

**T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAZE SIKILMIŞ PORTAKAL SUYUNDA BOZULMA ETMENİ  
OLAN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ÜZERİNE ELEKTRİK  
ALAN VE NATAMİSİN KOMBİNASYONLARININ  
UYGULAMALARI**

**Sinan AKBAL**

**Danışman  
Prof. Dr. Pervin BAŞARAN AKOÇAK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
ISPARTA - 2017**



© 2017 [Sinan AKBAL]

## TEZ ONAYI

**Sinan AKBAL** tarafından hazırlanan **Taze sıkılmış portakal suyunda bozulma etmeni olan *Saccharomyces cerevisiae* üzerine elektrik alan ve natamisin kombinasyonlarının uygulamaları** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

**Danışman**

**Prof. Dr. Pervin BAŞARAN AKOÇAK**  
Süleyman Demirel Üniversitesi



**Jüri Üyesi**

**Yrd.Doç.Dr. Alper KUŞÇU**  
Süleyman Demirel Üniversitesi



**Jüri Üyesi**

**Yrd.Doç.Dr. Melike BARAN EKİNCİ**  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



**Enstitü Müdürü Prof. Dr. Yasin TUNCER**

.....

## **TAAHHÜTNAME**

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

**Sinan AKBAL**



# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER .....	i
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	3
2.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ile ilgili bilgiler.....	3
2.2. Natamisin .....	4
2.3. Darbeli Elektrik Alan Teknolojisi .....	9
2.3.1. Darbeli Elektrik Alan Teknolojisi ile ilgili genel bilgiler.....	9
2.3.2. Darbeli elektrik alanın hücre üzerine etkisi .....	10
2.3.3. Darbeli elektrik alanı etkileyen başlıca faktörler .....	11
2.3.4. Darbeli Elektrik Alan ile ilgili kaynak özetleri .....	13
3. MATERYAL VE METOT .....	17
3.1. Materyal.....	17
3.1.1. Portakal suyunun hazırlanışı.....	17
3.1.2. Besiyerlerinin hazırlanışı.....	17
3.1.3. Dilüsyon çözeltilesinin hazırlanışı .....	18
3.1.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 'nin canlandırılması.....	18
3.2. Metot.....	19
3.2.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 'nin portakal suyuna inokülasyonu.....	19
3.2.2. İnoküle portakal suyuna DEA ön uygulamaları.....	19
3.2.3. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi .....	20
3.2.4. DEA ve Natamisin muamelesi kombinasyonlarının inoküle portakalsuyuna uygulaması .....	21
3.2.5. İnoküle portakal suyunun farklı sıcaklık uygulamaları ve farklı konsantrasyonlarda natamisin ile muamelesi .....	22
3.2.6. Kalite analizleri.....	25
3.2.7. İstatistiksel analiz.....	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	29
4.1. Mikrobiyolojik sonuçlar .....	29
4.1.1. Portakal suyuna inoküle edilen <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i> 'nin mikrobiyolojik sayımı ve gelişimi.....	29
4.1.2. İnoküle portakal suyuna DEA ön uygulamalarının sonuçları ...	29
4.1.3. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesinin sonuçları.....	31
4.1.4. DEA muamelesi ve farklı konsantrasyonlarda Natamisin kombinasyonlarının inoküle portakal suyuna uygulanmasının sonuçları .....	38

4.1.5. İnoküle portakal suyunda sıcaklık uygulamaları ve farklı konsantrasyonlarda natamisin ile muamelesinin sonuçları.....	45
4.2. Kalite analiz sonuçları.....	50
4.2.1. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda pH tayini sonuçları .....	50
4.2.2. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda titrasyon asitliği tayini sonuçları .....	51
4.2.3. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda renk değerleri.....	52
4.2.4. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda °briks tayini sonuçları .....	54
4.2.5. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda askorbik asit (C vitamini) miktarı .....	55
4.2.6. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda Hidroksimetilfurfural (HMF) miktarı .....	57
4.2.7. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda toplam fenolik madde miktarı .....	58
4.2.8. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunun antioksidan aktivitesi .....	59
5. SONUÇ.....	61
KAYNAKLAR .....	64
ÖZGEÇMİŞ .....	74

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

## **TAZE SIKILMIŞ PORTAKAL SUYUNDA BOZULMA ETMENİ OLAN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ÜZERİNE ELEKTRİK ALAN VE NATAMİSİN KOMBİNASYONLARININ UYGULAMALARI**

**Sinan AKBAL**

**Süleyman Demirel Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Pervin BAŞARAN AKOÇAK**

Turunçgil suları yüksek seker içeriğine sahip asidik (pH 3-5) gıdalardır. Mayalar yüksek osmotik ve düşük pH koşullarını tolere edebilir ve düşük sıcaklıklarda gelişebilirler, bu nedenle mayalar turunçgil sularında bozulma yapabilirler. Bu bozulmalar renk ve besin kaybı olmadan önlenmelidir. Her ne kadar ısı işlemler mikrobiyal gelişimi önlesede son üründe besin ve renk kayıplarına neden olmaktadır. Bu yüzden elektrik alan, ultrason ve yüksek hidrostatik basınç gibi ısı olmayan işlemler ve doğal antimikrobikler bu amaç doğrultusunda kullanılabilir. Bu çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* ve portakal suyunun kalite özellikleri üzerine darbeli elektrik alan ve natamisin uygulamalarının etkisi incelenmiştir. *S. cerevisiae* öncelikle portakal suyuna inoküle edilmiştir (yaklaşık olarak 7,14 kob/ml). 1800 ile 2500 volt elektrik alan şiddeti (13µs-50hz dalga boyunda) inoküle portakal suyuna kesikli olarak (dakikada 1 atım) 5,10 ve 15 dakika uygulandı. 2500 volt-15 dk uygulaması *S. cerevisiae* sayısını yaklaşık olarak 2,5 log azaltma sağladı. Elektrik alan (2500 volt-15 dk) uygulandıktan sonra inoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilave edildi (6, 12, 25 ve 50 mg/L). İşlem görmüş ve görmemiş portakal suları buzdolabı koşullarında 15 gün depolandı. 2500 volt-15 dk ve 25 ppm natamisin uygulaması depolama sonunda *S. cerevisiae* sayısında 5,1 log azalma görüldü (p<0,05). Ayrıca tüm örneklerin pH, titrasyon asitliği, renk, °briks, fenolik madde, askorbik asit, antioksidan aktivite ve hidroksimetilfulfural miktarı gibi kalite özellikleri karşılaştırıldı. İşlem görmüş ve görmemiş örneklerin askorbik asit, fenolik madde ve renk aktivitelerinde küçük bir farklılık meydana gelirken pH, toplam asitlik, °briks, antioksidan ve HMF değerlerinde herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Natamisin, elektrik alan, *S. cerevisiae*

