tiamin (suda çözünür), kolekalsiferol ve tokoferol (yağda çözünür) vitaminlerinde PEF (E=16-33 kV/cm; N=100 atım)'in etkilerini araştırmışlardır. Uygulama sonrası ve öncesi vitamin konsantrasyonu HPLC de ölçülmüştür. Yapılan araştırmadan elde edilen sonuç, vitaminlerin uygulama sonrası zarar görmediğidir. Ancak çok büyük sayıda atım uygulamalarında azda olsa vitamin kaybı söz konusudur.

Qin ve ark. (1995a), süt numunelerine her biri 7 atım olan iki basamaklı ve 6 atım olan bir basamaklı, 40 kV/cm elektrik akım şiddeti uygulamıştır. Süt örneklerinin buzdolabı sıcaklığında 2 haftalık bir depolama süresi sonrasında fiziksel

ve kimyasal özelliklerinde net bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca ısısal pastörizasyonla karşılaştırıldığında duyuşal olarak örneklerde önemli bir farklılık olmamıştır.

Reina ve ark. (1998) *Listeria monocytogenes* Scott A suşunun inaktivasyonu üzerine bir çalışma yapmış ve pastörize süt, %2 yağlı ve yağsız süt örneklerinde *L. monocytogenes*'de 25°C'de 1-3 log kob/mL kadar azalma görölmüş, 50°C de ise 4 log kob/mL azalma tespit edilmiştir. Her üç süt örneğinde de önemli bir farklılık gözlenmemiştir. PEF uygulamalarının öldürücü etkisi uygulanan elektrik alan yoğunluğu ve uygulama süresiyle alakalı olduğu sonucuna varılmıştır.

Portakal, elma, havuç, kavun,karpuz sularındaki *E. coli* ve *Salmonella* spp.'nin serotipleri ve bazı suşların azaltılması veya inaktive edilebilmesi ile ilgili PEF uygulamalarının verimliliği rapor edilmiştir (Evrendilek ve ark., 1999; McDonald ve ark., 2000; Iu ve ark., 2001; Liang ve ark., 2002; Gupta ve ark., 2003; Zhong ve ark., 2005; Mosqueda-Melgar ve ark., 2007). Ancak, armut ve çilek sularında (strawberry) *Salmonella* spp. ve *E. coli* O157:H7 inaktivasyonu ile ilgili yapılan herhangi bir çalışma literatürde bulunamamıştır.

Yukarıda açıklanan bilgiler ışığında bu çalışma kapsamında PEF prosesinin tarçın uçucu yağı ile kombine şekilde kullanıldığında elma suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkileri incelenecek olup, elma suyu öneklerine inoküle edilen *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* üzerine olan inhibitif etkileri araştırılacaktır. Elde edilen sonuçlara göre, tarçın uçucu yağının PEF ile kombine şekilde kullanılabilirliği konusunda tavsiyelerde bulunulması hedeflenmektedir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Elma Suyu

Araştırmada kullanılan elma suları konsante halde elde (Dimes Gıda San. ve Tic. A. Ş.'den (Tokat) temin edilmiş olup 13°Briks derecesine kadar su ile karıştırılıp hazırlanmıştır.

3.1.2. Tarçın Kabuğu

Bu çalışmada uçucu yağların elde edildiği bitki materyali olarak kabuk tarçın (*Cinnomomum verum*) Bolu ili aktarlarından kurutulmuş olarak temin edilmiştir.

3.1.3. Bakteri Kültürleri

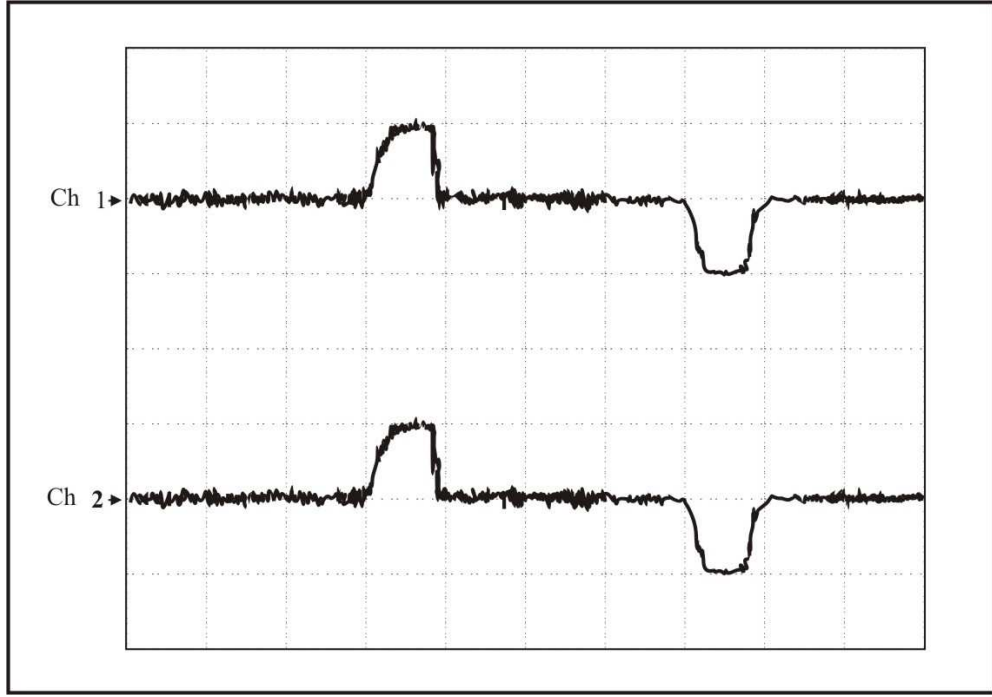
Araştırmada kullanılan mikroorganizmalardan *Listeria monocytogenes* (Tip I 04077 ve *Escherichia coli* O157:H7 (EDL 931 04054), kültürü Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Tip Refik Saydam Kültür Koleksiyonu (RSKK) Laboratuvarı'ndan (Ankara, Türkiye) liyofilize formda satın alınmıştır.

3.1.4. Atımlı Elektrik Akım (PEF) Jeneratörü

Deneylerde laboratuvar ölçekli sürekli OSU-4A (Şekil 3.1) atımlı elektrik akımı jeneratörü kullanılmıştır. PEF atım jeneratörüne monte edilmiş ve birbirine paralel olarak bağlanmış 0.23 cm çap ve birbirlerinden 0.292 cm uzaklığa sahip elektrotları içeren; elektrik akımı ve gıdanın birbirine paralel olarak akışını sağlayan 6 adet uygulama odacığı ürünün prosesinde yer almıştır. Her bir uygulama odacığından önce ve sonra sıvı örneğin uygulama odacıklarına taşınımını sağlayan ince paslanmaz çelik boruların dış kısmına yerleştirilmiş olan K-tipi sıcaklık ölçüm cihazları ile giriş ve çıkış sıcaklıkları (T2-T1, T4-T3 ve T6-T5) ölçülmüştür (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, ABD). Uygulanan elektrik akımının frekansı, her bir atımın dalga genişliği ve ard arda gelen iki dalga arasındaki genişlik atım jeneratörü (Model 9310 Pulse Generator, Quantum Composer Inc., Bozeman, MT, ABD) vasıtasıyla ayarlanmıştır.



Şekil 3.1. Deneylerde kullanılan laboratuvar ölçekli PEF sistemi.



Şekil 3.2. İki kutuplu kare şeklinde uygulanan elektrik akım dalgası (*Ch1 uygulanan elektrik akım şiddetini (voltaj), Ch2 ise direnci göstermektedir).

İki kutuplu kare dalga boyu uygulanmış olup; uygulanan dalga boyunun elektrik akım şiddeti ve akıma karşı oluşturulan direnci osiloskop vasıtasıyla ölçülmüştür (Model TDS 210 Two Channel Digital Real Time Oscilloscope, Teknotronix Inc., Beaverton, OR, ABD) (Şekil 3.2). Gıdanın sabit akış hızında uygulama odacıklarına taşınımı için dişli pompa (EW-07002-23 model, Cole Palmer, Inst., Company, Vernon Hills, IL ABD) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Tarçın Kabuğu Esansiyel (Uçucu) Yağının Elde Edilmesi

Elde edilen kabuk tarçınlar ilk önce ufalanıp kırılmıştır. Ufalanmış kabuklar Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde bulunan Clevenger Type Apparatus (İldam, Ankara, Türkiye) cihazının balon kısmına yerleştirildikten sonra, cihazın balon kısmına 200 mL su eklenmiştir. Daha sonra cihazın sıcaklığı 350°C'ye ayarlanmış ve yaklaşık olarak üç saat süre ile cihaz bu sıcaklıkta çalıştırılıp uçucu yağların toplanılması sağlanmıştır (European Pharmacopoeia, 1975; Karaman ve ark., 2001). Elde edilen uçucu yağlar deneylerde kullanılana kadar hava geçirgenliği olmayan koyu renkli şişelere aktarılıp 4°C'de muhafaza edilmiştir (Dadalıoğlu ve Evrendilek, 2004).



Şekil 3.3. Clevenger tipi buhar distilasyon ünitesi

3.2.2. Tarçın Uçucu Yağında Bulunan Bileşenlerin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrofotometresi (GC-MS) ile Tayini

Elde edilen tarçın uçucu yağının bileşimlerinde bulunan maddelerin tespiti için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Yenilikçi Gıda Teknolojileri Geliştirme Merkezi (YENİGIDAM)'da bulunan gaz kromatografisi -kütle spektrofotometresi (GC-MS, Shimadzu, model QP2010) kullanılmıştır. Deneyde kullanılan GC (5%-fenil)-metilpolisilokzan GC-5MS kolonu (30 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı) ve otomatik enjeksiyon sistemi ile donanımlıdır (Shimadzu, Japonya). Bu amaçla 30 µL tarçın uçucu yağı 1.5 mL dietil eterde (Sigma) çözündürülmüş ve MS kolonunda 250 °C enjeksiyon blok sıcaklığında analize tabii tutulmuştur. Maksimum analiz sıcaklığı 325°C'ye ayarlanmıştır. Bu amaçla hazırlanan örnekler GC-MS'e enjeksiyondan sonra 50°C'de 5 dak tutulmuş ve daha sonra dakikada 2°C'lik sıcaklık artışı ile 90°C'ye ulaştıktan sonra dakikada 5°C'lik sıcaklık artışı ile 210°C'ye ulaşılmıştır. Deneylerde 1.5 mL/min akış hızına sahip helyum gazı taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Yağların bileşiminde bulunan maddeler yüzde olarak ve kolondan çıkış zamanları (dak) Willey 275 MS veri kütüphanesinde belirlenip hesaplanmıştır.

3.2.3. Tarçın Uçucu Yağının Elma Suyuna İlavesi

Elde edilen tarçın uçucu yağı 500 mL elma sularına 3 mL (0.06 µL/mL), 1.5 mL (0.003 µL/mL), 250 µL (0.0005 µL/mL) ve 0 mL (kontrol) konsantrasyonlarında ayrı ayrı eklenmiştir. Tarçın yağı eklendikten sonra yağın homojen bir şekilde elma suyunda karışmasını sağlamak için bu karışıma % 0.2 oranında Tween 20 (Sigma,

Almanya) ilave edilmiştir. Tarçın yağı eklenen elma suları homojen bir şekilde karıştırılarak PEF prosesine tabii tutulmuştur.

3.2.4. Mikroorganizmaların Hazırlanması

Çalışmada kullanılan *E. coli* O157:H7 (EDL 931 04054) ve *L.monocytogenes* (Tip I 04077) kültürleri sıvı triptik soy broth (TSB) (Fluka, Almanya) besiyerine aktarılıp 3 pasaj yapılarak aktiveleştirilmiştir. *E. coli* O157:H7 kültürü 12-18 saat $35\pm2^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edildikten sonra, *L. monocytogenes* ise $30\pm2^{\circ}\text{C}$ 'de 12-18 saat inkübasyondan sonra elma suyu örneklerine ayrı ayrı inoküle edilmişlerdir. İnoküle edilen elma suları vakit kaybetmeden PEF ile proses edilmişlerdir.

3.2.5. Farklı Konsantrasyonlarda Tarçın Yağı İlave Edilmiş Elma Suyu Örneklerine Atımlı Elektrik Akımı Uygulanması

Elma suyunun PEF ile prosesi için değişik parametreler denenmiş olup ürünün pompa vasıtası ile akışı, viskozitesi ve kondaktivitesi göz önünde bulundurularak optimum parametreler belirlenmiştir. Proseste elma suyuna ilave edilecek tarçın yağı konsantrasyonu ($\mu\text{L/mL}$) ve uygulama süresi (μs) bağımsız değişken olarak ele alınmıştır. Bu amaçla 0.06, 0.003, 0.0005 ve 0.00 (kontrol) $\mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerine 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs uygulama sürelerinin tamamında 52 mL/dak akış hızı, 3 μs atım genişliği, 20 μs iki atım arasındaki zaman aralığı ve 500 pps atım frekansı uygulanmıştır.

3.2.6. Fiziksel ve Kimyasal Analizler

3.2.6.1. Asitlik

Homojen olarak alınan 10 mL örneklerin asitliği Orion 420 A model pH metre (İnolab WTW, ALMANYA) ile ölçülmüştür.

3.2.6.2. Titrasyon Asitliği

Beş mL elma suyu örneğine 5 mL su ilave edilip homojen bir karışım haline getirdikten sonra 0.5 mL fenol ftalein ayracı eklenip 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Titrasyonda harcanan NaOH kaydedilip sonuçlar AOAC (1990)'ye göre hesaplanmıştır.

3.2.6.3. °Briks

Suda çözünen toplam kuru madde (°Briks) tayini 507-1 model refraktometre (Nippon Optical Works Co. Ltd, Japonya) kullanarak yapılmıştır. Sonuçlar °Briks derecesi olarak belirtilmiştir.

3.2.6.4. Kondaktivite (İletkenlik) Ölçümü

Örneklerin kondaktiviteleri Sension 5 model el kondaktivitesi (HACH, Co, ABD) yardımı ile ölçülmüş ve sonuçlar mS/cm olarak belirtilmiştir.

3.2.6.5. Renk Ölçümü

Renk ölçümü Hunter Lab Color Flex Spektrofotometresi (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston VA, ABD) kullanılarak yapılmış olup; sonuçlar CSI sisteminde L* (0: koyuluk, 100: açıklık), a* (-: yeşillik, +: kırmızılık) ve b* (-: mavilik, +: sarılık) değerleri olarak verilmiştir. Ayrıca L, a, b değerleri kullanılarak TCD (toplam renk farkı), hue (renk) ve kroma (doygunluk-grilik) değerleri de hesaplanmıştır.

3.2.4.6. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Toplam fenolik madde miktarı Spanos ve Wrolstad (1990)'ın belirttikleri Folin Ciocalteu belirteci kullanılan spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır. Analiz edilen elma suyu örnekleri 760 nm dalga boyunda 0.2-0.8 absorbans gösterecek şekilde seyreltilmiştir. Seyreltilmiş örnekten 1 mL tüpe alınmış; üzerine 5mL 0.2 N Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilip karıştırılmıştır. Daha sonra 4 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi ilave edilip tüp içeriği karıştırıldıktan sonra $50\pm5^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış su banyosu içine yerleştirilerek 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra hemen soğutulup, 760 nm'de absorbans ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerlerinden fenolik madde miktarını saptayabilmek için 100, 200, 300, 400 ve 500 mg/L'lik gallik asit çözeltilerinden standart eğri hazırlanmıştır. Hazırlanan gallik asit çözeltisinden yararlanarak elma suyu örneklerinin absorbans değerlerinden toplam fenolik madde miktarları g/100mL gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir.

3.2.6.7. Toplam Antioksidan Kapasitesi Tayini

Toplam antioksidan kapasitesi tayininde öncelikle 0.01 mL elma suyu örneği ve kontrol örneği alınarak; bu örnekler pH'sı 7.4'e ayarlanmış olan Tris-HCl tamponu ilave edilmiştir. Daha sonra 1 mL DPPH (etanolda çözünmüş) eklenerek hızla karıştırılmıştır. Elde edilen elma suyu örnekleri karanlıkta 30 dak bekletildikten sonra; kontrol örneğinde ise hiç bekletilmeden 517 nm dalga boyunda UV spektrofotometre ile absorbans ölçülmüştür. Ölçülen değerler formülde yerine konularak % antioksidan aktivite değeri bulunmuştur (Moon ve Terao, 1998).

3.2.6.8. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri

Kontrol ve PEF ile proses edilen elma suyu örnekleri ATR attachmanı bulunan Shimadzu marka (IR Prestij FT-IR 21 model, Tokyo Japonya) fourier transform infrared spektroskopisi ile ölçülmüştür. Ölçümde alınan 10 µl örnekler direk olarak ATR attachmantına yerleştirilerek 400-3000 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. Abrosabans ölçüm parametreleri aşağıdaki gibidir.

Apodization modu: Happ-Genzel

Tarama sayısı: 120/sn

Dalga boyu aralığı: 650-4000 nm

3.2.6.9. Yağ Karışımlarının Fark Tarama Kalorimetresi (DSC) ile Ölçümü

Elma suyu örnekleri (10 mg) hermetikli alüminyum tavacıklara yerleştirilip Shimadzu marka DSC 60 model fark tarama kalorimetresi (DSC) ile 40-180°C aralığında 20°C/dk hızda ısıtılmış ve bu sıcaklık aralığında faz değişim eğilimleri ölçülmüştür.