**2017, 74 sayfa**

## **ABSTRACT**

**M.Sc. Thesis**

### **APPLICATIONS OF ELECTRIC FIELD AND NATAMYCIN COMBINATIONS ON *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* SPOILAGE IN FRESH ORANGE JUICE**

**Sinan AKBAL**

**Süleyman Demirel University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering**

**Supervisor: Prof. Dr. Pervin BAŞARAN AKOÇAK**

Citrus juices are acidic beverages (ca. pH 3 to 5) with high sugar content. Yeasts can tolerate high osmotic and low-pH conditions and grow at refrigeration temperatures and so they can cause spoilage in citrus juice. This spoilage must be prevented without loss of color and nutrients. Although thermal treatment prevents the growth of microorganisms, it causes the loss of nutrients and color in the final product. Therefore nonthermal treatment such as electric field, ultrasound and high hydrostatic pressure processing and natural chemicals can be used for this purpose. In this study, combination of pulsed electric field and natamycin application effects on *Saccharomyces cerevisiae* spoilage and quality characteristics of orange juice has been examined. *S. cerevisiae* was first incubated (approximately 7.14 kob/ml) in freshly squeezed orange juice. 1800 to 2500 volts electric field intensity (13  $\mu$ s-50 hz wave frequency) was applied intermittently (1 pulse per minute) for 5, 10 and 15 minutes in the inoculated orange juice. The application of 2500 volts-15 minutes provided approximately a 2.5 log reduction in the number of *S. cerevisiae*. Natamycin was added to the inoculated orange juice at different concentrations (6, 12, 25 ve 50 mg/L) after the electric field applied (2500 volts-15 min). Treated and untreated orange juice samples were stored for 15 days under refrigerator conditions. The application of 2500 volts-15 min and 25 ppm natamycin at the end of storage resulted in a total of 5.1 log reduction in the number of *S. cerevisiae* ( $p < 0.05$ ). Also the quality parameters of all samples such as pH, °brix, color, phenolic compound, ascorbic acid, antioxidant and hydroxymethylfulfural were compared. A small difference was observed in the content of ascorbic acid, phenolic substance and color, while no significant difference was observed in the pH, total acidity, antioxidant, °brix and HMF values of the treated and untreated samples.

**Keywords:** Natamycin, Electric Field, *S.cerevisiae*

**2017, 74 pages**



## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın planlanmasında, yürütülmesinde ve sonuçlanmasında beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları aşmakta bilgi ve tecrübesi ile yardımcı olan değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Pervin BAŞARAN AKOCAK'a teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen, değerli hocam Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Bölüm Başkanı Prof. Dr. Zübeyde ÖNER 'e teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Çalışmamda kullandığım mikroorganizmanın temini için yardımcı olan sayın Yrd. Doç. Dr. Arzu KART hocama teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca ihtiyacım olan eksik malzemelerin temininde hiçbir yardımı esirgemeyen; sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Alper KUŞÇU ve doktora öğrencileri Salih EROĞLU ve Özcan BULANTEKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın ve hayatımın her aşamasında her zaman bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Ayşe Mine SARIDAĞ'a teşekkür ederim.

Ayrıca iyi ve kötü günlerimde her daim yanımda olan bana her türlü maddi ve manevi desteği sağlayan, biricik aileme sonsuz teşekkür ederim.

Sinan AKBAL  
ISPARTA, 2017

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Natamisin'in moleküler yapısı .....	5
Şekil 2.2. Hücrenin düzgün alanda elektriksel yüklenmesi.....	10
Şekil 2.3. Hücre zarının elektroporasyonu .....	11
Şekil 3.1. <i>S. cerevisiae</i> 'nin mikroskop görüntüsü .....	18
Şekil 3.2. Elektroporatör ve elektroporasyon küveti .....	20
Şekil 3.3. İnoküle portakal suyuna farklı sıcaklıklarda natamisin uygulamasının gösterimi .....	24
Şekil 4.1. <i>S. cerevisiae</i> 'nin PDA besiyerindeki gelişimi.....	29
Şekil 4.2. Farklı şiddetteki DEA ve farklı süre uygulaması sonucu inoküle portakal suyunda bulunan <i>S. cerevisiae</i> 'nin koloni sayılarındaki logaritmik değişim (kob/ml).....	30
Şekil 4.3. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisin 2.saat sonundaki <i>S. cerevisiae</i> kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml) .....	32
Şekil 4.4. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisin 12.saat sonundaki <i>S. cerevisiae</i> kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml) .....	33
Şekil 4.5. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisin 24.saat sonundaki <i>S. cerevisiae</i> kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml) .....	34
Şekil 4.6. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisin 48.saat sonundaki <i>S. cerevisiae</i> kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml) .....	35
Şekil 4.7. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisin 72.saat sonundaki <i>S. cerevisiae</i> kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml) .....	36
Şekil 4.8. 0, 5, 10 ve 15.günlerin sonunda inoküle portakal suyu ve DEA uygulanmış inoküle portakal suyu örneklerinde <i>S. cerevisiae</i> koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim.....	39
Şekil 4.9. 0, 5, 10 ve 15.gün sonunda kontrol, 6,25 ppm natamisin ve DEA+NA6 örneklerinde <i>S. cerevisiae</i> koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim .....	40
Şekil 4.10. 0, 5, 10 ve 15.gün sonunda kontrol, 12,5 ppm natamisin ve DEA+NA12 örneklerinde <i>S. cerevisiae</i> koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim .....	41
Şekil 4.11. 0, 5, 10 ve 15.gün sonunda kontrol, 25 ppm natamisin ve DEA+NA25 örneklerinde <i>S. cerevisiae</i> koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim .....	42
Şekil 4.12. 0, 5, 10 ve 15.gün sonunda kontrol, 50 ppm natamisin ve DEA+NA50 örneklerinde <i>S. cerevisiae</i> koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim .....	43
Şekil 4.13. DEA ve farklı konsantrasyonlardaki natamisin kombinasyonlarının 0, 5, 10 ve 15.günlerin sonunda inoküle	

portakal suyunda bulunan <i>S. cerevisiae</i> sayısı üzerine etkilerinin karşılaştırılması (kob/ml) .....	45
Şekil 4.14. İnoküle portakal suyuna uygulanan farklı sıcaklıkların <i>S. cerevisiae</i> üzerine etkisi .....	46
Şekil 4.15. İnoküle portakal suyuna 30°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin 0, 5, 10 ve 15.günlerde <i>S. cerevisiae</i> sayısı üzerine etkisi (kob/ml) .....	47
Şekil 4.16. İnoküle portakal suyuna 45°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin 0, 5, 10 ve 15.günlerde <i>S. cerevisiae</i> sayısının değişimi (kob/ml) .....	49
Şekil 4.17. İnoküle portakal suyuna 60°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin 0, 5, 10 ve 15.günlerde <i>S. cerevisiae</i> sayısı üzerine etkisi (kob/ml) .....	50
Şekil 4.18. Askorbik asit (C vitamini) standart eğrisi .....	57
Şekil 4.19. Gallik asit standart eğrisi.....	59



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. Natamisinin tüm dünyada kullanım izinleri.....	7
Çizelge 4.1. Farklı şiddetteki DEA ve farklı süre uygulaması sonucu inoküle portakal suyunda bulunan <i>S. cerevisiae</i> 'nin koloni sayılarındaki logaritmik değişim (kob/ml) .....	30
Çizelge 4.2. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu <i>S. cerevisiae</i> kolonilerinde 2.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml) .....	32
Çizelge 4.3. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu <i>S. cerevisiae</i> kolonilerinde 12.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml) .....	33
Çizelge 4.4. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu <i>S. cerevisiae</i> kolonilerinde 24.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml) .....	34
Çizelge 4.5. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu <i>S. cerevisiae</i> kolonilerinde 48.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml) .....	35
Çizelge 4.6. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu <i>S. cerevisiae</i> kolonilerinde 72.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml) .....	36
Çizelge 4.7. Zamana göre natamisin konsantrasyonlarının portakal suyuna inoküle edilen <i>S. cerevisiae</i> üzerine etkisinin karşılaştırılması .....	38
Çizelge 4.8. 0, 5, 10 ve 15. günler sonunda inoküle portakal suyu ve DEA uygulanmış inoküle portakal suyu örneklerinin <i>S. cerevisiae</i> koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim(kob/ml).....	39
Çizelge 4.9. DEA ve 6,25 ppm natamisin (NA6) kombinasyonun inoküle portakal suyunda bulunan <i>S. cerevisiae</i> 'nin logaritmik sayısına etkisi.....	40
Çizelge 4.10. DEA ve 12,5 ppm natamisin (NA12) kombinasyonun inoküle portakal suyunda bulunan <i>S. cerevisiae</i> 'nin logaritmik sayısına etkisi.....	41
Çizelge 4.11. DEA ve 25 ppm natamisin (NA25) kombinasyonun inoküle portakal suyunda bulunan <i>S. cerevisiae</i> 'nin logaritmik sayısına etkisi .....	42
Çizelge 4.12. DEA ve 50 ppm natamisin (NA50) kombinasyonun inoküle portakal suyunda bulunan <i>S. cerevisiae</i> 'nin sayısına etkisi (kob/ml) .....	43
Çizelge 4.13. DEA ve farklı konsantrasyonlardaki natamisin kombinasyonlarının 0, 5, 10 ve 15.günlerin sonunda inoküle portakal suyunda bulunan <i>S. cerevisiae</i> sayısı üzerine etkilerinin karşılaştırılması (kob/ml) .....	44
Çizelge 4.14. İnoküle portakal suyunda farklı sıcaklık uygulamalarının <i>S. cerevisiae</i> üzerine etkisi (kob/ml).....	46

Çizelge 4.15. İnoküle portakal suyuna 30°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin 0, 5, 10 ve 15.günlerde <i>S. cerevisiae</i> sayısı üzerine etkisi (kob/ml) .....	47
Çizelge 4.16. İnoküle portakal suyuna 45°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin 0, 5, 10 ve 15.günlerde <i>S. cerevisiae</i> sayısı üzerine etkisi (kob/ml) .....	48
Çizelge 4.17. İnoküle portakal suyuna 60°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin 0, 5, 10 ve 15.günlerde <i>S. cerevisiae</i> sayısı üzerine etkisi (kob/ml).....	49
Çizelge 4.18. DEA+NA uygulanan örnekler ile saf portakal suyunun titrasyon asitliği (sitrik asit cinsinden) .....	51
Çizelge 4.19. DEA+NA ve saf portakal suyu örneklerinin renk (L*, a* ve b*) değerleri .....	52
Çizelge 4.20. DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneği ve saf portakal suyu örneklerinin °Briks değerleri.....	54
Çizelge 4.21. Saf portakal suyu örneği ile DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneklerinin 0.gün ve 15.gün askorbik asit (C vitamini) değerleri .....	56
Çizelge 4.22. DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneği ve saf portakal suyu örneklerinin HMF değerleri (mg/L) .....	57
Çizelge 4.23. DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneği ve saf portakal suyu örneklerinin fenolik madde içerikleri .....	59
Çizelge 4.24. DEA+NA25 ve saf portakal suyu örneklerinin antioksidan aktivitesi .....	60