3.2.7. Mikrobiyolojik Analizler

PEF uygulaması öncesi (kontrol) ve sonrası elma suyu örneklerinden alınan örnekler % 0.1 peptonlu su ile seyreltilerek uygun dilüsyonlardan 0.1 mL alındıktan sonra *E. coli* O157:H7 için Mac Conkey Sorbitol Agara (MCSA) (Fluka, Almanya) ve *L. monocytogenes* için Oxford Agara yayma (OA) yöntemiyle ekim yapılmış ve *E. coli* O157:H7 hazırlanan petriler 35±2°C’de 24-48 saat ve *L. monocytogenes* için hazırlanan petriler ise 30±2°C’de 24-48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Sayım sonuçları log kob/mL olarak verilmiştir.

3.2.8. Verilerin Analizi

Veri analizinde tarçın konsantrasyonu ve uygulama süresi bağımsız değişken olarak ele alınmış olup her bir değişkenin ölçülen özellikler veya mikrobiyal inaktivasyon üzerindeki etkisi test edilmiştir. Verilerin analizinde tek yönlü ANOVA kullanılmış olup uygulamalar arasındaki farklılıklar Tukey’s çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Minitab (13.1 versiyon) istatistik programı kullanılmıştır (α :0.05).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

GC-MS ile yapılan analizlerde tarçın (*Cinnamomum verum*) uçucu yağında % 44.79 oranında 3-propenal 3-phenyl, % 34.98 oranında trans – cinnamaldehyde, % 10.18 oranında 4-propenal 3-phenyl, % 3.67 oranında 2-propen-1-ol 3-phenyl acetate ve % 2.13 oranında 1,8-cineole bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Tarçın uçucu yağındaki bileşenler

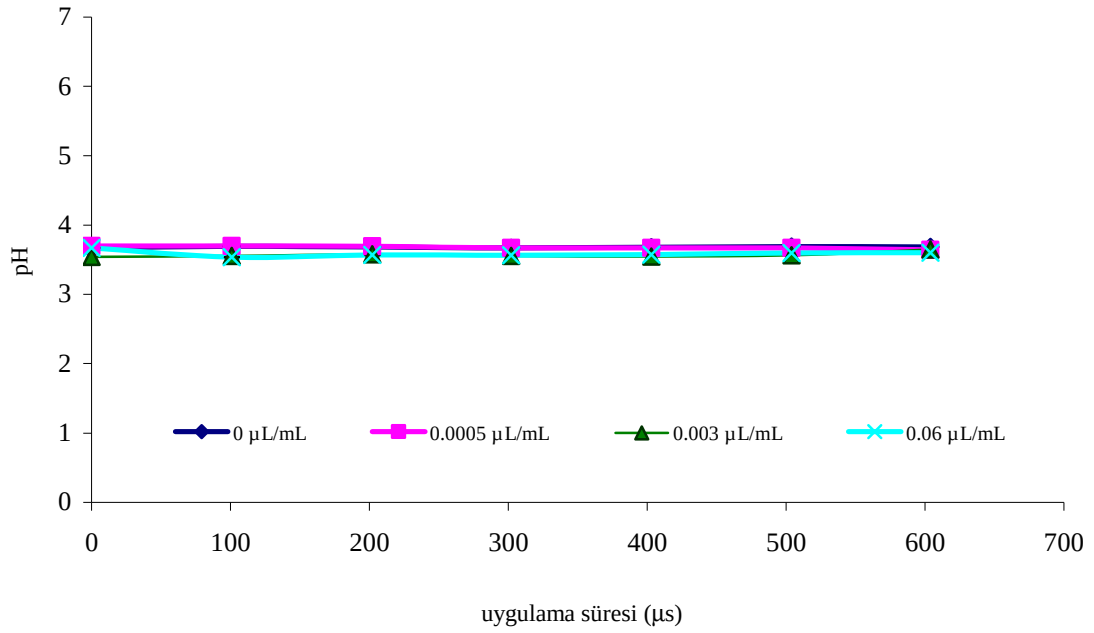
Bileşenler	Kolonda alı konma süresi	
	Alan (%)	(dak)
Alpha-pinene	0.17	5.59
1,8-cineole	2.13	9.95
Cinnamic aldehyde	0.20	22.44
3 - propenal, 3 – phenyl	44.79	25.32
4 - propenal, 3 – phenyl	10.18	25.38
Trans-cinnamaldehyde	34.98	25.56
Alpha-copaene	0.7	27.08
Beta-caryophyllene	0.51	27.96
2 – propen - 1 - ol 3 - phenyl acetate	3.67	28.76
Cinnamyl actate	0.13	29.1
1 S - cis - calamenene	0.31	29.76

4.1. Elma Suyunda Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler

Bu çalışma kapsamında uygulama süresi ve dolayısıyla toplam enerji ve elma suyu örneklerine ilave edilen tarçın yağı konsantrasyonu değişken parametreler olarak belirlenmiştir. Elma suyu farklı tarçın yağı konsantrasyonlarında (0, 0.0005, 0.003 ve 0.06 $\mu\text{L/mL}$) ve farklı uygulama sürelerinde (101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs) proses edilmiştir. Farklı uygulama sürelerinde elektrik alan şiddetine maruz bırakılmış tarçın ilave edilmemiş örnekler ve farklı tarçın konsantrasyonlarına sahip örneklerde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmış ve oluşabilecek farklılıklar incelenmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda (0, 0.0005, 0.003 ve 0.06 $\mu\text{L/mL}$) tarçın uçucu yağı ilave edilmiş elma suyu örnekleri 0, 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs uygulama sürelerinde atımlı elektrik akımına maruz bırakılmış PEF prosesi öncesi ve sonrası bu örneklerdeki pH değerleri ölçülmüştür. Buna göre tarçın konsantrasyonu 0 $\mu\text{L/mL}$ iken kontrol örneklerinde (0 kV/cm) pH değeri 3.67 olarak ölçülmüştür. Uygulanan 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs proses sürelerinde pH değeri sırasıyla 3.69, 3.68, 3.67, 3.68, 3.69 ve 3.68 olarak ölçülmüştür. Artan uygulama süresi tarçın esansiyel yağı eklenmemiş örneklerin pH'sında önemli bir değişime neden olmamıştır ($p>0.05$). Elma suyuna eklenen tarçın uçucu yağı konsantrasyonu 0.0005 $\mu\text{L/mL}$ iken pH değerleri 0, 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs proses sürelerinde 3.7, 3.7, 3.69, 3.67, 3.67, 3.67 ve 3.64 olarak ölçülmüştür. Bu örneklerde de artan uygulama süresi pH'da önemli bir değişime neden olmamıştır ($p>0.05$). Tarçın uçucu yağı konsantrasyonu 0.003 $\mu\text{L/mL}$ olarak değiştiğinde aynı uygulama süreleri için elma suyu örneklerinin pH değerleri 3.54, 3.55, 3.58, 3.55, 3.54, 3.56 ve 3.65 olarak değişmiştir ($p>0.05$). Tarçın uçucu yağ konsantrasyonu 0.06 $\mu\text{L/mL}$ seviyesinde iken

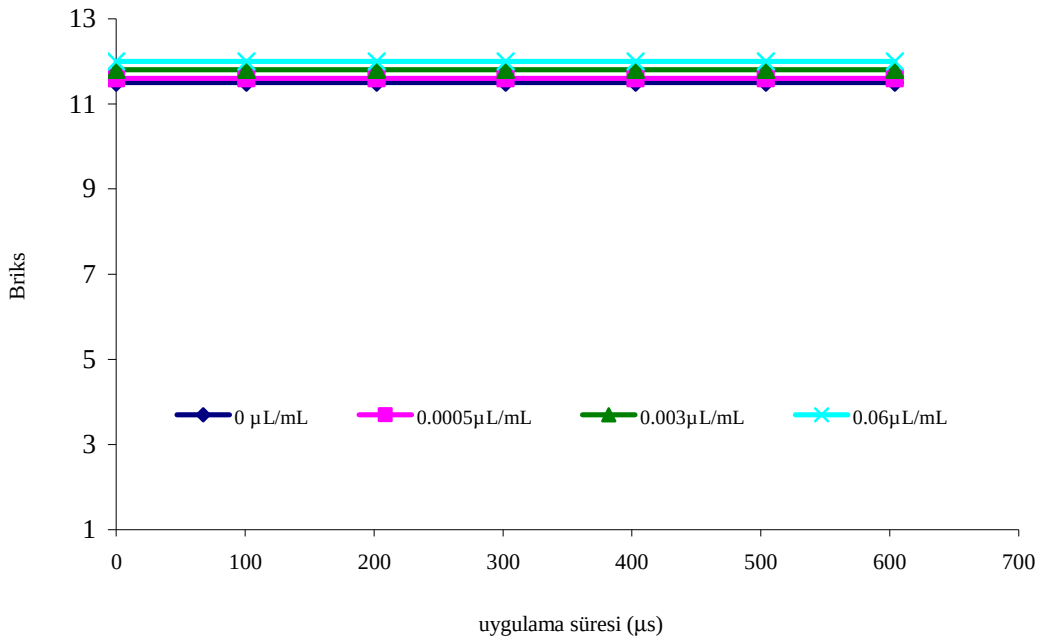
pH değerleri artan uygulama sürelerinde 3.67, 3.69, 3.68, 3.67, 3.68, 3.69 ve 3.68 olarak değişmiştir ($p>0.05$). Yapılan analizler sonucunda artan tarçın uçucu yağ konsantrasyonu ve uygulama süresinin elma suyu örneklerinin pH değerlerini önemli ölçüde etkilemediği görülmüştür ($p>0.05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde pH ölçümü.

Benzer şekilde PEF uygulaması öncesi ve sonrasında elma suyunun °Briks değeri ölçülmüş ve tarçın esansiyel yağı eklenmemiş ve PEF ile proses edilmemiş elma suyu örneklerinde °Briks değeri 11.5 ± 0.00 olarak tespit edilmiştir. Bu örnekler 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 µs uygulama süresince elektrik akımına maruz bırakıldıktan sonra da °Briks değerleri değişmemiş ve kontrol örnekleriyle aynı kalmıştır ($p>0.05$). 0.0005 µL/mL tarçın esansiyel yağı eklenmiş örneklerin 0, 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 µs uygulama süreleri sonundaki °Briks değerleri her bir uygulama süresi için 11.6 ± 0.00 olarak ölçülmüştür. Tarçın esansiyel yağı

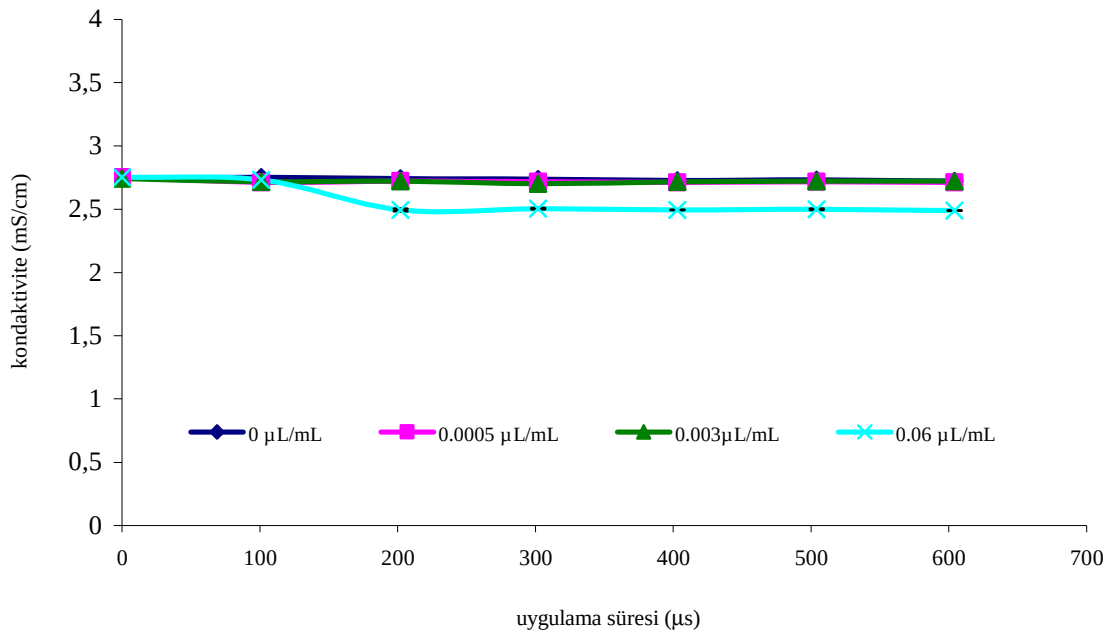
konsantrasyonu 0.003 $\mu\text{L/mL}$ olduğunda 0, 101 μs uygulama sürelerinde $^{\circ}\text{Briks}$ değeri 11.8 ± 0.00 ; 202, 302, 403, 504 ve 604 uygulama süreleri sonunda ise $^{\circ}\text{Briks}$ değeri 11.6 ± 0.00 olarak değişmiştir. Tarçın esansiyel yağı konsantrasyonu 0.06 $\mu\text{L/mL}$ olduğunda ise $^{\circ}\text{Briks}$ değerleri her bir proses süresi için 12.00 ± 0.00 olarak değişmiştir. Artan uygulama süresi ve tarçın esansiyel yağı konsantrasyonu elma sularının $^{\circ}\text{Briks}$ değerini önemli derecede etkilememiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde $^{\circ}\text{Briks}$ ölçümü.

Tarçın esansiyel yağı eklenmemiş ve PEF ile proses edilmemiş elma suyu örneklerinde kondaktivite değeri 2.75 ± 0.00 mS/cm olarak tespit edilmiştir. Bu örnekler 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs uygulama süresince elektrik akımına maruz bırakıldıktan sonra da kondaktivite değerleri sırasıyla 2.75 ± 0.00 , 2.74 ± 0.00 , 2.74 ± 0.0005 , 2.73 ± 0.00 , 2.73 ± 0.00 ve 2.72 ± 0.00 mS/cm olarak ölçülmüştür. 0.0005 $\mu\text{L/mL}$ tarçın esansiyel yağı eklenmiş örneklerin 0, 101, 202, 302, 403, 504 ve 604

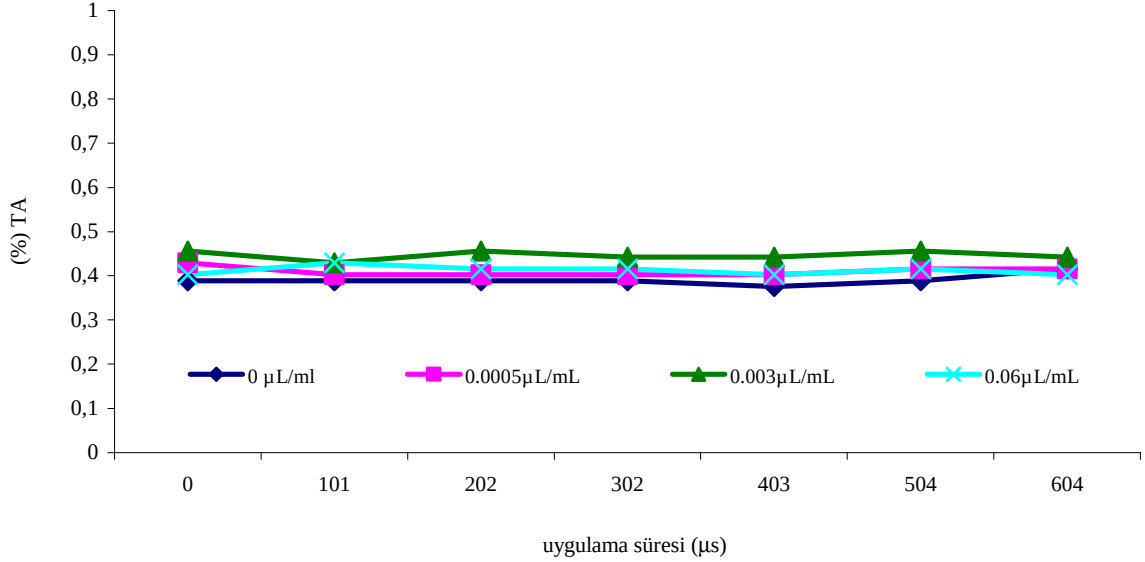
μs uygulama süreleri sonundaki kondaktivite değerleri sırasıyla 2.75 ± 0.00 , 2.71 ± 0.00 , 2.72 ± 0.01 , 2.71 ± 0.005 , 2.71 ± 0.00 , 2.71 ± 0.005 ve 2.71 ± 0.00 mS/cm olarak ölçülmüştür. Tarçın esansiyel yağı konsantrasyonu $0.003 \mu\text{L/mL}$ olduğunda yine aynı uygulama sürelerinde kondaktivite değerleri 2.74 ± 0.00 , 2.71 ± 0.005 , 2.72 ± 0.00 , 2.70 ± 0.00 , 2.71 ± 0.005 , 2.72 ± 0.00 ve 2.72 ± 0.025 mS/cm olarak değişmiştir.



Şekil 4.3. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde kondaktivite ölçümü.

Tarçın esansiyel yağı konsantrasyonu $0.06 \mu\text{L/mL}$ olduğunda ise kondaktivite değerleri aynı proses süreleri için sırasıyla 2.75 ± 0.00 , 2.73 ± 0.00 , 2.49 ± 0.005 , 2.50 ± 0.005 , 2.49 ± 0.005 , 2.50 ± 0.00 ve 2.49 ± 0.01 mS/cm olarak değişmiştir. Tarçın ilavesiz, 0.0005 ve $0.003 \mu\text{L/mL}$ tarçın uçucu yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin her bir proses uygulama süresinde kondaktivite değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiş, ancak $0.06 \mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu

örneğinde ise uygulama süresini arttırdığımızda kondaktivite değerinde belirgin bir düşüş gözlenmiştir. ($p>0.05$) (Şekil 4.3).

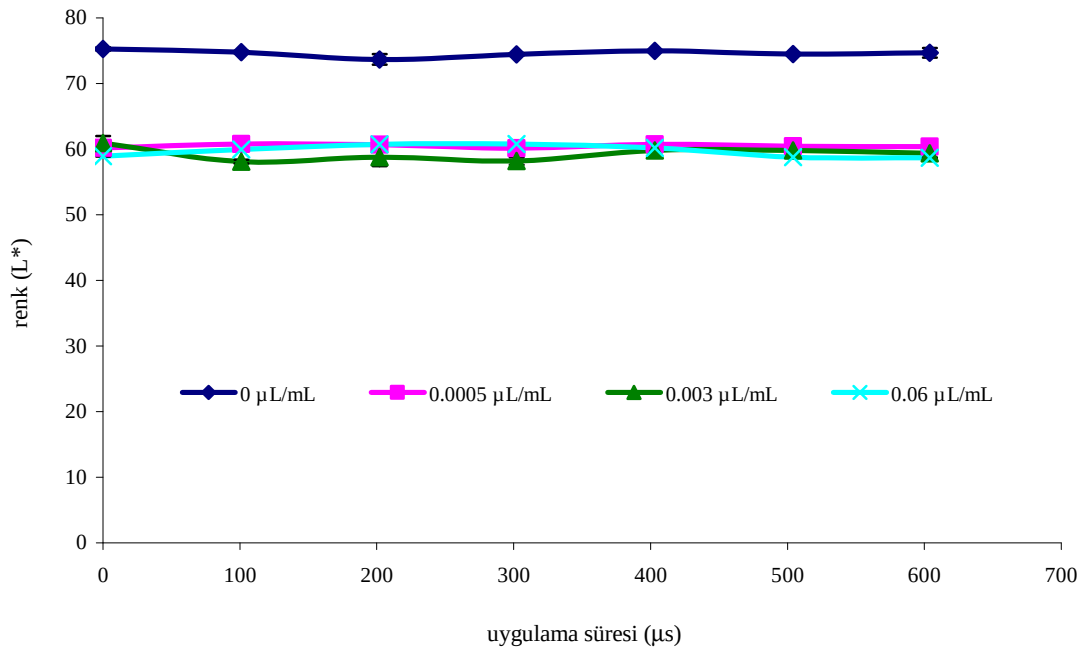


Şekil 4.4. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde % titrasyon asitliği ölçümü.

Örneklerin titrasyon asitliği (%TA) ölçümlerinde 0, 0.0005, 0.003 ve 0.06 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen elma sularının kontrol örneklerinde (%) TA değeri sırasıyla 0.39 ± 0.00 , 0.42 ± 0.00 , 0.45 ± 0.00 ve 0.40 ± 0.00 olarak bulunmuş olup tarçın ilave edilmemiş elma suyu örneği 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 µs uygulama sürelerinde proses edildiğinde örneklerdeki titrasyon asitliği değerleri sırasıyla 0.39 ± 0.00 , 0.39 ± 0.00 , 0.39 ± 0.00 , 0.38 ± 0.00 , 0.38 ± 0.00 ve 0.41 ± 0.00 ; 0.0005 µL/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneğinde aynı proses sürelerinde sırasıyla 0.39 ± 0.00 , 0.39 ± 0.00 , 0.39 ± 0.00 , 0.38 ± 0.00 , 0.38 ± 0.00 ve 0.41 ± 0.00 ; 0.01 µL/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneğinde 0.43 ± 0.00 , 0.45 ± 0.00 , 0.44 ± 0.00 , 0.44 ± 0.00 , 0.45 ± 0.00 , 0.44 ± 0.00 , ve 0.06 µL/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu

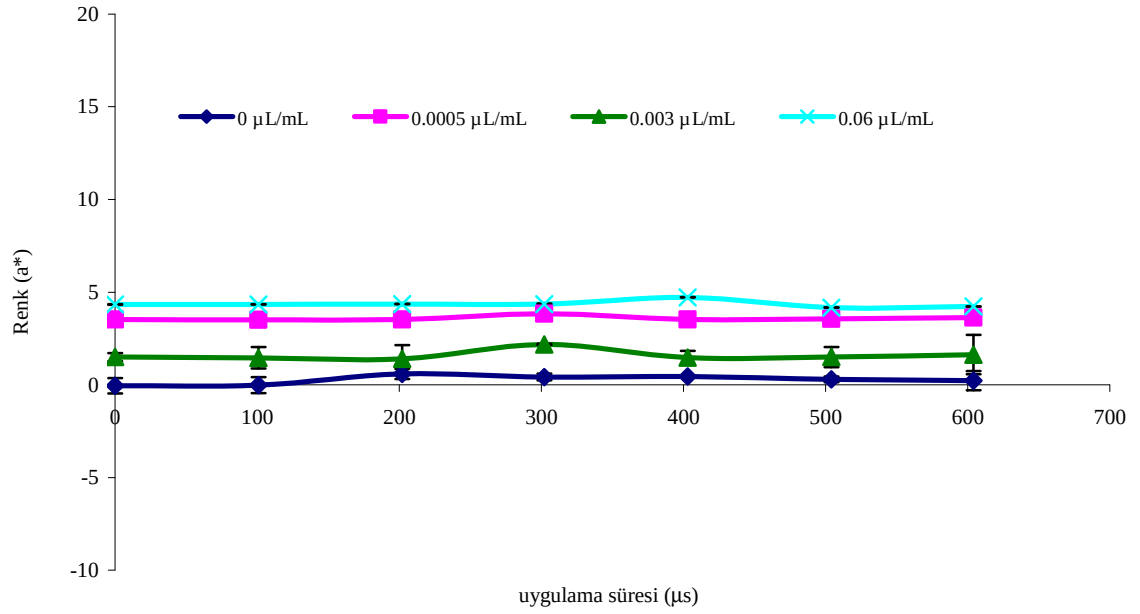
örneğinde ise 0.42 ± 0.00 , 0.42 ± 0.00 , 0.42 ± 0.00 , 0.40 ± 0.00 , 0.41 ± 0.00 ve 0.40 ± 0.00 olarak ölçülmüş olup tarçın konsantrasyonu sabit tutulduğunda uygulama süresi arttırıldığında ya da uygulama süresi sabit iken tarçın konsantrasyonu arttırıldığında titrasyon asitliği değerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim görülmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.4).

PEF uygulaması öncesi 0, 0.0005, 0.003 ve 0.06 $\mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin L^* değerleri 75.27 ± 0.24 , 60.15 ± 0.22 , 60.89 ± 1.09 ve 58.90 ± 0.05 ($p \leq 0.05$), a^* değerleri -0.06 ± 0.41 , 3.51 ± 0.01 , 1.49 ± 0.22 ve 4.33 ± 0.01 ($p \leq 0.05$) b^* değerleri 35.23 ± 2.38 , 42.27 ± 0.11 , 35.94 ± 0.34 ve 33.79 ± 0.30 olarak saptanmıştır ($p \leq 0.05$).

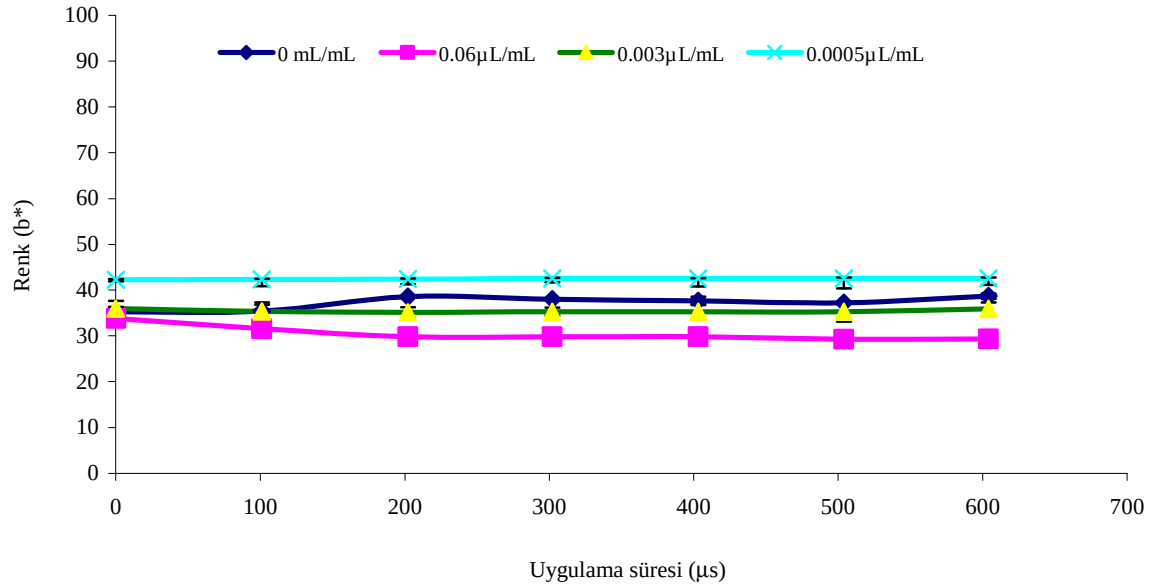


Şekil 4.5. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde renk (L^*) ölçümü.

Farklı uygulama sürelerinde (101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μ s) tarçın ilavesiz elma suyu örneklerinin renk ölçümünde elde edilen L^* değerleri 74.79 ± 0.17 , 73.67 ± 0.80 , 74.45 ± 0.17 , 74.96 ± 0.08 , 74.49 ± 0.1 ve 74.68 ± 0.72 ; a^* değerleri -0.025 ± 0.43 , 0.58 ± 0.28 , 0.41 ± 0.18 , 0.45 ± 0.00 , 0.29 ± 0.15 ve 0.22 ± 0.52 ; b^* değerleri ise 35.39 ± 1.89 , 38.53 ± 0.17 , 38.00 ± 0.17 , 37.65 ± 0.91 , 37.22 ± 0.08 ve 38.67 ± 0.59 olarak ölçülmüştür. 0.0005 μ L/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin renk ölçümünde elde edilen L^* değerleri 60.75 ± 0.01 , 60.68 ± 0.01 , 60.14 ± 0.01 , 60.69 ± 0.00 , 60.40 ± 0.01 ve 60.35 ± 0.01 ; a^* değerleri 3.50 ± 0.01 , 3.51 ± 0.02 , 3.82 ± 0.02 , 3.52 ± 0.01 , 3.55 ± 0.01 ve 3.62 ± 0.01 ; b^* değerleri ise 42.31 ± 0.13 , 42.43 ± 0.08 , 42.53 ± 0.13 , 42.58 ± 0.03 , 42.57 ± 0.14 ve 42.57 ± 0.19 olarak belirlenmiş olup; 0.003 μ L/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin renk ölçümünde elde edilen L^* değerleri 58.08 ± 0.29 , 58.74 ± 1.35 , 58.17 ± 0.57 , 59.78 ± 0.30 , 59.76 ± 0.91 ve 59.35 ± 0.68 ; a^* değerleri 1.45 ± 0.57 , 1.39 ± 0.73 , 2.18 ± 0.02 , 1.46 ± 0.36 , 1.49 ± 0.55 ve 1.62 ± 1.06 ; b^* değerleri ise 35.37 ± 1.43 , 35.12 ± 1.11 , 35.29 ± 0.85 , 35.27 ± 1.76 , 35.28 ± 2.16 ve 35.87 ± 1.41 olarak kaydedilmiştir. Son olarak 0.06 μ L/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin renk ölçümünde elde edilen L^* değerleri 59.94 ± 0.03 , 60.69 ± 0.03 , 60.76 ± 0.05 , 60.19 ± 0.01 , 58.75 ± 0.04 ve 58.67 ± 0.04 ; a^* değerleri 4.33 ± 0.00 , 4.36 ± 0.01 , 4.36 ± 0.02 , 4.72 ± 0.00 , 4.17 ± 0.00 ve 4.22 ± 0.00 ve b^* değerleri ise sırasıyla 31.54 ± 0.01 , 29.80 ± 0.02 , 29.83 ± 0.04 , 29.81 ± 0.01 , 29.26 ± 0.02 ve 29.34 ± 0.03 olarak ölçülmüştür (Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7). Buna göre PEF prosesi uygulanmış elma suyu örneklerinde artan uygulama süresi ve tarçın konsantrasyonuna bağlı olarak b^* değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmez iken; a^* değerinde artış, L^* değerlerinde ise düşüş gözlenmiştir ($p > 0.05$).

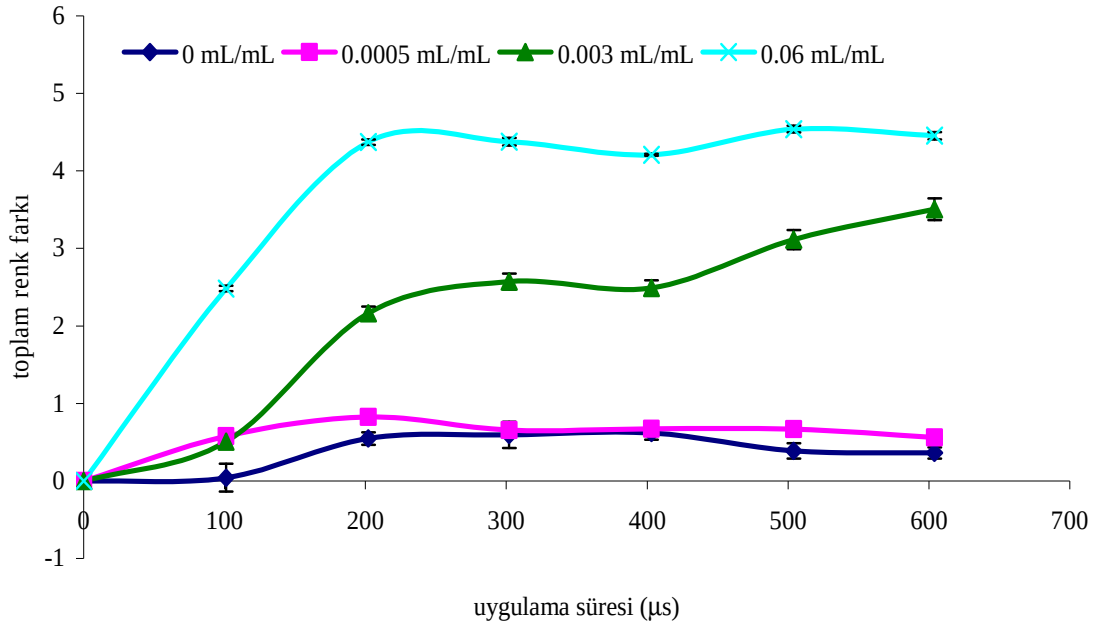


Şekil 4.6. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde renk (a*) ölçümü.



Şekil 4.7. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde renk (b*) ölçümü.

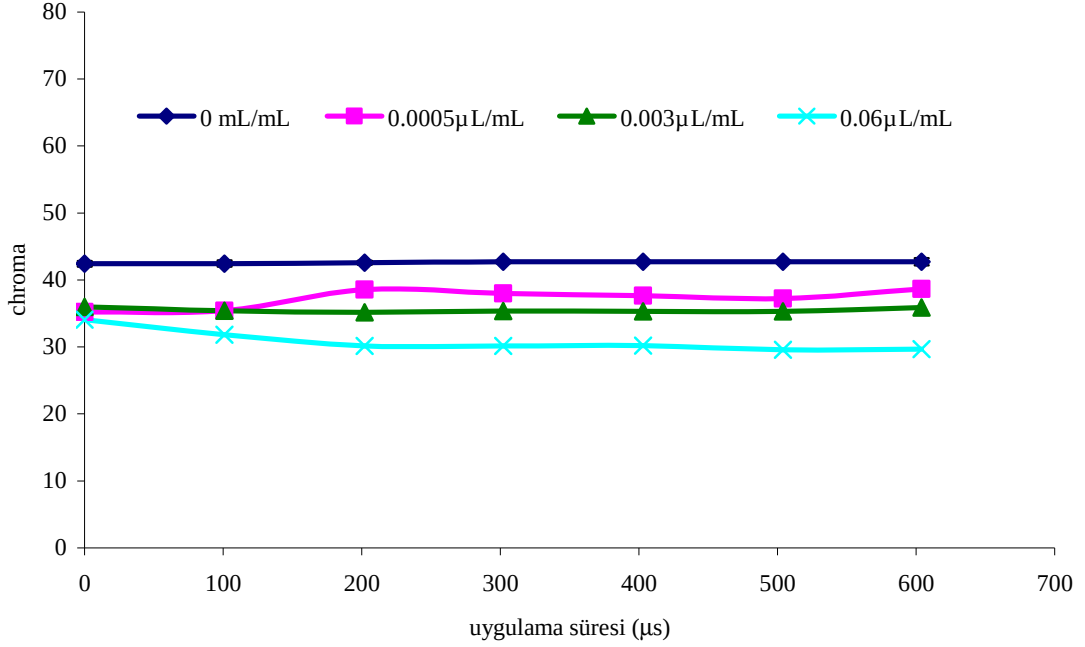
PEF uygulaması öncesi 0, 0.0005, 0.003, 0.06 $\mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin toplam renk farkı (TRF, ΔE) değerleri herbiri için 0 ± 0.00 olup, PEF sonrası 101, 202, 302, 403, 504, 604 μs uygulama sürelerinde tarçın ilave edilmemiş elma suyu örneğinde ise ΔE değerleri sırasıyla 0.042246, 0.546963, 0.594554, 0.617496, 0.387767 ve 0.361318 iken 0.0005 $\mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilaveli elma suyu örneğinde aynı uygulama sürelerinde ΔE değerleri 0.578901, 0.827426, 0.654334, 0.674116, 0.669749 ve 0.560303 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.8. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde toplam renk farkı (TCD) ölçümü.