## **SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

ADI	Kabul edilebilir günlük alım miktarı
$a_w$	Su aktivitesi
DEA	Darbeli elektrik alan
FTS	Fizyolojik tuzlu su
Kob	Koloni oluşturan birim
kV	Kilovolt
L	Litre
LD <sub>50</sub>	Ortalama öldürücü doz
log	Logaritma
ml	Mililitre
NA12	12,5 ppm natamisin
NA25	25 ppm natamisin
NA50	50 ppm natamisin
NA6	6,25 ppm natamisin
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Count Broth
PS	Saf portakal suyu

## 1. GİRİŞ

Meyve suyu; sağlam, olgun, taze veya soğukta ya da dondurularak muhafaza edilmiş, tek meyvenin veya daha fazla meyve karışımının yenilebilir kısımlarından elde edilen, elde edildiği meyve ve meyvelerin karakteristik renk, aroma ve tadına sahip, fermente olmamiş ancak fermente olabilen urundur (Anonim, 2014). Meyve suları beslenme, sağlık ve kullanım kolaylığı nedeniyle tüketiciler tarafından çok talep edilir ve bu yüzden dünya çapında önemli bir urundur.

Portakal, turunçgil ailesi içerisinde *Citrus sinensis* olarak bilinir. Turunçgil suları özellikle de portakal suyunda bulunan yüksek C vitamini ve lezzetli tadı sebebiyle birçok ülkede çok tüketilen bir urundur. 2005 yılı itibariyle dünya sebze-meyve üretiminin yaklaşık %21'ini turunçgiller oluştururken bu oranın yaklaşık %75 gibi önemli bir oranını portakal oluşturmaktadır (FAO,2007). Portakallar dünyanın birçok yerinde iç pazar ve ihracat için üretilmektedir. Portakalların yaklaşık %20'i meyve olarak satılırken geri kalanı ise portakal suyu, ekstrakt ve konserve yapımında kullanılmaktadır (Okunowo vd., 2005).

Turunçgil üretimi ülkemiz ve bölgemiz açısından son derece önemlidir. Türkiye, özellikle de Akdeniz ve Ege Bölgeleri, turunçgillerin üretim ve pazarlanması bakımından son derece elverişli ekolojik koşullara ve olanaklara sahiptir. Ülkemizde portakal üretimi en büyük payla (%92) Akdeniz Bölgesinde yer alan Antalya (%30), İçel (%27), Hatay (%15) ve Adana (%31) illerinden sağlanmaktadır. Akdeniz Bölgesinin Doğu Akdeniz bölümünün toplam portakal üretimindeki payı %65'tir. Ülkemizde portakal, üzüm ve elmadan sonra en çok üretimi yapılan meyvedir. Türkiye'nin meyve suyu ve konsantre üretimi 2005 yılı itibariyle 370 bin tondur. Türkiye'de 37,8 bin ton portakal meyve suyuna ve 1,5 bin ton portakal suyu da konsantreye işlenmektedir. 2006 yılında 553 bin ton dondurulmuş portakal suyu ve diğer biçimlerde 4,037 milyon ton portakal suyu ithal edilmiştir (Işık vd., 2008).

Meyve suları, nakliye, saklama ve işleme dahil olmak üzere hasat ve hasat sonrası işleme sırasında normal olarak meyve yüzeyinde bulunan bir mikroflora içerir (Tournas vd., 2006). Aside dirençli bakteriler ve funguslar (küfler, mayalar) gibi birçok mikroorganizma bunları büyümeleri için bir besin maddesi olarak kullanmaktadır. Mayalar, asidik pH nedeniyle işlenmeden önce meyvelerin ana florasını oluştururlar. Bilindiğine göre ticari meyve sularının %40'ı maya ile kontamine olmaktadır (Titarmare vd., 2009). Sağlıklı meyvelerdeki meyve suları ml başına 1,000 ila 100,000 maya içerebilir, buna karşın hasar gören meyvelerde maya kontaminasyonu daha yüksek seviyede olabilir (Aneja vd., 2014a).

Çalışmamızda portakal suyunda bozulma etmeni olan *Saccharomyces cerevisiae*'nin gelişimini engellemek amacıyla darbeli elektrik alan (DEA) ve natamisin uygulamalarının kombinasyonu ve tek başlarına olan etkisi incelenmiştir. Ayrıca çalışmamızda uyguladığımız DEA ve natamisin uygulamalarının taze sıkılmış portakal suyunun kalitesi üzerine özellikleri de incelenmiştir.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. *Saccharomyces cerevisiae* ile ilgili bilgiler

Gıdaların pH, su aktivitesi ( $a_w$ ), sıcaklık, kimyasal ve fiziksel özellikleri mikrobiyal faaliyetlerin gelişimine neden olmaktadır. Turunçgil suları yüksek şeker içeriğine sahip asitli (pH 3-4) içeceklerdir. Bu koşullar altında turunçgil suları küf, maya ve laktik asit bakterilerini, mikroflorası içerisinde bulundurmaktadır.