Tarçın uçucu yağ konantrasyonu 0.003 $\mu\text{L/mL}$ olan elma suyu örneklerinde ΔE değerleri ise sırasıyla 0.508, 2.162561, 2.572408, 2.488365, 3.113736 ve 3.506008; 0.06 $\mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin ΔE değerleri ise yine her bir uygulama süresi için sırasıyla 2.48328, 4.370945, 4.377431, 4.207479, 4.540059 ve 4.454242 olarak saptanmıştır. Buna göre PEF prosesi uygulanmış elma suyu örneklerinde artan uygulama süresi ve tarçın

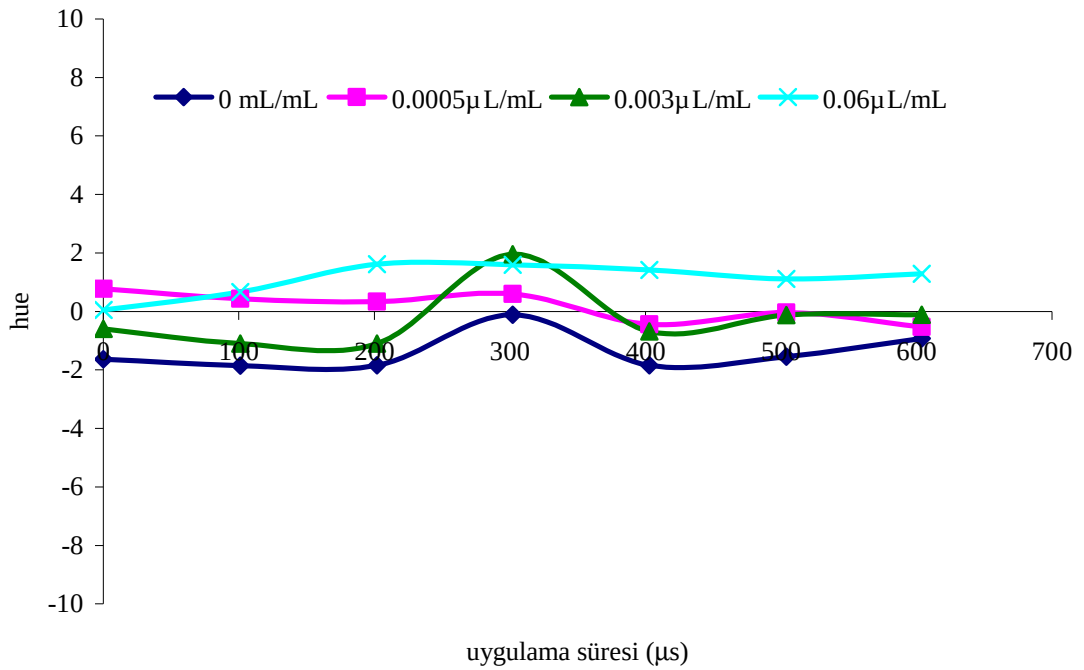
konsantrasyonuna bağılı olarak toplam renk farkında artış gözlenmiştir ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.8).



Şekil 4.9. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde kroma (C^*) ölçümü.

PEF uygulaması öncesi 0, 0.0005, 0.003 ve 0.06 µL/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin kroma değerleri (C^*) sırasıyla 42.42, 35.23, 35.97 ve 34.07 olup, PEF sonrası 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 µs uygulama süreleri boyunca tarçın ilave edilmemiş elma suyu örneğinde kroma değerleri sırasıyla 42.45, 42.57, 42.70, 42.72, 42.72 ve 42.73; 0.0005 µL/mL tarçın yağı ilaveli elma suyu örneğinde aynı uygulama sürelerinde kroma değerleri 35.39, 38.54, 38.00, 37.65, 37.22 ve 38.67; 0.003 µL/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneğinde kroma değerleri 35.40, 35.15, 35.36, 35.30, 35.31 ve 35.90 ve 0.06 µL/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin kroma değerleri ise yine her bir uygulama süresi için

sırasıyla 31.83, 30.12, 30.14, 30.18, 29.55 ve 29.65 olarak saptanmıştır. Buna göre tarçın konsantrasyonu sabit tutulduğunda PEF prosesi uygulanmış elma suyu örneklerinde artan uygulama süresine bağlı olarak kroma değerinde önemli bir değişim olmadığı ancak uygulama süreleri sabitken; tarçın ilave edilmemiş elma suyu örneğine kıyasla örneklerdeki artan tarçın yağına bağlı olarak kroma değerlerinde düşüş gözlenmiştir ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.9).



Şekil 4.10. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde hue (h^*) ölçümü.

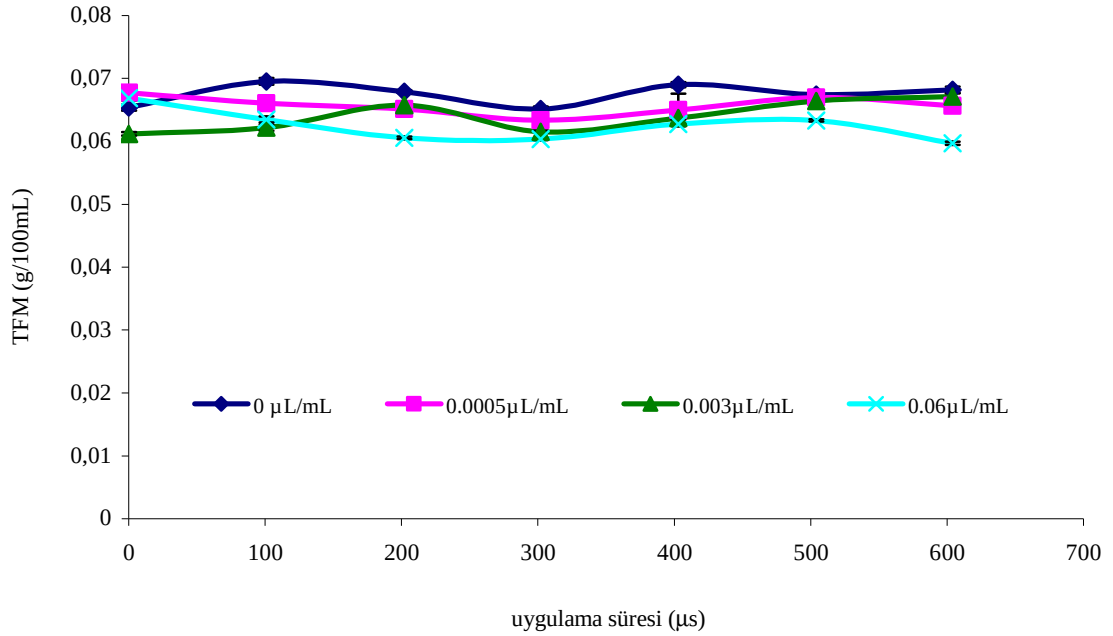
PEF uygulaması öncesi 0, 0.0005, 0.003 ve 0.06 µL/mL tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin hue değerleri (h^*) sırasıyla -1.64, 0.77, -0.60 ve 0.04 olup, PEF sonrası 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 µs uygulama süreleri boyunca tarçın ilave edilmemiş elma suyu örneğinde hue değerleri sırasıyla -1.85, -1.85, -0.11, -1.85, -1.55 ve -0.93; 0.0005µL/mL tarçın yağı ilaveli elma suyu örneğinde

aynı uygulama sürelerinde hue değerleri 0.43, 0.33, 0.60, -0.43, -0.04 ve -0.53; 0 $\mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneğinde hue değerleri -0.60, -1.09, -1.10, 1.95, -0.68, -0.12 ve -0.11; 0.06 $\mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin hue değerleri ise yine her bir uygulama süresi için sırasıyla 0.04, 0.65, 1.61, 1.59, 1.42, 1.10 ve 1.29 olarak saptanmıştır. Buna göre PEF prosesi uygulanmış elma suyu örneklerinde artan uygulama süresi ve tarçın konsantrasyonuna bağlı olarak hue (h^*) değerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.10).

Uygulanan PEF prosesinin ve değişen tarçın konsantrasyonunun elma suyunun fenolik madde içeriğinde değişikliğe neden olup olmadığının tespiti için PEF prosesi öncesi ve sonrası örneklerde toplam fenolik madde miktarı tayin edilmiştir. PEF prosesi uygulanmamış ve tarçın ilave edilmemiş elma suyunun kontrol örneğindeki gallik asit eşdeğeri olarak toplam fenolik madde miktarı 0.065 ± 0.00 g/100mL olarak tespit edilmiştir. 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs uygulama sürelerinde proses edildiğinde ise örneklerdeki fenolik madde miktarı sırasıyla 0.069 ± 0.00 , 0.067 ± 0.00 , 0.065 ± 0.00 , 0.068 ± 0.00 , 0.067 ± 0.00 ve 0.068 ± 0.00 olarak ölçülmüştür. 0, 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs uygulama sürelerinde proses edilen $0.0005\mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilaveli elma suyu örneklerinde ise fenolik madde miktarları sırasıyla 0.067 ± 0.00 , 0.066 ± 0.00 , 0.065 ± 0.00 , 0.063 ± 0.00 , 0.064 ± 0.00 , 0.066 ± 0.00 ve 0.065 ± 0.00 olarak ölçülmüştür.

Yine aynı uygulama süreleri için $0.003 \mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilaveli elma suyu örneklerinde fenolik madde miktarı değerleri 0.061 ± 0.00 , 0.062 ± 0.00 , 0.06571 ± 0.00 , 0.061 ± 0.00 , 0.063 ± 0.00 , 0.066 ± 0.00 ve 0.067 ± 0.00 ; $0.06 \mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilaveli elma suyu örneklerinde ise fenolik madde miktarı değerleri 0.066 ± 0.00 , 0.063 ± 0.00 , 0.06053 ± 0.00 , 0.060 ± 0.00 , 0.062 ± 0.00 , 0.063 ± 0.00 ve 0.059 ± 0.00 olarak

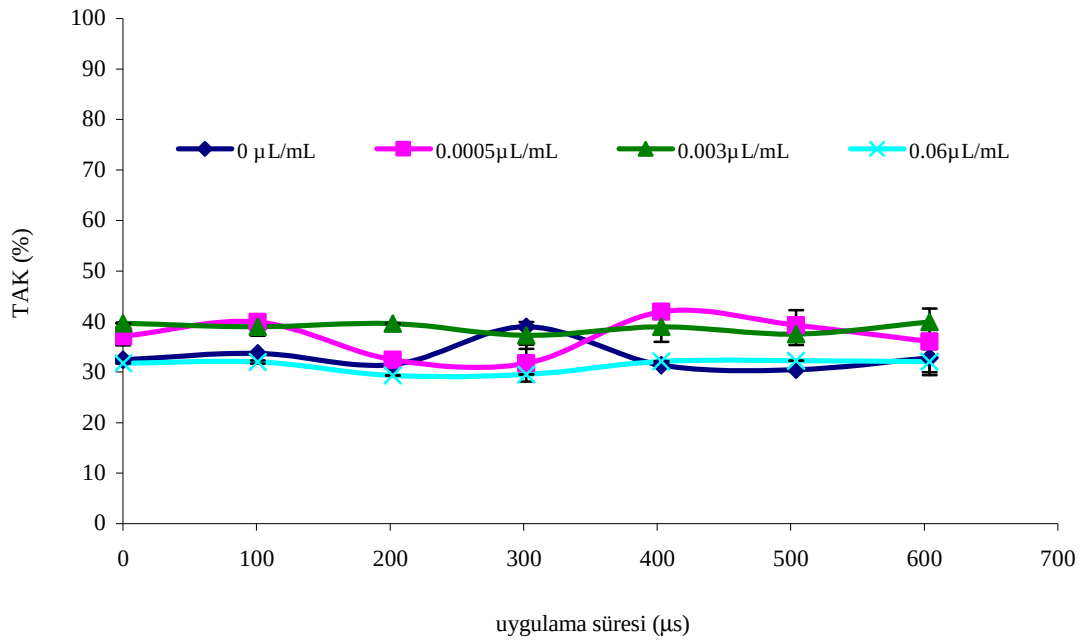
ölçülmüştür. Artan tarçın konsantrasyonu ve uygulama süresinin elma suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarında önemli bir değişime yol açmadığı görülmüştür ($p>0.05$) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde toplam fenolik madde miktarı ölçümü.

Artan uygulama süresi ve tarçın konsantrasyonunun elma suyunun toplam antioksidan kapasitesi (%) üzerindeki etkisinin değerlendirildiği analizlerde 0, 0.0005, 0.003 ve 0.06 μL/mL tarçın yağı ilaveli elma suyu örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi sırasıyla 32.41 ± 0.13 , 37.06 ± 1.76 , 39.65 ± 0.02 ve 31.71 ± 0.00 olarak ölçülmüştür. Tarçın yağı ilave edilmemiş elma suyu örneği 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs uygulama sürelerinde proses edildiğinde antioksidan kapasitesi sırasıyla 33.69 ± 0.01 , 31.44 ± 0.17 , 38.96 ± 0.03 , 31.36 ± 0.08 , 30.45 ± 0.02 ve 32.82 ± 2.89 olarak ölçülmüş olup; 0.0005 μL/mL tarçın yağı ilave edilmiş örneğin aynı uygulama sürelerinde proses edilmesi ile ölçülen antioksidan değerleri sırasıyla 39.88 ± 0.67 , 32.41 ± 1.05 , 31.74 ± 3.65 , 41.95 ± 0.00 , 39.25 ± 2.98 ve 36.01 ± 1.50 ; 0.003

$\mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilave edilmiş örnekte yine aynı uygulama sürelerinde 38.94 ± 1.77 , 39.61 ± 0.03 , 37.24 ± 2.64 , 38.97 ± 3.01 , 37.50 ± 2.15 ve 39.91 ± 2.67 ; $0.06 \mu\text{L/mL}$ tarçın yağı ilave edilmiş örnekte yine aynı uygulama sürelerinde 31.97 ± 0.29 , 29.31 ± 0.00 , 29.53 ± 0.00 , 32.10 ± 0.04 , 32.24 ± 0.00 ve 32.05 ± 2.68 olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre elma suyu örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinde artan uygulama süresi ve tarçın konsantrasyonuna bağlı olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.12).

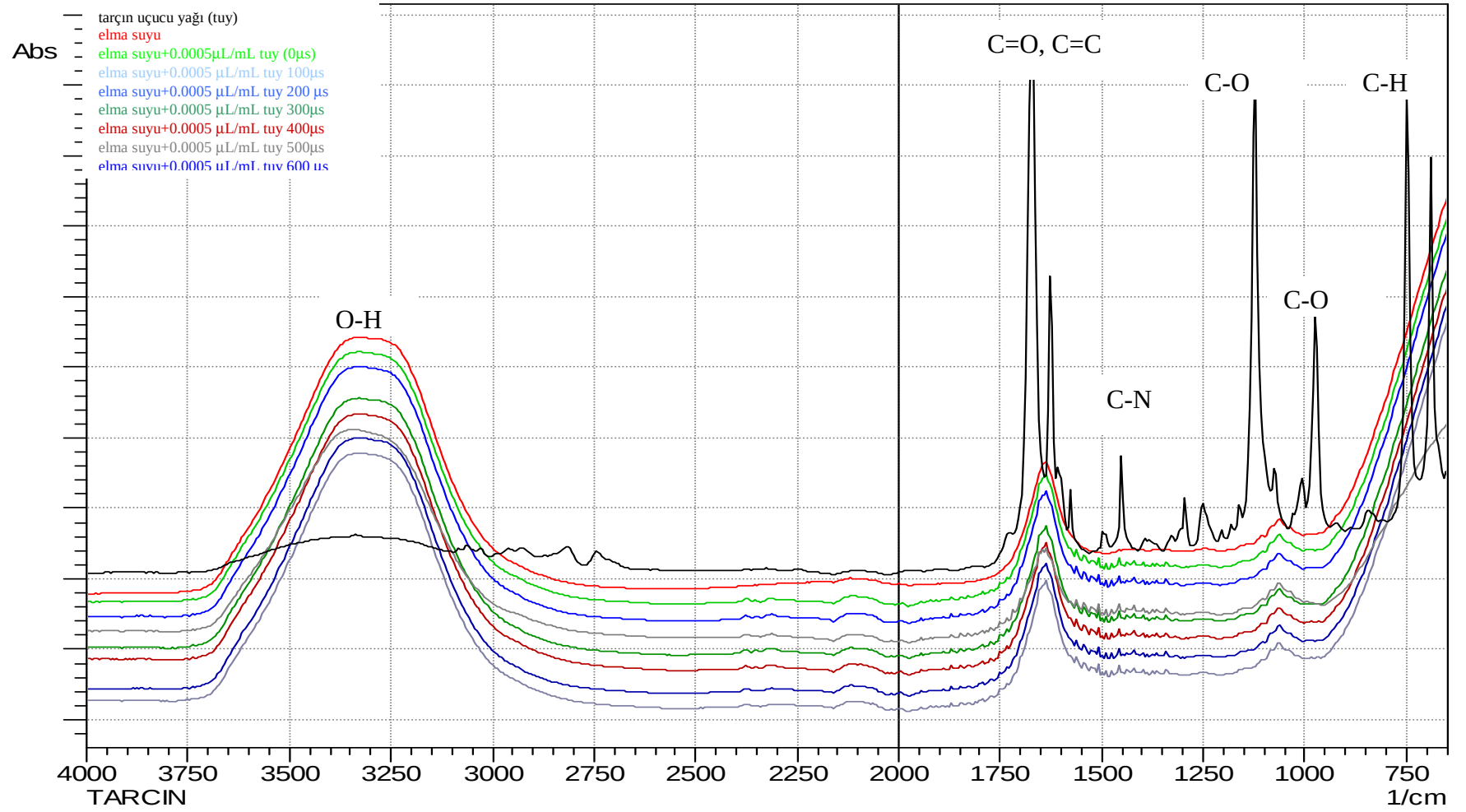


Şekil 4.12. Farklı uygulama sürelerinde proses edilen farklı miktarlarda tarçın uçucu yağı içeren elma suyu örneklerinde (%) toplam antioksidan kapasite ölçümü.

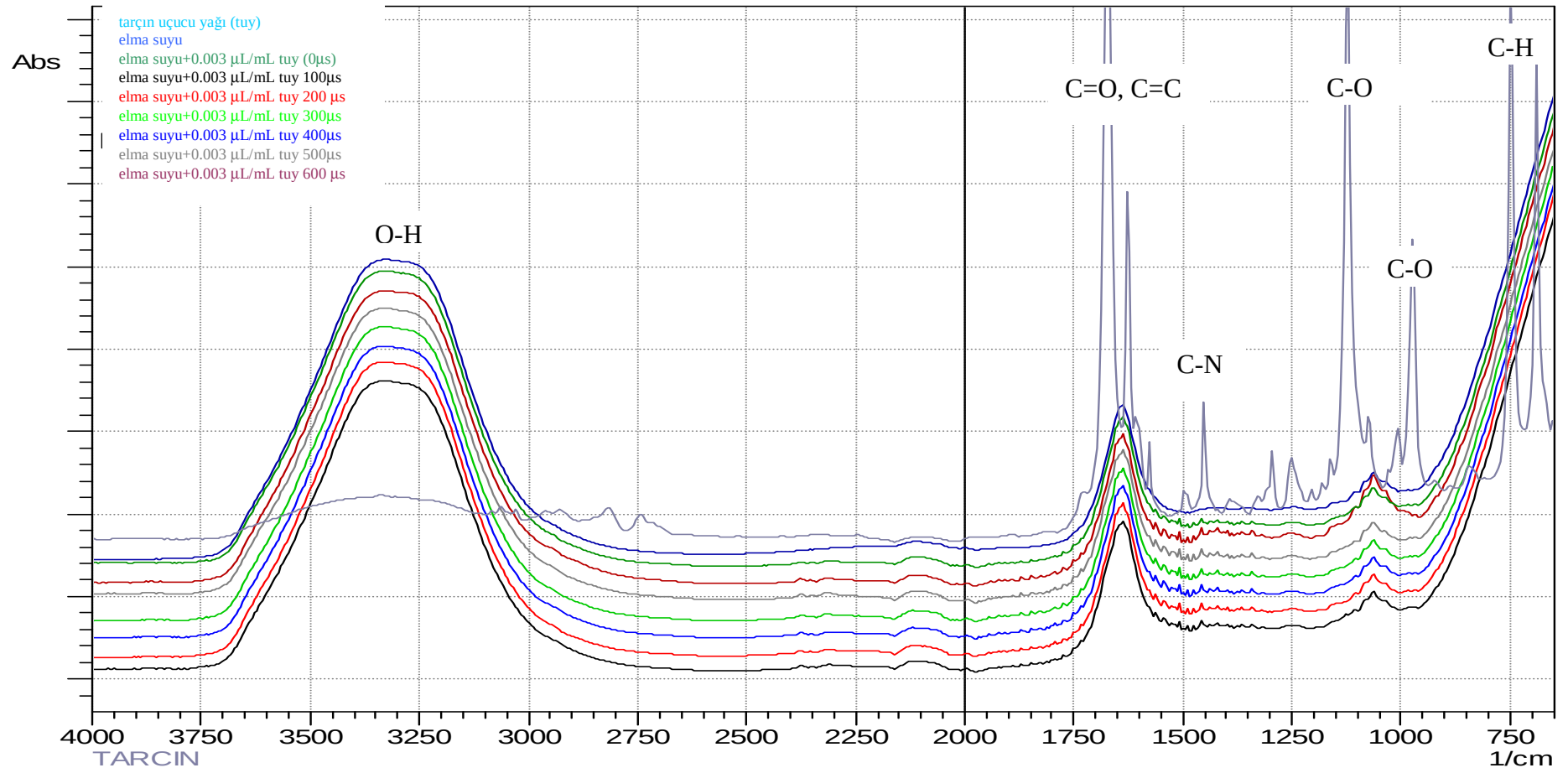
Uygulanan PEF prosesinin ve değişen tarçın konsantrasyonunun elma suyu örneklerinin izomerizasyon kinetiklerinde (komponent içeriklerinde) bir değişime neden olup olmadığını tespit etmek amacıyla FT-IR spektroskopisi ile ölçümler yapılmıştır. Ölçümler cihazın ATR attaccmantına her defasında bir örnekten $10 \mu\text{L}$

yerleştirilmesi ve direk olarak tüm örneklerin ATR 400-3000 nm dalga boyunda ölçülmesiyle gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.13, 4.14 ve 4.15'te tarçın, elma suyu, 0.0005, 0.003 ve 0.06 tarçın uçucu yağı (tuy) içeren kontrol örneği ve bu oranlarda tarçın uçucu yağı (tuy) içeren ve PEF ile muamele edilmiş elma suyu örneklerine ait infrared spektrumlar görülmektedir. Grafikte x düzlemi $750-4000\text{ cm}^{-1}$ arasındaki dalga boyunu, y düzlemi örneklerdeki absorbans değerlerini göstermektedir. Tüm örneklerin absorpsiyon pik eğrileri incelendiğinde; $3450-3500\text{ cm}^{-1}$, $1650-1700\text{ cm}^{-1}$, 1150 ve 750 cm^{-1} dalgaboyu aralıklarında piklerin oluştuğu görülmektedir. Pik eğrilerinin oluştuğu dalga boyu aralıkları, element bağları-dalga boyu arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon tablosu ile karşılaştırıldığında var olan bağların sırasıyla O-H, C=O, C-C, C-N, C-O, C-O ve C-H olduğu görülmektedir. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında $3600-3200\text{ cm}^{-1}$ aralığı O-H hidrojen bağı olarak görülüp, genelde alkoller, fenoller ve karboksilik asit komponentlerinden oluşan gerilme kuvveti olarak karşımıza çıkmaktadır. Elma suyu için bu gerilme kuvvetine ait pik büyük oranda su moleküllerinden kaynaklanmaktadır. $1670-1760\text{ cm}^{-1}$ aralığı aldehit, keton, karboksilik asit ve esterlere ait C=O bağına ait olabilmektedir. Bunun yanı sıra $1600-1500\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pik C=C aromatik halkasal yapıya ait gerilme kuvvetini ve $1340-1020\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pik ise aminlere ait C-N bağı göstermektedir. $1260-1000\text{ cm}^{-1}$ aralığı alkol, eter, karboksilik asitler ve esterlere ait C-O gerilme kuvvetini, $1000-675\text{ cm}^{-1}$ aralığı ise alkenlere ait C-H gerilme ve bükülme kuvvetini temsil etmektedir. Sonuç olarak, tarçın yağı, elma suyu, 0.0005, 0.003 ve 0.06 tarçın uçucu yağı (tuy) içeren elma suyu ve bu elma suyunun değişik uygulama sürelerinde PEF ile prosesi sonucu elde edilen veriler incelendiğinde genel olarak PEF ile proses edilmemiş kontrol örnekleri ile proses edilmiş örneklerin FT-IR spektrumlarında herhangi bir değişimin olmadığı gözlenmektedir ($p>0.05$). Fakat tarçın uçucu yağına

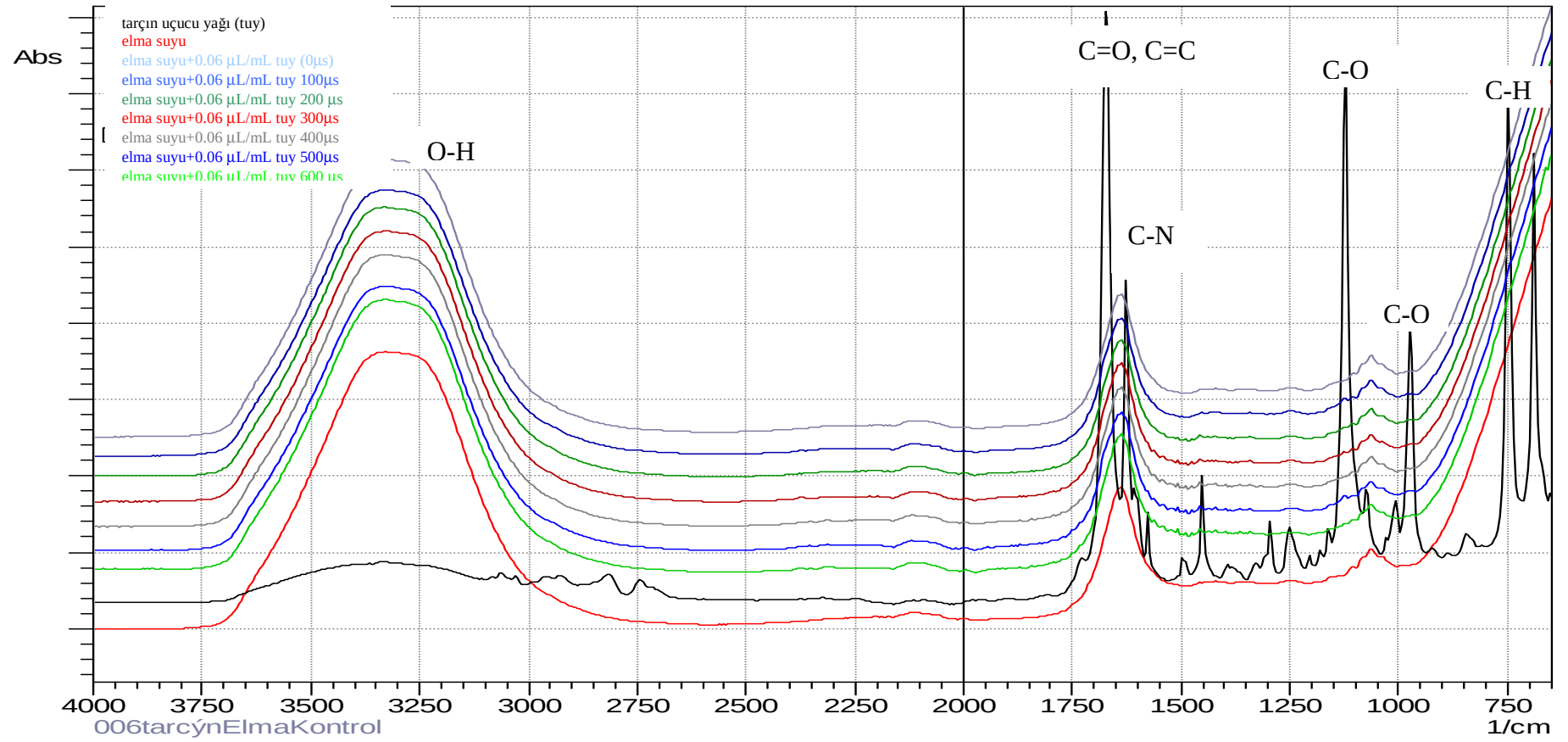
bakıldığında bu yağın spektrumunun elma suyu ve tuy karışımlarından farklı olduğu gözlenmiştir ($p \leq 0.05$). Dolayısıyla, PEF muamelesinin tarçın uçucu yağı eklenmiş örneklerin izomerizasyon kinetiklerinde herhangi bir değişime neden olmadığı görülmüştür.



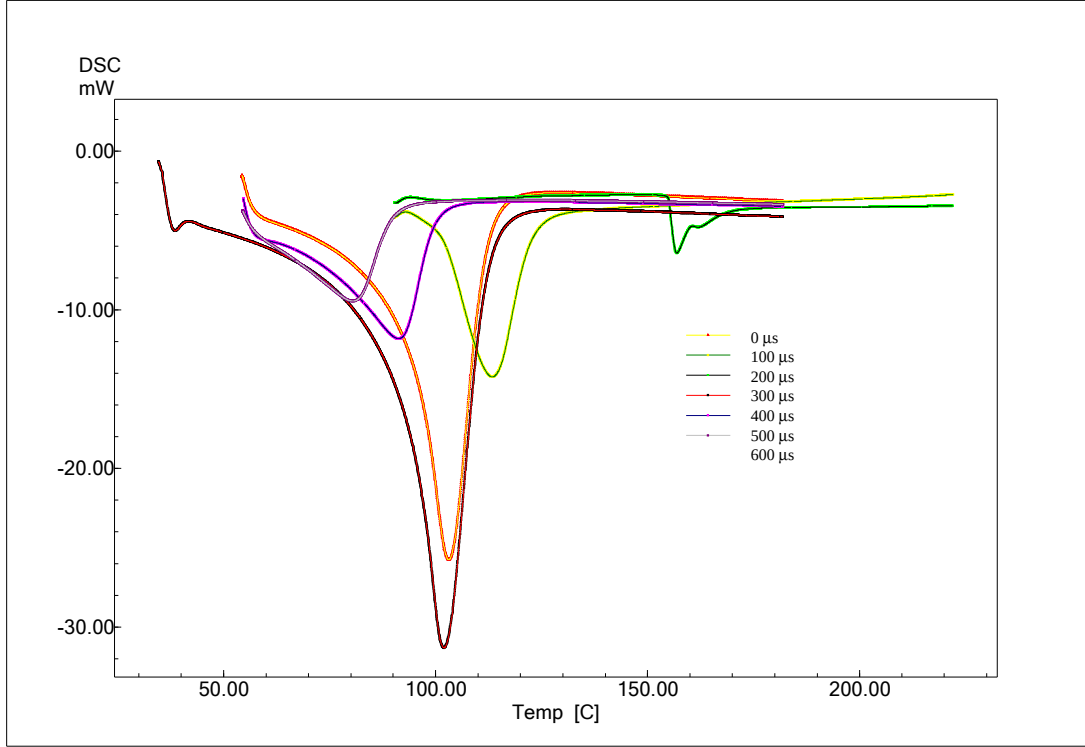
Şekil 4.13. 0.0005 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin FT-IR analizi



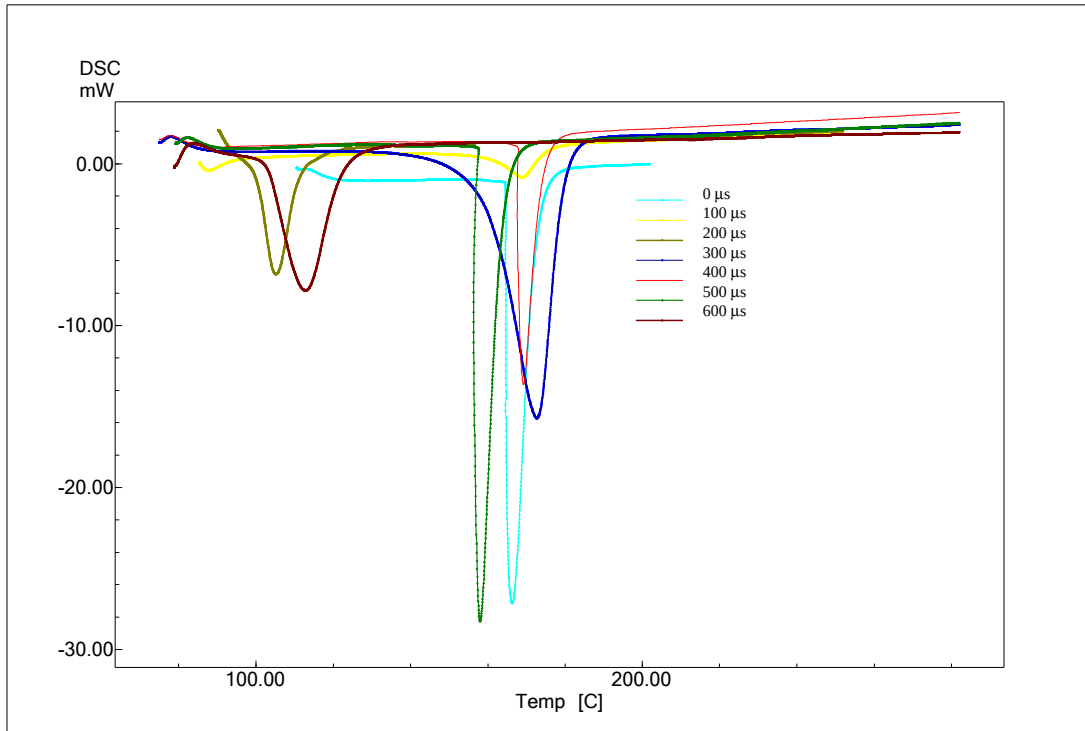
Şekil 4.14. 0.003 $\mu\text{L/mL}$ tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin FT-IR analizi