Mayalar düşük pH'a ve osmotik basınca dayanıklıdır ve buzdolabı sıcaklığında gelişebilirler. Bu nedenle işlenen üründe bozulmaya neden olabilirler. Mayaların düşük pH, yüksek şeker konsantrasyonunda ve düşük su aktivitesinde gelişme yetenekleri vardır. 110 üzerinde maya türü gıda ve gıda ürünleri ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir ve 1'den 6,83 kob/ml'e kadar meyve sularında kontaminasyon kaynaklarıdır. Meyve sularında maya bozulmaları CO<sub>2</sub> oluşumu ve alkol oluşumu ile karakterize olmaktadır. Mayalarda aynı zamanda pektin esteraz enzimi bulunur. Bu enzim asetaldehit, organik asit ve pektinin parçalanmasına sebep olarak fermente bir tat oluşumu meydana getirebilmektedir (Aneja vd., 2014a).

Turunçgil sularında mikrobiyal bozulmaların çoğu *S. cerevisiae* gibi fermantatif mayalar tarafından gerçekleşmektedir (Parish and Higgins 1989). *S. cerevisiae* dışında turunçgil sularında *Candida parapsilosis*, *C. stellata*, *Torulaspota delbrueckii* ve *Zygosaccharomyces rouxii* turunçgil sularında gelişebilmektedir.

Mayalar tek hücreli mikroskopik canlılardır. *S. cerevisiae*'nin optimum gelişim sıcaklığı 28°C'dir. *S. cerevisiae*'nin 0-40°C sıcaklığında da gelişebilen farklı suşları bulunmaktadır. Bu mayalar düşük sıcaklıklarda (10°C) çoğalamazlar fakat fermentasyon özelliğini sürdürebilmektedir. 35°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ise aktiviteleri hemen azalabilir ve fermentasyon durabilir.

Amerine vd., (1980) 6 farklı sıcaklıkta 10 maya türünün etil alkol oluşumunu incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda 6°C'de %12 alkol üreten maya suşu olduğunu ve en yüksek alkol veriminin ise 25°C olduğunu bildirmişlerdir (Şener, 2005). Orlic vd., 2005'te yapıları bir çalışmada, *S. cerevisiae*'nin güçlü bir fermentasyon özelliğine sahip olduğunu ve günde 2,0 g/L'den daha fazla CO<sub>2</sub> ürettiklerini tespit etmiştir.

## 2.2. Natamisin

Natamisin ilk olarak 1955'de Güney Afrika'nın Natal ilinde toprak örneğinden izole edilen *Streptomyces natalensis*'ten elde edilmiştir. 1959 yılında *Streptomyces chattanoogensis* bir kültüründen izole edilen Tenecetin'in (Burns and Holman, 1959) daha sonra natamisin ile aynı olduğu tespit edilmiştir (Brik, 1981).

Natamisinin moleküler formülü C<sub>33</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>13</sub>'tür (Şekil 2.1). Molekül ağırlığı ise 665.73 g/mol'dür (Lewis, 1989; Lancelin vd., 1990). Konsantrasyon, su aktivitesi, atmosfer, ışık, sıcaklık, ürünün başlangıç mikrobiyal yükü, mikrobiyal floranın tipi, ağır metaller, oksidanlar, gıda bileşenleri ve kullanım şekli natamisin stabilitesi üzerine etkili olan faktörler olarak ele alınmaktadır (Altuğ, 2001; Şahan vd.,2004). Natamisin genelde kristal formdadır. Kuru formda bulunduğundan minimum aktivite kaybı ile birkaç yıl depolanabilir. Natamisin çoğu makrolidler gibi amfoter yapıdadır, bir asit ve bir baz grubu içerir. pH'nın da natamisin stabilitesi üzerine etkisi bulunmaktadır. 4,5 ile 9 pH değerleri arasında 37°C'de 72 saat stabil kalmaktadır. Buna karşın pH 2 ve pH 10 değerlerinde natamisin stabilitesi önemli ölçüde azalmaktadır. Natamisin suda düşük çözünürlüğe sahiptir (yaklaşık 40 µg/ml). Bu özelliğinden dolayı gıdaların yüzeylerinde kullanımı bir avantajdır. Çünkü gıdanın içerisine nüfuz etmek yerine yüzeyde koruma görevi yapmaktadır. Natamisin diğer çözücülerde çözünürlük oranları ise; metanolde 1200 µg/ml, n-bütanolde 50-120 µg/ml, gliserolde 3000 µg/ml, etanolde 100 µg/ml'dir (Davidson vd., 2005).



Natamisin FDA tarafından tavsiye edilen birkaç antibiyotikten biridir ve GRAS (Generally regarded as a Safe) listesinde sınıflandırılmıştır. Natamisin 1968 yılında Joint Expert Committee on Food Additives Gıda Katkı Maddeleri Ekspert Komitesi (JECFA) insan verilerine dayanarak ADI değerini 0,3 mg/kg vücut ağırlığı olarak yayınlamıştır. 2002'de JECFA ADI değerini onaylamıştır (Anonymous 2009). Natamisin ticari olarak adları Natamax (DANISCO) ve Delvocid (DSM) altında kullanılabilir ve bunların her ikisi de yaklaşık% 50 natamisin içerecek şekilde laktoz ile harmanlanmıştır. Peynir, sosis, meyve ve içeceklerde doğal koruyucu olarak natamisin kullanımına izin verilmiştir ve birçok gıda sanayinde kullanılmaktadır (Kiermeier, 1973; Davidson vd.,1993). Natamisin 60'dan fazla ülkede çeşitli uygulamalarda kullanılmak üzere onaylanmıştır. Bu ülkeler arasında meyve sularında kullanıma izin verenler Çin ve Güney Afrika'dır (Çizelge 2.1).

Türk Gıda Kodeksi (TGK) Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Maddeleri Tebliğine göre sert ve yarı sert peynirlerin ve kurutulmuş, kürlenmiş sucuk, salam ve sosislerin yüzey uygulamalarında kullanılabilir ve 1 mg/dm<sup>2</sup>'lik yüzeyde, 5 mm'lik derinlikte bulunmaması gerekmektedir. Ülkemizde meyve sularında natamisin kullanımına şu anda izin verilmemektedir (Anonim 2008).