Şekil 4.15. 0.06 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin FT-IR analizi

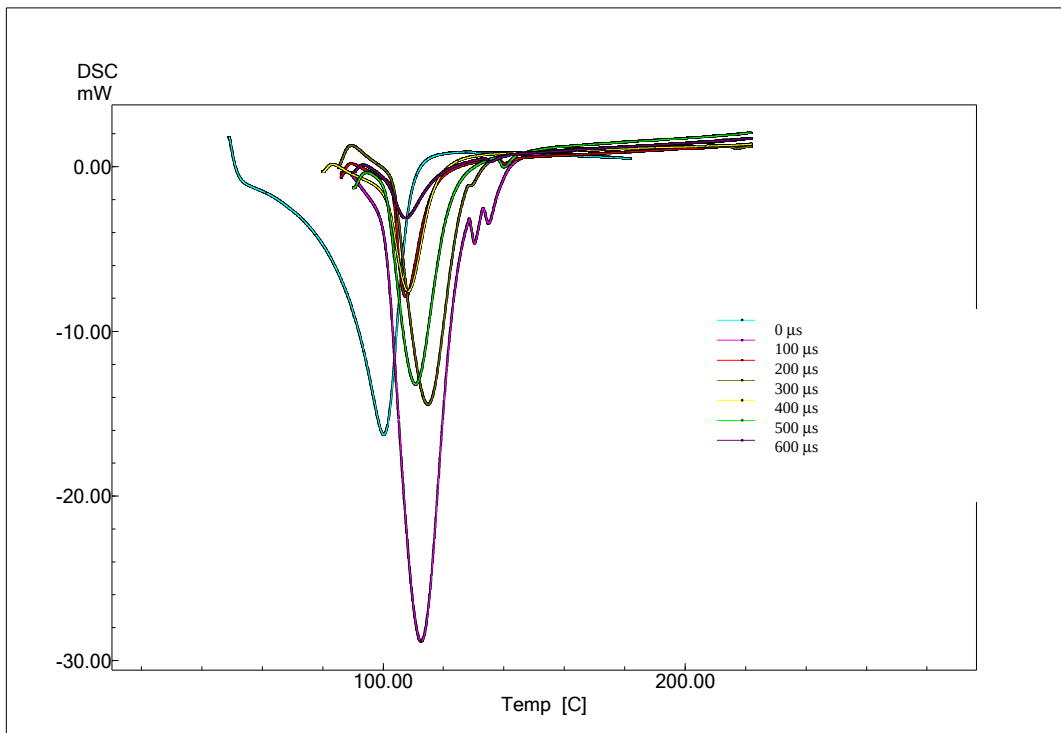


Şekil 4.16. 0.0005 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin DSC analizi



Şekil 4.17. 0.003 µL/mL tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin DSC analizi

DSC ile yapılan analizlerde 0.0005, 0.003 ve 0.06 $\mu\text{L/mL}$ tarçın uçucu yağı eklenen elma suyu örneklerinin artan tarçın uçucu yağı ve uygulama süresine göre geçiş sıcaklıklarında ve geçiş için gerekli olan enerji değerlerinde farklılıklar görünmesine rağmen, bu farklılıklar belirli bir eğilim göstermemiştir. Fakat, kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında PEF ile proses edilen bazı örneklerde geçiş sıcaklığında yükselme gözlenmiştir (Şekil 4.16, 4.17 ve 4.18)



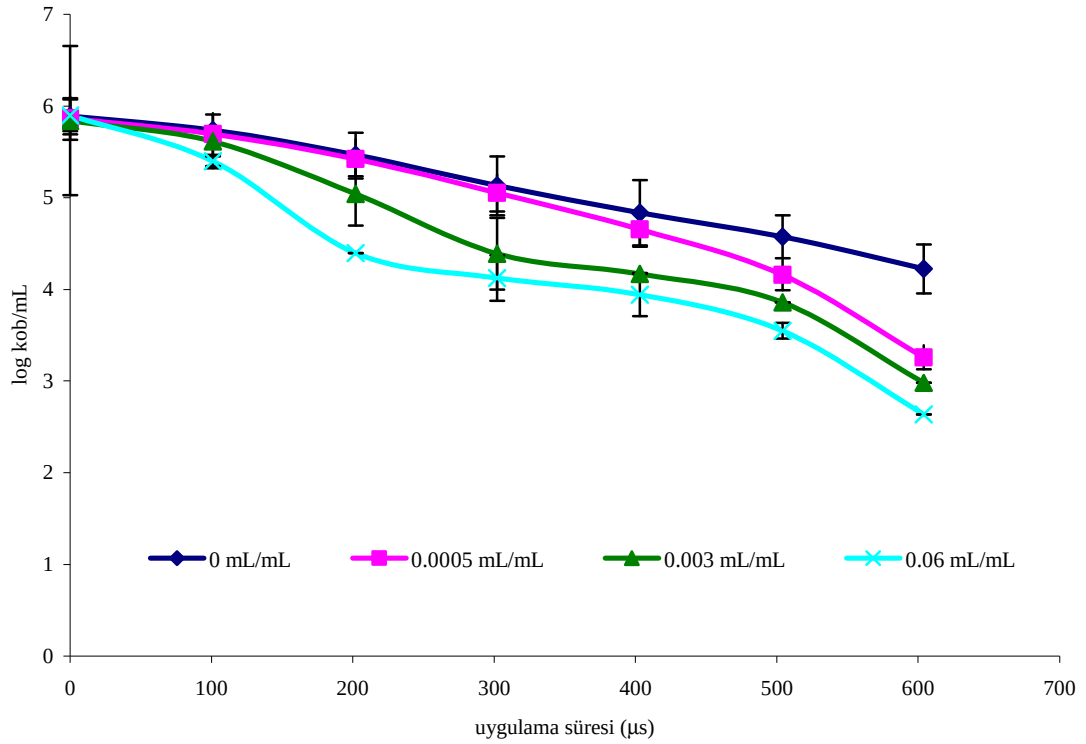
Şekil 4.18. 0.06 $\mu\text{L/mL}$ tarçın uçucu yağı eklenen örneklerin DSC analizi

Uygulama süresi ve tarçın konsantrasyonunun değişken parametreler olduğu atımlı elektrik alan uygulamasının mikrobiyolojik özellikler üzerindeki etkisinin incelendiği bölümde ise elma suyu örnekleri *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 kültürleri ile inoküle edilmiştir. Söz konusu mikroorganizmaların inoküle edildiği 0,

0.0005, 0.003 ve 0.06 $\mu\text{L/mL}$ tarçın esansiyel yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinin her birinde prosesin 0 (kontrol), 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs sürelerde uygulanması sonucunda elde edilen mikrobiyal inaktivasyon kontrol örneklerindeki başlangıç mikroorganizma sayılarıyla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Patojen bir mikroorganizma olan ve elma suyu örneklerine inoküle edilen *L. monocytogenes*'in 101, 202, 302, 403, 504, 604 μs uygulama süreli prosesler öncesinde tarçın konsantrasyonu 0 $\mu\text{L/mL}$ olan kontrol örneklerindeki (0 kV/cm) başlangıç sayısı 5.89 ± 0.19 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Uygulanan 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs proses sürelerinde ise mikroorganizma sayısı sırasıyla 5.73 ± 0.03 , 5.47 ± 0.23 , 5.13 ± 0.32 , 4.83 ± 0.35 , 4.57 ± 0.23 ve 4.22 ± 0.26 olarak ölçülmüştür. Tarçın esansiyel yağı eklenmemiş elma suyu örneklerinde artan uygulama süresi ile birlikte mikroorganizma sayısında azalma görülmüştür. Elma suyuna eklenen tarçın uçucu yağı konsantrasyonu 0.0005 $\mu\text{L/mL}$ iken mikroorganizma sayıları 0, 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μs proses sürelerinde 5.86 ± 0.62 , 5.69 ± 0.87 , 5.42 ± 0.09 , 5.05 ± 0.06 , 4.65 ± 0.00 , 4.15 ± 0.29 ve 3.26 ± 0.00 olarak ölçülmüştür. Bu örneklerde de uygulama süresi artışına bağlı olarak mikroorganizma sayısında düşüş gözlenmiştir. Tarçın uçucu yağı konsantrasyonu 0.003 $\mu\text{L/mL}$ olarak değiştiğinde aynı uygulama süreleri için elma suyu örneklerinin mikroorganizma sayıları 5.83 ± 0.81 , 5.61 ± 0.29 , 5.04 ± 0.34 , 4.38 ± 0.38 , 4.17 ± 0.00 , 3.85 ± 0.00 ve 2.98 ± 0.00 olarak değişmiştir. Tarçın uçucu yağ konsantrasyonu 0.06 $\mu\text{L/mL}$ seviyesinde iken mikroorganizma sayıları yine aynı uygulama sürelerinde 5.90 ± 0.17 , 5.40 ± 0.05 , 4.39 ± 0.00 , 4.00 ± 0.24 , 3.94 ± 0.23 , 3.55 ± 0.08 ve 2.63 ± 0.00 olarak değişmiştir. Yapılan analizler sonucunda her bir uygulama süresi için kıyaslandığında elma suyuna ilave edilen artan tarçın yağı konsantrasyonu ile

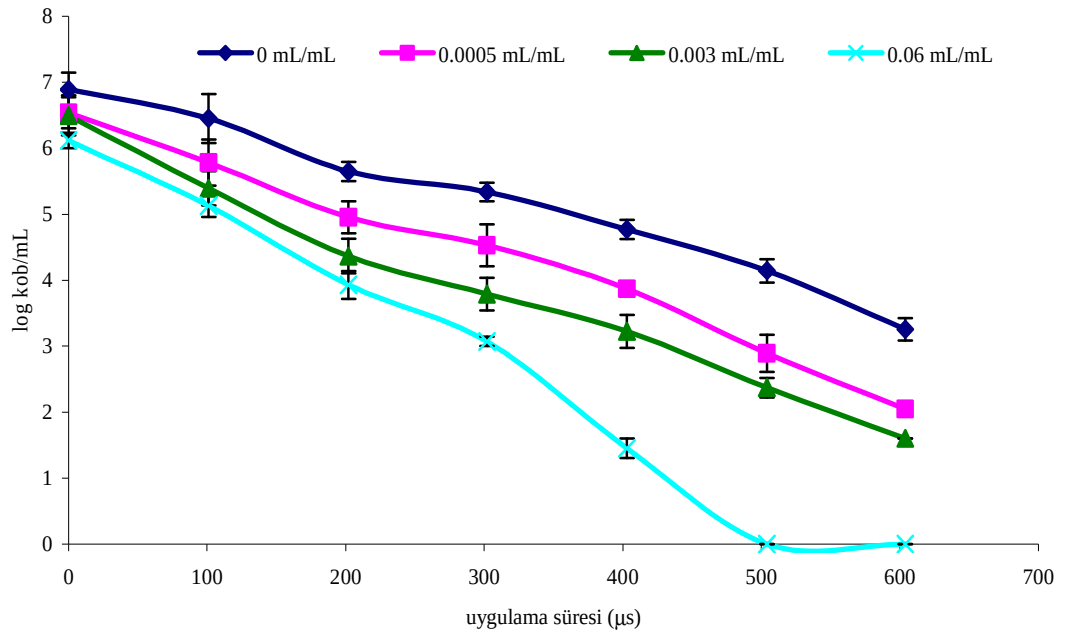
inaktivasyon değerinin tarçın uçucu yağının ilave edilmediği elma suyu örneklerindeki inaktivasyon değerinden çok daha fazla olduğu görülmektedir. Dolayısıyla, elma suyunda artan tarçın uçucu yağ konsantrasyonu PEF prosesinde sinerjestik etki yaratmaktadır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Uygulama süresinin ve tarçın yağı konsantrasyonunun değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş elma suyuna inoküle edilen *L. monocytogenes*'in inaktivasyonu.

Yine *E. coli* O157:H7'nin inoküle edildiği 0, 0.0005, 0.003 ve 0.06 µL/mL tarçın uçucu yağı ilave edilmiş elma suyu kontrol örneklerinin (0 kV/cm) her biri için başlangıç mikroorganizma sayısı sırasıyla 6.89 ± 0.25 , 6.53 ± 0.23 , 6.49 ± 0.30 ve 6.11 ± 0.11 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Tarçın uçucu yağı ilave edilmemiş elma suyu örnekleri 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 µs sürelerinde proses edildiğinde canlı

kalan *E. coli* O157:H7 sayısı sırasıyla 6.45 ± 0.37 , 5.64 ± 0.14 , 5.34 ± 0.13 , 4.76 ± 0.14 , 4.14 ± 0.17 ve 3.25 ± 0.16 log kob/mL olarak ölçülmüştür. Yine aynı proses sürelerinde $0.0005 \mu\text{L/mL}$ tarçın uçucu yağı ilave edilmiş elma suyu örneklerinde canlı kalan mikroorganizma sayıları sırasıyla 5.78 ± 0.34 , 4.95 ± 0.24 , 4.52 ± 0.32 , 3.87 ± 0.11 , 2.89 ± 0.28 ve 2.04 ± 0.00 log kob/mL olarak ölçülmüştür. Tarçın uçucu yağı konsantrasyonu $0.003 \mu\text{L/mL}$ iken aynı uygulama süreleri için canlı kalan mikroorganizma sayısı 5.39 ± 0.26 , 4.36 ± 0.26 , 3.78 ± 0.24 , 3.22 ± 0.25 , 2.37 ± 0.14 ve 1.60 ± 0.00 ; $0.06 \mu\text{L/mL}$ iken ise yine aynı uygulama süreleri için canlı kalan mikroorganizma sayısı 5.12 ± 0.16 , 3.92 ± 0.21 , 3.07 ± 0.07 , 1.45 ± 0.15 , 0 ± 0.00 ve 0 ± 0.00 log kob/mL olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.20. Uygulama süresinin ve tarçın yağı konsantrasyonunun değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş elma suyuna inoküle edilen *E. coli* O157:H7' nin inaktivasyonu.

Tarçın konsantrasyonu ve uygulama süresi artıkça örneklerdeki inaktivasyon oranının kademeli şekilde artış gösterdiği, en yüksek inaktivasyon oranının da tarçın konsantrasyonunun en yüksek olduğu 0.06µL/mL' lik örnek elma suyu örneğinin prosesin en yüksek uygulama süresi esnasında gerçekleştiği görülmüştür. Bu sonuçlara göre elma suyu örneklerine uygulanan proseste uygulama süresi sabitken tarçın yağı konsantrasyonunu artırıldığında canlı mikroorganizma sayısında daha fazla bir düşüş gözlenmiştir. Bu durumda tarçın yağının prosteki sinerjestik etkisinin varlığından söz edilebilir (Şekil 4.20).

5. SONUÇLAR

Atımlı elektrik akımı (PEF) meyve sularının renk, aroma ve besin içeriğinde ısısal yöntemlere kıyasla önemli bir tahribata neden olmayan, bunun yanında meyve sularının muhteviyatındaki patojen ve saprofit mikroorganizmaları inaktive etme başarısını gösteren bir teknolojidir. Bu yönüyle PEF ısısal yöntemlere alternatif teşkil etmektedir.

Meyve sularının (özellikle elma suyu) PEF ile prosesi ile ilgili şimdiye dek yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar sistemin ticari olarak uygulanabilirliğini kanıtlamıştır. Ancak PEF ile birlikte gıda muhafazasında doğal olarak var olan antimikrobiyal maddelerin kullanılması böylece PEF'in etkinliğinin artırılmasına yönelik yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bu nedenle yapılan bu çalışma kapsamında elma suyunun doğal bir antimikrobiyal madde olan tarçın esansiyel yağı ilavesi öncesi ve sonrası PEF ile muamele edilmesi, söz konusu ürünlerde karşılaştırmalı olarak kalite kriterleri ölçümü yapılması ve ürünlere inoküle edilen *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* kültürleri inaktivasyon başarılarının tespit edilmesi hedeflenmiştir.

PEF ile proses edilecek elma suyunun nitelikleri (pH, kondaktivite, °Briks, aroma, renk, vb) ve örneklerle inoküle edilecek mikroorganizmaların inaktivasyon başarısı göz önünde bulundurularak optimum proses faktörleri (değişkenler; uygulama süresi, tarçın esansiyel yağı konsantrasyonu) bulunmuştur. Buna göre elma suyuna ilave edilen tarçın uçucu yağı için 0, 0.06, 0.003 ve 0.0005 µL/mL olmak

üzere dört farklı konsantrasyon belirlenmiş olup, prosesin uygulama süreleri (0, 101, 202, 302, 403, 504 ve 604 μ s) her bir kontrol örneği için bağımsız değişken olarak ele alınmıştır. Dört farklı kontrol örneği içinde proses öncesi ve sonrasında pH, TA, kondaktivite, Briks, renk (L, a ve b); (TCD, hue, chroma), fenolik madde, toplam antioksidan kapasite ölçümleri incelenmiştir. Ayrıca elma suyu örneklerinin FT-IR ve DSC spektrumları da incelenmiştir.

Elde edilen veriler artan uygulama süresi ve tarçın uçucu yağı konsantrasyonunun elma sularındaki pH, TA, °Briks, toplam fenolik madde, toplam antioksidan kapasite ve FT-IR spektralarında üzerinde önemli bir değişime neden olmadığını göstermektedir. Kondaktivite değerinin ise sabit uygulama sürelerinde artan tarçın uçucu yağı konsantrasyonu ile birlikte azaldığı tespit edilmiştir. Renk analizinde artan uygulama süresi ve tarçın konsantrasyonuna bağlı olarak b* değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmez iken; a* değerinde artış, L* değerlerinde ise düşüş gözlenmiştir. Farklılıklar daha çok tarçın uçucu yağından kaynaklanmakta olup artan uygulama süresi önemli bir değişime neden olmamıştır. Örneklerin DSC spektraları uygulama süresi ve tarçın uçucu yağı konsantrasyonuna göre farklılık göstermiş fakat bu farklılık belirli bir eğilim göstermemiştir.

Bununla birlikte yine artan uygulama süresi ve tarçın uçucu yağı konsantrasyonunun örneklere inoküle edilen mikroorganizmaların popülasyonunda önemli derecede düşüşe sebep olduğu görülmüştür. Ayrıca tarçın uçucu yağı ilave edilen elma sularında PEF sonrası mikroorganizma inaktivasyon derecesinin tarçın ilave edilmemiş elma sularındaki mikroorganizma inaktivasyon derecesine göre belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir. *E. coli* O157:H7'nin *L. monocytogenes*'den daha yüksek değerlerde inaktivasyonu PEF in tarçın yağı ile kombine edilmesi ile gerçekleşmiştir. Yapılan bu çalışma ile PEF prosesinin tarçın yağı ile kombine

şekilde kullanımının elma suyunun kalite özellikleri üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye neden olmadığı bunun yanı sıra elma suyunun mikrobiyolojik olarak güvenliği ve gıda kaynaklı patojenlerden kaynaklanan hastalıkların önüne geçilmesi açısından çok daha etkili olduğu ve uygulanan bu tarz bir teknolojinin termal pastörizasyon yöntemlerine karşı iyi bir alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca tarçın yağının elma suyuna ilavesinin aromayı zenginleştirdiği ve kabul edilebilir düzeylerde katıldığında tüketicilerin hoşuna gidecek bir içecek elde edilebileceği görülmüştür.

KAYNAKLAR

Ackermann, J., Fischer, M. and Amado, R. 1992. Changes in sugars, acids, and amino acids during ripening and storage of apples. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 40: 131–134.

Aguilar-Rosas, S. F., Ballinas-Casarrubias, M. L., Nevarez-Moorillon, G. V., Martin-Belloso, O. and 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: 41–46.

Alkhafaji, S. R. 2006. An investigation on the non-thermal pasteurization using pulsed electric fields. The University of Auckland, New Zealand.

Altuntaş, J., Akın, E. ve Evrendilek, G. A., 2008. Atılımlı elektrik akımı: Sistem tasarımı ve mikrobiyal inaktivasyon. *Dünya Gıda Dergisi*, Mart: 78-85.

Alvarez, I., Raso, J., Palop, A. and Sala, F. J. 2000. Influence of different factors on the inactivation of *Salmonella* Senftenberg by pulsed electric fields. *International Journal of Food Microbiology*, 55: 143–146.

Anonim, 2000. Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies-Pulsed Electric Fields. A report of the Institute of Food Technologists for the Food and Drug Administration of the U.S. Department of Health and Human Services. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas> (Erişim: 20.07.2009).

Anonim 2004. Apple- *Malus domestica* Borkh. <http://www.uga.edu/fruit/apple.htm> (Erişim: 15.07.2009).

Anonim, 2007. <http://ohioline.osu.edu/fse-fact/pdf/0001.pdf> (Erişim: 16.06.2009).

Anonim 2008. Dünya Meyve Suyu Sektörüne Bakış. <http://www.meyed.org.tr>. (Erişim: 16.12.2010)

Anonim, 2009a. Pulsed Electric Field Processing.- Wikipedia, the free encyclopedia. http://en.wikipedia.org/wiki/Pulsed_Electric_Field_Processing (Erişim 20.07. 2009)

Anonim, 2009b. Gıda Muhafazasında Yeni Teknolojilerin Kullanımı. Gıda Güvenliği Derneği. <http://ggd.org.tr>. (Erişim 31.08.2009)

Anonim 2010. Pulsed Electric Field Processing Fact Sheet for Food Processors. The Ohio State University Extension. <http://ohioline.osu.edu/fse-fact/0002.html> (Erişim: 10.02.2010).

Aronsson, K. and Ronner, U. 2001. Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields. Innovative Food Science Emerging Technologies, 2: 105–112.

Balla, C. and Farkas, J. 2006. Minimally processed fruits and fruit products and their microbiological safety. In: Hui, Y. H. (eds.). Handbook of fruits and fruit processing. Blackwell Publishing Iowa. pp. 115–128.

Barbosa-Canovas, G. V. 1998. Nonthermal Preservation of Foods. Food Science and Technology. Marcel Dekker, Inc. New York. p.296.

Barbosa-Canovas, G. V., Pothakamury, U. R., Palou, E. and Swanson, B. G. 1998. Nonthermal Preservation of Foods. Marcel Dekker Inc. New York. p.296

Barbosa-Canovas, G. V., Gongora-Nieto, M. M., Pothakamury, U. R. and Swanson, B. G. 1999. Preservation of foods with pulsed electric fields. Academic Pres, London, p. 197.

Barbosa Canovas, G.V., Tapia, M. S. and Cano, M. P. 2005. Novel Food Processing Technologies (eds.). In: Raso, J., Pagan, R. and Condom, S. Nonthermal Technologies in Combination with Other Preservation Factors, 21:453-477.

Barceloux, D. G. 2009. Cinnamon (*Cinnamomum* Species): Medical toxicology of natural substances: Foods, fungi, medicinal herbs, toxic plants, venomous animals. Disease-A-Month, 55: 327-335.

Bendicho, S., Espachs, A., Arantegui, J., and Martin, O. 2002. Effect of high intensity pulsed electric fields and heat treatments on vitamins of milk. *Journal of Dairy Research*. 69: 113-123.

Besser, R. E., Lett, S. M., Weber, J. T., Doyle, M. P., Barret, T. J. and Wells, J. G. 1993. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *Journal of the American Medical Association*, 269: 2217–2220.

Boase, J., Lipsky, S. and Simani, P. 1999. Outbreak of Salmonella serotype Munchen infection associated with unpasteurized orange juice. *Journal of the American Medical Association*, 282: 726–728.

Braakman, L. 2003. Breakthrough in pasteurization: Pulsed electric fields. *Food Engineering Ingredients*, 28(3): 34–35, 37–38.

Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223–253.

Calderon-Miranda, M. L., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 1999a. Inactivation of *Listeria innocua* in skim milk by pulsed electric fields and nisin. *International Journal of Food Microbiology*, 51: 19–30.

Calderon-Miranda, M. L., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G. 1999b. Transmission electron microscopy of *Listeria innocua* treated by pulsed electric fields and nisin in skimmed milk. *International Journal of Food Microbiology*, 51: 31–38.

Castro, A. J., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 1993. Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields. *Journal of Food Processing and Preservation*, 17: 47-73.

Center for Disease Control and Prevention (CDC). 1996a. Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with drinking unpasteurized commercial apple juice. British Columbia, California, Colorado and Washington. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 45: 975.

Center for Disease Control and Prevention (CDC). 1996b. Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection and cryptosporidiosis associated with drinking unpasteurized apple cider. Connecticut and New York. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 46: 4–8.

Center for Disease Control and Prevention (CDC). 2007. Annual listing of foodborne disease outbreaks, United States, <http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks> (Erişim: 20.05.2009).

Cemeroğlu, B. ve Karadeniz, F. 2001. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 2-Meyve Suyu Üretim Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 25: 305-315.

Ceylan, E. and Fung, D.Y. 1999. Cinnamon is a lethal weapon against *E. coli* O157:H7. Presentation at the Institute of Food Technologists Annual Meeting, July 27th.

Ceylan, E., Fung, D. Y. and Sabah, J. R. 2004. Antimicrobial activity and synergistic effect of cinnamon with sodium benzoate or potassium sorbate in controlling *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. *Journal of Food Science*, 69: 102–6.

Charles-Rodriguez, A.V., Nevarez-Moorillon, G. V., Zhang, Q. H. and Ortega-Rivas, E. 2007. Comparison of thermal processing and pulsed electric fields treatment in pasteurization of apple juice. *Food and Bioproducts Processing*, 85: 93–97.

Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F. and Chikindas, M. L. 2001. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71:1-20.

Cserhalmi, Z., Sass-Kiss, A., Tóth-Markus, M. and Lechner, N. 2006. Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7: 49–54.

Cunningham, D. G., Acree, T. E., Barnard, J., Butts, R. M. and Braell, P. A. 1986. Charm analysis of apple volatiles. *Food Chemistry*, 19: 137–147.

Dadalođlu, I. and Evrendilek, G. A. 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 8255-8260.

Daoust, J. Y., Maurer, J. and Bailey, J. S. 2001. *Salmonella* species. In: Doyle, M. P., Beuchat L. R. and Montville, T. D. (eds.) *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, ASM Pres, Washington, DC, p. 141–178.

Dunn, J. E. 1996. Pulsed light and pulsed electric field for foods and eggs. *Poultry Science*, 75(9):1133-1136

Dunn, J. E. and Pearlman, J. S., 1987. Methods and apparatus for extending the shelf life of fluid food products. US Patent, 4: 695,472.

Dunne, C. P., Dunn, J., Clark, W., Ott, T. and Bushnell, A. H. 1996. Application of high energy electric field pulses to preservation of foods for combat rations. *Science and Technology for Force XXI*. Department of the Army. Norfolk, Virginia. June 24-27.

Dutreux, N., Notermans, S., Gongora-Nieto, N. M., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 2000a. Effects of combined exposure of *Micrococcus luteus* to nisin and pulsed electric fields. *International Journal of Food Microbiology*, 60: 147–152.

Dutreux N., Notermans, S., Wijtzes, T., Gongora-Nieto, M. M., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 2000b. Pulsed electric fields inactivation of attached and free-living *Escherichia coli* and *Listeria innocua* under several conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 54: 91-98.

Elez-Martínez, P. and Martín-Belloso, O. 2005. Food safety aspects of pulse electric fields. In: Sun, D. W. (eds.) *Emerging Technologies for food processing*. Academic Pres, Boston, p. 183-218.

EPRI and Army. 1997. Pulsed Electric Field Workshop II: Minutes. Industrial and Agricultural Technologies and Services. Palo Alto, CA.

EPRI. 1998. Pulsed electric field processing in the food industry: a status report on PEF. Report CR-109742. Industrial and Agricultural Technologies and Services. Palo Alto, CA.

Espachs-Barroso, A., Barbosa-Cánovas, G. V. and Martín-Belloso, O. 2003. Microbial and enzymatic changes in fruit juice induced by high-intensity pulsed electric fields. *Food Review International*, 19: 253–273.

European Pharmacopeia. 1975. Volume 3. sayfa 68. Maissonneuve, Sainte-Ruffine.

Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A. 2001. Antibacterial and Antifungal Activity of the Essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 76: 183-186.

Evrendilek, G., Zhang, Q.H. and Richter, E., 1999. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Escherichia coli* 8739 in apple juice by pulsed electric fields, *Journal of Food Protection*, 62(7): 793–796.

Evrendilek, G. A., Jin, Z. T., Ruhlman, K. T., Qin, X., Zhang, Q. H. and Richter, E. R. 2000. Microbial safety and shelf life of apple juice and cider processed by bench and pilot scale PEF systems. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1: 77–86.

Evrendilek, G. A., Yeom, H. W., Jin, Z. T. and Zhang, Q. H. 2004. Safety and quality evaluation of a yogurt-based drink processed by a pilot plant PEF system. *Journal of Food Process Engineering*, 27: 197- 212.

FAO 2003. FAO Crop Database. Food and Agriculture Organization. <http://www.faostat.org> (Erişim: 14.06.2009).

FAO. 2005. Statistical database of the Food and Agricultural Organization, Rome, Italy, www.fao.org (Erişim: 14.06.2009).

Fernandez-Molina, J. J., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 2005. Skim milk processing by combining pulsed electric fields and thermal treatments. *Journal of Food Processing and Preservation*, 29 (5-6): 291-306

Fiala, A., Wouters, P. C., van den Bosch, E. and Creyghton, Y. L. M. 2001. Coupled electrical-fluid model of pulsed electric field treatment in a model food system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2: 229–238.

Ganzle, M.G., Weber, S. and Hammes, W.P., 1999. Effect of ecological factors on the inhibitory spectrum and activity of bacteriocins. *International Journal of Food Microbiology*, 46: 207– 217.

Garcia, D., Gomez, N., Condon, S., Raso, J. and Pagan R. 2003. Pulsed electric fields cause sublethal injury in *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, 36: 140–144.

Garcia, D., Gomez, N., Raso, J. and R. Pagan, P. 2005. Bacterial resistance after pulsed electric fields depending on the treatment medium pH. *Innovative Food Science Emerging and Technologies*, 6: 388–395.

Gaskova, D., Sigler, K., Janderova, B. and Plasek, J. 1996. Effect of high-voltage electric pulses on yeast cells: Factors influencing the killing efficiency. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 39: 195-202.

Gill, A. O. and Holley, R. A., 2004. Mechanism of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 5750–5755.

Gill, A. O. and Holley, R. A., 2006. Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *International Journal of Food Microbiology*, 108:1–9.

Gould, G. W. 1996. Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *Journal of Food Protection*. 1: 82-86.

Görsel, H., Li Chingying, Eduardo L., Kerbel, Smits, Mirjam and Kader A.A. 1992. Compositional characterization of prune juice. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 40: 784–789.

Gupta, B. S., Masterton, F. and Magee, T. R. A. 2003. Inactivation of *E. coli* K12 in apple juice by high voltage pulsed electric field. *European Food Research and Technology*, 217: 434–437.

Harrison, S. L., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 1997. *Saccharomyces cerevisiae* structural changes induced by pulsed electric field treatment. *Lebensm-Wiss-Technology*, 30: 236–240.

Hauben, K. J. A., Wuytack, E. J., Soontjens, C. F. and Michiels, C. W. 1996. High-pressure transient sensitization of *Escherichia coli* to lysozyme and nisin by disruption of outer-membrane permeability. *Journal of Food Protection*, 59:350–355.

Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I. and Smid, E. J. 1998. Characterization of the action of selected essential oils components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 3590–3595.

Ho, S. Y., Mittal, G. S., Cross, J. D. and Griffiths, M. W. 1995. Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* by high voltage electric pulses. *Journal of Food Science*, 60(6):1337-1343

Ho, S. Y., Mittal, G. S. and Cross, J. D. 1997. Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes. *Journal of Food Engineering*, 31(1):69-84

Hodgins, A. M., Mittal, G. S. and Griffiths, M.W. 2002. Pasteurization of fresh orange juice using low-energy pulsed electrical field. *Journal of Food Science*, 67: 2294–2299.

Huang, K. and Wang, J. 2009. Designs of pulsed electric fields treatment chambers for liquid foods pasteurization process: review. *Journal of Food Engineering*, 95: 227-239.

Hui, Y.H. 2006. Handbook of Fruits and Fruit Processing. In: Sinha, N.K. (eds.) Apples. Blackwell Publishing, 16: 265-278.

Hülshager, H. and Nieman, E. G. 1980. Lethal effect of high-voltage pulses on *E. coli* K12. *Radiation and Environmental Biophysics*, 18(4):281-8.

Hülshager, H., Pottel, J. and Niemann, E. G. 1983. Electric field effects on bacteria and yeast cells. *Radiation and Environmental Biophysics*, 22: 149-162.

Iu, J., Mittal, G. S. and Griffiths, M. W. 2001. Reductions in levels of *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider by pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*, 64: 964–969.

Jacob, H. E., Forster, W. and Berg, H. 1981. Microbial implications of electric field effects. II. Inactivation of yeast cells and repair of their cell envelope. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie*, 21(3):225-232.

Jayaram, S., Castle, G. S. P. and Margaritis, A. 1992. Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* cells by the application of high voltage pulses. *Biotechnology and Bioengineering*, 40(11):1412-1420

Jeyamkondan, S., Jayas, D. S. and Holley, R. A. 1999. Pulsed electric field processing of foods: a review. *Journal of Food Protection*, 62: 1088-1096.