Çizelge 2.1. Natamisinin tüm dünyada kullanım izinleri (Delves-Broughton vd., 2005)

ÜLKE	İZİNLİ GIDA	ÜLKE	İZİNLİ GIDA
Cezayir	A	Litvanya	A
Arjantin	AB	Lüksemburg	AB
Avusturalya	AB	Mauririus	AB
Avusturya	AB	Meksika	A
Bahreyn	A	Morocco	AB
Belçika	AB	Hollanda	AB
Brazilya	AB	Yeni zelanda	AB
Bulgaristan	A	Norveç	AB
Kanada	A	Umman	P
Şili	A	Polonya	AB
Çin	ABCD	Portekiz	AB
Kolombiya	A	Paraguay	A
Hırvatistan	AB	Katar	P
Kıbrıs	A	Suidi Arabistan	P
Çek cumhuriyeti	AB	Singapur	A
Danimarka	AB	Slovakya	AB
Ekvator	A	Slovenya	AB
Mısır	A	İspanya	AB
İrlanda	AB	Güney Afrika	ABDEFGHJK
Estonya	AB	İsveç	AB
Finlandiya	AB	İsviçre	AB
Fransa	AB	Suriye	P
Almanya	AB	Tayvan	AB
Yunanistan	AB	Tunus	AB
Macaristan	AB	Türkiye	AB
İceland	A	Ukrayna	A
Hindistan	A	U.A.E	P
İtalya	AB	U.K.	AB
Jordan	P	U.S	A
Kuveyt	P	Uruguay	A
Letonya	AB	Venezuela	A
Lübnan	P	Yemen	P

NOT. A: özel peynir yüzeyleri ve peynir kabuğu (rendelenmiş peynirlerde yalnızca ABD' de), B: işlenmiş etlerin yüzeyinde, C: bazı fırın ürünlerinin yüzeyinde, D: meyve suyu, E: şarap, F: balık ürünleri, G: yoğurt, H: konserve, I: ekşi krema, J: krem peynir, K: süzme peynir, P: izin verilen katkı

Ollé vd. (2014)'in yaptığı çalışmada *S. cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii* ve *Yarrowia lipolytica*'a karşı hem gıdalarda hem de peynirlerde kullanılan doğal antibiyotikler ile natamisinin etkinliği farklı metotlar kullanılarak gösterilmiştir. Tapyoka nişasta filmlerinde natamisinin öldürücü veya önleyici

etkisi olup olmaması maya türü ve natamisin konsantrasyonuna bağlı olarak etkilendiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada peyniraltı suyuna 4 kob/ml düzeyinde *S. cerevisiae* inoküle edilmiştir. Örnekler 20 ppm ve 50 ppm düzeyinde natamisin ilavesi sonucu 96 saat sonunda sırasıyla yaklaşık olarak 2.75 kob/ml ve 4 kob/ml'lik bir azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Gallo vd. (2006)'nın yapmış olduğu bir başka çalışmada; peynir altı suyunda farklı düzeylerde natamisin ve farklı inokülüm seviyeleri ile muamele edilen *S. cerevisiae*'nin inaktivasyonu incelenmiştir. Natamisin uygulaması test edilen deneysel koşullar altında peyniraltı suyunun içinde *S. cerevisiae* inaktivasyonu için etkili bir teknik oluşturmuştur. Natamisin aktivitesi, başlangıç mikrobiyal popülasyonunda ani bir azalmaya neden olmamıştır. Bu durumun aksine, natamisin depolama boyunca uygulandığında, 20°C (25 mg/L)'de 72 saat sonra 4,7 log azalma meydana getirmiştir.

Kung vd.(2007) tarafından yapılan çalışmada *S. cerevisiae*'nin gelişimi üzerine natamisinin inhibisyonu incelenmiştir. Bira üretiminin ana işleme prosesinde bira bozulması yapan mikroorganizmaların sayısının ölçülmesi ile natamisinin birada bozulma yapan mikroorganizmaların sayısının belirlenmesinde bir antifungal olarak kullanılabileceği bulunmuştur. Sonuçlar *S. cerevisiae* üzerinde natamisinin minimum inhibitör konsantrasyonlarının 7 mg/L ve 9 mg/L olduğunu göstermiştir. 121°C'de 20 dakika sterilizasyon işleminden sonra 9 mg/L natamisinin aktivitesinin kaybolduğu tespit edilmiştir.

Şahan vd. (2004), tarafından yapılan çalışmada natamisin eklenmiş ve eklenmemiş çiğ sütlerden farklı asitliklere sahip yoğurtlar üretilmiş ve bu yoğurtlar da süzme yoğurtlarına işlenmiştir. Yapılan çalışma sonucuna göre, 10 ppm natamisin ilavesinin süzme yoğurtlarındaki maya-küf sayısını önemli ölçüde azalttığı ( $p < 0,05$ ) tespit edilmiştir.