Jia, M., Zhang, Q. H. and Min, D. B. 1999. Pulsed electric field processing effects on flavor compounds and microorganisms of orange juice. *Food Chemistry*, 65: 445–451.

Ka, H., Park, H. and Jung, H. J. 2003. Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Cancer Letters*, 196:143-152.

Kalchayanand, N., Sikes, T., Dunne, C.P. and Ray, B. 1994. Hydrostatic pressure and electroporation increased bactericidal efficiency in combination with bacteriocins. *Applied and Environment Microbiology*, 60: 4174–4177.

Kalchayanand, N., Sikes, A., Dunne, C.P. and Ray, B. 1998. Interaction of hydrostatic pressure, time and temperature of pressurization and pediocin AcH on inactivation of foodborne bacteria. *Journal of Food Protection*, 61: 425–431.

Kinosita, K. J. and Tsong, T. Y. 1977. Voltage induced pore formation and haemolysis erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 471: 227-242.

Kinosita, K. J. and Tsong, T. Y. 1979. Voltage-induced conductance in human erythrocyte membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 554: 479-497.

Knorr, D., Geulen, M., Grahl, T. and Sitzmann, W., 1994. Food application of high voltage field pulses. *Trends in Food Science and Technology*, 5: 71–75.

Lado, B. H. and Yousef, A. E. 2002. Alternative food-preservation technologies: Efficacy and mechanisms. *Microbes and Infections*, 4: 433–440.

Liang, Z., Mittal, G. S. and Griffiths, M. W., 2002. Inactivation of *Salmonella* Typhimurium in orange juice containing antimicrobial agents by pulsed electric field. *Journal of Food Protection*, 65: 1081– 1087.

Liu, X., Yousef, A. E. and Chism, G. W. 1997. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by the combination of organic acids and pulsed electric fields. *Journal of Food Safety*, 16: 287–299.

Lopez, M. L., Lavilla, M. T., Recasens, I., Graell, J. and Vendrell, M. 2000. Changes in aroma quality of Golden Delicious apples after storage at different oxygen and carbon dioxide concentrations. *Journal of Science Food and Agriculture*, 80: 311–324.

Love, P. 1998. Correlation of fourier transforms of pulsed electric field waveform and microorganism inactivation. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 5(1):142-147.

Ma, L., Chang, F. J. and Barbosa-Cánovas, G. V. 1997. Inactivation of *E. coli* in liquid whole eggs using pulsed electric fields technologies. New frontiers in food engineering. Proceedings of the Fifth Conference of Food Engineering. American Institute of Chemical Engineers, p. 216-221.

Masschalck, B., Garcia-Graells, C., Van Haver, E. and Michiels, C. W. 2001. Inactivation of high pressure resistant *Escherichia coli* by lysozyme and nisin under high pressure. Innovative Food Science and Emergency Technologies, 1: 39-49.

Masschalck, B., Van Houdt, R., Van Haver, E. G. R. and Michiels, C. W. 2001a. Inactivation of gram-negative bacteria by lysozyme, denatured lysozyme, and lysozyme-derived peptides under high hydrostatic pressure. Applied and Environmental Microbiology, 67: 334-339.

Masschalck, B., Van Houdt, R. and Michiels, C. W. 2001b. High pressure increases bacterial activity and spectrum of lactoferrin, lactoferricin and nisin. International Journal of Food Microbiology, 64: 325-332.

Martin, O., Qin, B.L., Chang, F.J., Barbosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G. 1997. Inactivation of *Escherichia coli* in skim milk by high intensity pulsed electric fields. Journal of Food Process Engineering, 20 (4): 317-336.

Marquez, V. O., Mittal, G. S. and Griffiths, M. H. 1997. Destruction and inhibition of bacterial spores by high voltage pulsed electric field. Journal of Food Science, 62: 399-409.

McDonald, C. J., Lloyd, S. W., Vitale, M. A., Peterson, K. and Inning, F. 2000. Effects of pulsed electric fields on microorganisms in orange juice using electric fields strengths of 30 and 50 kV/cm. Journal of Food Science, 65: 984-989.

Mertens, B. and Knorr, D. 1992. Development of non-thermal processes for food preservation. Food Technology, 46: 124-133.

Michalac, S. L., Alvarez, V. B., and Zhang, Q. H. 1999. Microbial reduction in skim milk using PEF technology. IFT meeting. Chicago, IL, USA.

Min, S., Laura, R. and Zhang, Q. H. 2002. Water activity and the inactivation of *Enterobacter cloacae* inoculated in chocolate liquor and a model system by pulsed electric field treatment, Journal of Food Processing Preservation, 26: 323-337.

Min, S., Evrendilek, G. A. and Zhang, H. Q., 2007. Pulsed electric fields: processing system, microbial and enzyme inhibition, and shelf life extension of foods. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 35 (1): 59–73.

Mittal, G. S. 1998. A new approach to enhance efficiency of PEF treatments, IFT Annual Meeting, Atlanta, USA.

Mittal, G. S. and Griffiths, M. W. 2005. Pulsed electric field processing of liquid foods and beverages. In: Sun, D. W. (eds.) *Emerging technologies for food processing*, Boston, Academic Pres, p. 99-139.

Moon, J. H. and Terao, J. 1998. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydro caffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 5062-5065.

Murcia, M.A., Egea, I. and Romojaro, F. 2004. Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 52: 1872-1881.

Mosqueda-Melgar, J., Raybaudi-Massilia, R. M. and Martín-Belloso, O. 2007. Non-thermal pasteurization of fruit juices by combining high-intensity pulsed electric fields with natural antimicrobials. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 328–340.

Mosqueda-Melgar, J., Raybaudi-Massilia, R. M. and Martín-Belloso, O. 2008. 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: 192–200.

Moyer, J. C. and Aitken, H. C. 1980. Apple juice, In: Nelson, P.E. and Tressler, D.K. (eds.) *Fruit and Vegetable Juice Processing Technology*, p. 212–267.

Narsetti, R., Curry, R. D., McDonald, K. F., Clevenger, T. E. and Nichols, L. M., 2006. Microbial inactivation in water using pulsed electric fields and magnetic pulse compressor technology. *IEEE Transaction on Plasma Science*, 34 (4): 1386–1393.

Ogawa, H., Fukuhisa, K., Kubo, Y. and Fukumoto, H. 1990. Pressure inactivation of yeast, molds, and pectinesterase in satsuma mandarin juice: Effects of juice concentration, pH, and organic acids, and comparison with heat sanitation. *Agricultural Biological Chemistry*, 54: 1219–1225.

Ortega-Rivas, E., Zarate-Rodriguez, E. and Barbosa-Canovas, G. V. 1998. Apple juice pasteurization using ultrafiltration and pulsed electric fields. *Food and Bioproducts Processing*, 76: 193–198.

Ouattara, B., Simard, R. E. and Holley, R. A. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37: 155-162.

Oussalah, M., Caillet, S. and Lacroix, M., 2006. Mechanism of action Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membrane and walls of *E. coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal Food Protection*, 69: 1046–55.

Oxen, P. and Knorr, D. 1993. Baroprotective effects of high solute concentrations against inactivation of *Rhodotorula rubra*. *Lebensm-Wiss Technology*, 26: 220–223.

Food and Drug Administration. 2002. Exemptions from the warning label requirement for juice-Recommendations for effectively achieving a 5-log reduction. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/juicgui2.html> Accessed February 21, 2007.

United States Department of Agriculture (USDA) 2003. National Nutrient Database. <http://www.nal.usda.gov/fnic/food> (Erişim: 10.04.2009).

Pagan, R., Manas, P., Alvarez, I. and Condon, S. 1999. Resistance of *Listeria monocytogenes* to ultrasonic waves under pressure at sublethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures. *Food Microbiology*, 16: 139–148.

Palou, E., Lopez-Malo, A., Barbosa-Canovas, G. V., Welti-Chanes, J. and Swanson, B.G. 1997. Combined effect of high hydrostatic pressure and water activity on *Zygosaccharomyces bailii* inhibition. *Letters in Applied Microbiology*, 24: 417–420.

Parish, M. E. 1997. Public health and non-pasteurized fruit juices. *Critical Reviews in Microbiology*, 23: 109–119.

Picart, L., Dumay, E., Mu, T. H., Regnault, S., Thiebaud, M. and Cheftel, J. C. 2001. Effects of pulsed electric fields on *Listeria innocua* and protein constituents in dairy fluids. *EUROCAFT*.

Pol, I. E., Mastwijk, H. C., Bartels, P. V. and Smid, E. J. 2000. Pulsed-electric field treatment enhances the bactericidal action of nisin against *Bacillus cereus*. *Applied in Environment Microbiology*, 66: 428–430.

Pothakamury, U. R., Vega, H., Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 1996. Effect of growth stage and processing temperature on the inactivation of *E. coli* by pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*, 59: 1167–1171.

Powell, D. and Leudtke, A. 2000. Fact sheet: A timeline of fresh juice outbreaks. University of Guelph. <http://www.plant.uoguelph.ca>.

Prasad, N. S., Raghavendra, R. and Lokesh, B. R. 2004. Spice phenolics inhibit human PMNL 5-lipoxygenase. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 6: 521-528.

Rachana S., and Gupta D. K. 2010. Utilization of pomace from apple processing industries: a review *Journal of Food Science and Technology*, 47(4):365–371.

Raso, J., Calderon, M. L., Gongora, M., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 1998a. Inactivation of mold ascospores and conidiospores suspended in fruit juices by pulsed electric fields. *Lebensm-Wiss Technology*, 31: 668–672.

Raso, J., Barbosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G. 1998b. Sporulation temperature affects initiation of germination and inactivation by high hydrostatic pressure of *Bacillus cereus*. *Journal of Applied Microbiology*, 85: 17–24.

Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J. and Martín-Belloso, O. 2006. Inactivation of *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis* and *L. monocytogenes* by combining of high-intensity pulsed electric fields and malic acid in apple juice. *Workshop on Applications of novel technologies in food and biotechnology*, Cork, Ireland, p. 11–13.

Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., Soliva-Fortuny, R. and Martin-Belloso, O. 2009. Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8: 157-176.

Reina, L. D., Jin, Z. T., Zhang, Q. H. and Yousef, A. E. 1998. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in milk by pulsed electric field. *Journal of Food Protection*, 61: 1203–1206.

Roberta Lee, M. D. and Michael J. B., 2005. Sweet Wood-Cinnamon and its importance as a spice and medicine. *Ethnomedicine*, 1: 63-64.

Ruhlman, K. T., Jin, Z. T. and Zhang, Q. H. 2001. Physical properties of liquid foods for pulsed electric field treatment. In: Barbosa- Canovas G. V. and Zhang, Q. H. (eds.) *Pulsed Electric Fields in Food Processing: Fundamental Aspects and Application*, p. 45–56.

Qin, B., Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G. and Pedrow, P. D. 1994. Inactivation of microorganisms by pulsed electric fields of different voltage waveforms. *IEEE Transactions on Dielectric Electric Insulation*, 1: 1047–1050.

Qin, B. L., Pothakamury, U. H., Vega, H., Martin, O., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 1995a. Food pasteurization using high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Technology*, 49(12): 55-60.

Qin, B., Chang, F., Barbosa-Cánovas, G. V. and Swanson, B. G. 1995b. Nonthermal inactivation of *S. cerevisiae* in apple juice using pulsed electric fields. *Lebensm Wiss Technology*, 28(6):564-568.

Qin, B. L., Zhang, Q. H., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G. and Pedrow, P. D. 1995c. Pulsed electric field treatment chamber design for liquid food pasteurization using a finite element method. *Transactions of the ASAE*, 38(2): 557-565.

Qin, B. L., Pothakamury, U. R., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 1996. Nonthermal pasteurization of liquid foods using high-intensity pulsed electric fields. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36: 603-627.

Qin, B. L., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G. and Pedrow, P. D. 1998. Inactivating microorganism using a pulsed electric field continuous treatment system. *IEEE Trans Industrial Application*, 34(1):43-49.

Quass, D. W. 1997. Pulsed electric field processing in the food industry. A status report on PEF. Palo Alto, CA. Electric Power Research Institute. CR-109742.

Saftner, R. A. 1999. The potential of fruit coating and film treatments for improving the storage and shelf-life quantiles of “Gala” and “Golden Delicious” apples. *Journal of American Society for Horticulture Science*, 124 (6): 682–689.

Sale, A. J. H. and Hamilton, W. A. 1967a. Effects of high electric fields on microorganisms I. Killing of bacteria and yeast. *Biochimica et Biophysica Acta*, 148: 781-788.

Sale, A.J.H., Hamilton, W.A., 1967b. Effects of high electric fields on microorganisms: II. Mechanism of action of the lethal effect. *Biochimica et Biophysica Acta*, 148 (3): 789–800.

Schoenbach, K. H., Peterkin, F. E., Alden, R. W. and Beebe, S. J. 1997. The effect of pulsed electric fields on biological cells: Experiments and applications. *IEEE Trans Plasma Science*, 25(2): 284-292.

Simpson, M. V., Barbosa-Canovas, G. V. ve Swanson, B.G., 1995. The combined inhibitory effect of lysozyme and high voltage pulsed electric fields on the growth of *Bacillus subtilis* spores. Institute Food Technologists Annual Meeting: Book of Abstracts. 267, Anaheim, CA, USA.

Singh, H.B., Srivastava, M. and Singh, A.B. 1995. Cinnamon bark oil, a potent fungitoxicant against fungi causing respiratory tract mycoses. *Journal of Allergy*, 50: 995-999.

Sitzmann, W. 1994. High-voltage pulse techniques for food preservation. In: Gould, G. W. (eds.) *New Methods of Food Preservation*. Glasgow: Blackie Academic and Professional, p. 236-250.

Smith, K., Mittal, G. S. and Griffith, M. W. 2002. Pasteurization of milk using pulsed electric field and antimicrobials. *Journal of Food Science*, 67: 2304–2308.

Sobrino-Lopez, A. and Martín-Belloso, O. 2006. Enhancing inactivation of *Staphylococcus aureus* in skim milk by combining high-intensity pulsed electric fields and nisin. *Journal of Food Protection*, 69: 345–353.

Spanos, G. A. and Wrolstad, R. E. 1990. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 38: 1565-1571.

Tsong, T. Y. 1990. Electrical modulation of membrane proteins: Enforced conformational oscillations and biological energy signals. *Annual Review of Biophysic Chemistry*, 19: 83-106.

Wendakoon, C.N. and Sakaguchi, M., 1995. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection*, 58: 280–3.

Wouters, P.C., Alvarez, I. and Raso, J. 2001a. Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing. *Trends in Food Science Technology*, 12: 112–121.

Wouters, P. C., Bos, A.P. and Ueckert, J. 2001b. Membrane permeabilization in relation to inactivation kinetics of *Lactobacillus* species due to pulsed electric fields. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 3092–3101.

Vega-Mercado, H., Martin-Belloso, O., Chang, F.-J., Barbosa-Cánovas, G. V. and Swanson, B. G. 1996a. Inactivation of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* suspended in pea soup using pulsed electric fields. *Journal of Food Process Preservation*, 20(6):501-510.

Vega-Mercado, H., Pothakamury, U. R., Chang, F.-J., Barbosa-Cánovas, G. V. and Swanson, B. G. 1996b. Inactivation of *Escherichia coli* by combining pH, ionic strength and pulsed electric fields hurdles. *Food Research International*, 29(2):117-121.

Vega-Mercado, H., Martin-Belloso, O., Quin, B. L., Chang, F. J., Gongora-Nieto, M., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B. G. 1997. Non-thermal food preservation: Pulsed electric fields. *Trends in Food Science and Technology*, 8: 151-156.

Yeom, H. W., Streaker, C. B., Zhang, Q. H. and Min, D. B. 2000. Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4597–4605.

Yuste, J. and Fung, D.Y.C., 2002. Inactivation of *Listeria monocytogenes* Scott A 49594 in apple juice supplemented with cinnamon. *Journal of Food Protection*, 65: 1663–6.

Zarate-Rodriguez, E., Ortega-Rivas, E. and Barbosa-Canovas, G. V. 2000. Quality changes in apple juice as related to nonthermal processing. *Journal of Food Quality*, 23: 337–349.

Zimmermann, U. and Benz, R. 1980. Dependence of the electrical breakdown voltage on the charging time in *Valonia utricularis*. Journal of Membrane Biology, 53: 33-43.

Zimmermann, U. 1986. Electrical breakdown, electropermeabilization and electrofusion. Physiological Biochemistry Pharmacology, 105: 175-256.

Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V. and Swanson, B.G. 1995a. Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. Journal Food Engineering, 25: 261–281.

Zhang, Q. H., Qin, B., Barbosa-Cánovas, G. V. and Swanson, B. G. 1995b. Inactivation of *E. coli* for food pasteurization by high-strength pulsed electric fields. Journal of Food Process Preservation, 19(2): 103-118.

Zhang, Q. H., Qiu, X. and Sharma, S. K. 1997. Recent development in pulsed electric field processing. Washington, DC. National Food Processors Association. New Technologies Yearbook, p. 31-42.

Zhong, K., Chen, F., Wu, J., Wang, Z., Liao, X. and Hu, X. 2005. Kinetics of inactivation of *Escherichia coli* in carrot juice by pulsed electric fields. Journal of Food Process Engineering, 28: 595–609.