## **2.3. Darbeli Elektrik Alan Teknolojisi**

### **2.3.1. Darbeli Elektrik Alan Teknolojisi ile ilgili genel bilgiler**

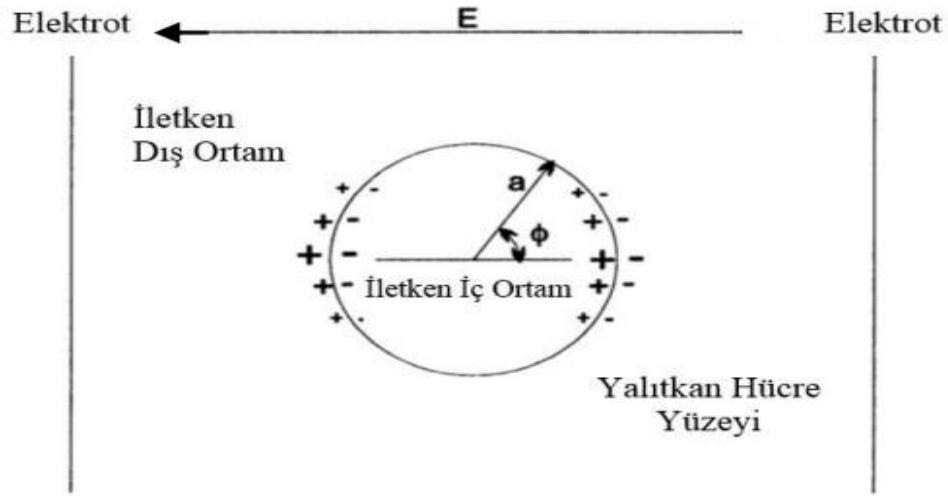
DEA, üründe mikroorganizmalardan ve enzim aktivitesinin azalması ile sonuçlanan kısa sürede yüksek voltajda elektrik alan uygulaması ile termal olmayan bir koruma yöntemidir. (Zhang vd., 1995). Isıl işlemlerin mikroorganizmalar üzerine etkisi sadece ısının iletimi veya taşınımı yoluyla sınırlıdır, fakat DEA teknolojisinin mikroorganizmalar üzerindeki ölümcül etkisi volumetrik bir etkidir. Bu sayede öldürücü etkenler, tüm ürüne hızlı ve homojen bir şekilde transfer edilmektedir (Ağçam vd., 2014).

Son yıllarda, darbeli elektrik alan prosesleri, gıda ürünlerini geliştirmek veya geleneksel gıda işlem yöntemlerine alternatifler yaratma potansiyeli nedeniyle büyük ilgi gördü. Nispeten düşük işlem sıcaklığı ve kısa uygulama süreleri, ürün kalitesini korurken mikroorganizmaların etkili şekilde inaktivasyonunu sağlayabilmektedir. Darbeli elektrik alan günümüze kadar sıvı gıdaların pastörizasyonu üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış olup endüstriyel olarak da meyve suyu gibi ticari ürünler piyasada satışa sunulmuştur. Bu sistem gıda endüstrisinde genellikle süt, meyve suyu, çorbalar ve sıvı yumurta gibi gıdaların pastörizasyonu işleminde kullanılmaktadır (Kaletunç, 2009). İlk ticari tesis meyve sularının pastörizasyonu amacıyla ABD'de 2006 yılında kurulmuştur. Bu işlemin kapasitesi 200 L/saat'tir. DEA uygulaması ile pastörize edilen meyve sularının raf ömrünün 4 hafta olduğunun belirlenmesi ile bu tekniğe güven artmıştır. 2009'da Avrupa'da 40 ile 50°C'de 20 kV/cm şiddetinde DEA içeren bir meyve suyu hattı kuruldu. Bu sistemde DEA işleme maliyetleri, litre başına 0,02-0,03 ABD doları aralığındadır. Yeni pazarlara erişim ve bozulan ürünün geri dönüşünün azalması nedeniyle bu fiyat normal olmaktadır (Buckow vd., 2013).

DEA uygulanan meyve suyu işlenmemiş meyve suyu ile karşılaştırıldığında gıda kalite özelliklerini koruyucu özelliği olduğu bildirilmiştir ve bazı gıdaların biyolojik raf ömrünü uzattığı bilinmektedir (Charles-Rodriguez et al., 2007).

### 2.3.2. Darbeli elektrik alanın hücre üzerine etkisi

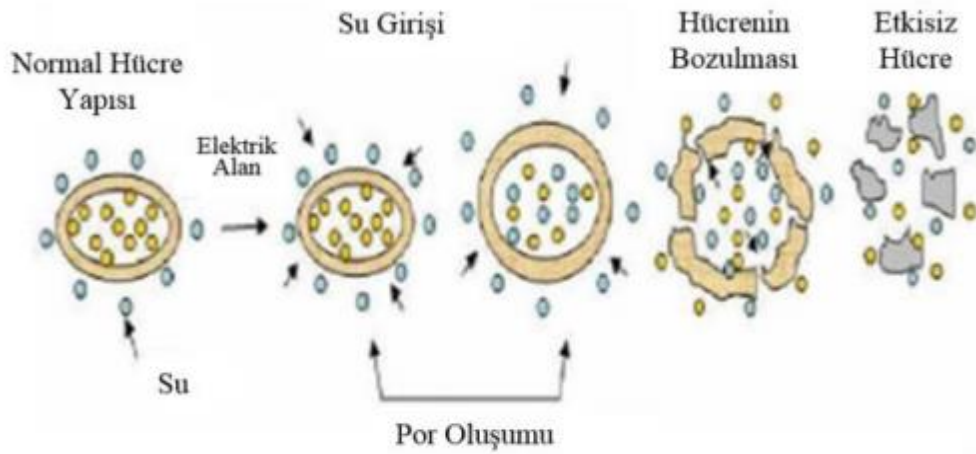
DEA'nın antimikrobiyal etkisi elektrik alan şiddeti, darbe özellikleri, darbe enerji girişi, sıcaklık gibi parametrelere bağlı olarak; hücre zarında kırılmalar ve elektroporasyon şeklinde kendini gösterir. Şekil 2.2'de görüldüğü gibi, hücreye elektrik alan uygulaması hücre yüzeyinde zıt yüklerin oluşmasına neden olmaktadır. Hücre zarındaki zıt yüklerin birbirlerini çekmesi, elastiki yapının dayanma kuvvetinden daha büyük olduğundan dolayı hücre zarında kırılmalar oluşur ve hücre zarı parçalanır (Kakı vd., 2014).



Şekil 2.2. Hücrenin düzgün alanda elektriksel yüklenmesi (Kakı vd., 2014)

Yüksek voltajlı elektrik akımına maruz bırakılan hücre zarının çift katmanlı lipit tabakası ve protein yapısı zarar görerek yapının bozulması olayına elektroporasyon denilir (Castro vd., 1993) (Şekil 2.3).





Şekil 2.3. Hücre zarının elektroporasyonu (Kakı vd., 2014)

Elektroporasyon sonucu hücrenin ozmotik dengesi bozulduğundan su ve küçük moleküllerin geçişi hızlanır. Suyun hücreye sürekli girmesi ile hücre şişer ve parçalanır (Kakı vd., 2014).

DEA mikrobiyal hücre zarının bütünlüğünün geçici veya kalıcı kaybına yol açarak mikroorganizmaları inhibe eder. Ayrıca DEA bazı antimikrobiyal maddelerin, mikroorganizmaların hücre içine alınmasına yardımcı olması nedeniyle etkinliklerinin artmasını sağlar (Tsong, 1991).

### 2.3.3. Darbeli elektrik alanı etkileyen başlıca faktörler

Genel olarak elektrik alan şiddeti iki nokta arasında potansiyel farkın mesafeye oranıdır. Elektrik alan yoğunluğu arttıkça mikrobiyal inaktivasyon artmaktadır (Qin vd.,1998). Yüksek pulse elektrik alan uygulaması kullanılarak elma, portakal, ananas, kızılcık ve üzüm sularında bulunan *Zygosaccharomyces bailii* mayasının inaktivasyonu incelenmiştir. Her meyve suyuna 32–36,5 kV/cm şiddetinde elektrik alan uygulanmıştır. Uygulanan 2 şiddette *Z. bailii* sayısında sırasıyla 3,5 ile 5 log bir azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir.(Raso vd.,1998). Zhao vd. (2011) 15 ve 20 kV/cm gibi düşük voltajlarda elektrik alan uygulamasının hücrenin geçirgenliğini sırasıyla %10

ve %20 oranında yeniden kazandığını göstermiştir. Buna karşın 25 kV/cm gibi daha yüksek yoğunluklarda DEA uygulaması hücrede kalıcı hasar bırakmıştır.

DEA uygulamasında kullanılan başlıca atım modelleri dikdörtgen biçimli atım modeli , logaritmik azalan atım modeli, ani geri dönüşümlü atım modeli ve titreşimli atım modellerinden oluşmaktadır (Barbosa-Canovas vd.,2000). DEA uygulamalarında kullanılan bu modeller arasında hücre zarı üzerindeki etkili yöntemin ise dikdörtgen biçimli atım modeli olduğu gösterilmiştir (Qin vd.,1996).

Uygulanan darbe sayısının da artması işlemin başarısı belirli bir noktaya kadar artırmaktadır. 10-20 arasındaki darbe sayısı en iyi etkiyi sağlamaktadır ve bu sayının üzerindeki darbe sayısı arttıkça etki azalmaktadır. Daha yüksek frekanstaki uygulamalar için daha az atım sayısı yeterli olmaktadır (Özkaya, 2005).  $4,0 \times 10^6$  kob/ml düzeyinde *S. cerevisiae* inoküle edilen steril elma suyuna 20 kV/cm'lik DEA şiddetinde 4,2, 8,3 ve 10,4 atım sayısı uygulanmıştır. 4,2 ile 8,3 atım yapılan *S. cerevisiae* hücrelerinde yaklaşık 1,5 log azalma gösterirken 10,4 atım yapılan *S. cerevisiae* hücrelerinde 4 log azalma görülmüştür (Cserhalmi vd.,2002).

Sıcaklık artışı hücre yüzeyinin gevşemesine neden olduğunda fiziksel dayanımını azaltmaktadır. Bu nedenle düşük sıcaklıklarda hücre yüzeyindeki kırılmaların ortaya çıkması için elektrik alan şiddetinin daha yüksek olması gerekmektedir (Kaki vd., 2014). Fleischman vd. (2004) yapmış olduğu bir çalışmada sıcaklığın artışı *L. Monocytogenes'in* ölümüne katkıda bulunurken aynı zamanda DEA uygulamasına duyarlılığın arttığını ifade etmiştir.

Mikroorganizma türü ve sayısı DEA uygulamasında diğer önemli olan bir faktördür. Hücrelerin büyüklüğü DEA performansını büyük ölçüde etkiler. Daha büyük çaplı hücreler daha küçük çaplı hücrelere kıyasla daha düşük bir elektrik alan şiddeti ile öldürülebilmektedir (Raso vd., 1998). Bu yüzden DEA uygulamasına maya hücreleri bakteri hücrelerine göre daha duyarlıdır.

Portakal suyuna  $10^6$  kob/ml ve  $10^{11}$  kob/ml düzeyinde *S. cerevisiae* inoküle edildikten sonra 8 kV/cm düzeyinde DEA uygulanmıştır. İnokülüm miktarı  $10^6$  kob/ml düzeyinde olan numuneye uygulanan DEA işlemi sonucunda *S. cerevisiae* sayısında 2,2 log bir azalma gözlenirken inokülüm miktarı  $10^{11}$  kob/ml olan numunede 5,5 log azalma tespit edilmiştir (Molinari vd.,2004). Sterilize elma suyuna  $4 \times 10^6$  kob/ml düzeyinde *S. cerevisiae* inoküle edilmiştir. 10 ile 28 kV/cm arası elektrik alan kuvveti uygulanmıştır. 10 kV/cm'lik DEA hücre sayısında yaklaşık 0,5 log, 20 kV/cm'lik DEA hücre sayısında 1,5 log bir azalma yaparken, 28 kV/cm'lik DEA uygulaması hücre sayısında 3,4 log azalma ile sonuçlandı. Bu durum daha yüksek şiddette elektrik alan uygulamasının hücre inaktivasyonunu artırdığını söylenmiştir (Cserhalmi vd.,2002). Başlangıç inokülüm miktarı  $6 \times 10^6$  kob/ml olan 12,5 kV/cm yoğunluğa sahip darbeli elektrik alana tabi tutulan *S. cerevisiae* sayısında 5 atım sonucu yaklaşık olarak 3,3 log düzeyinde, *Candida stellata*'de ise 3,2 log düzeyinde azalma olmuştur. Aynı çalışmada 2 atım uygulandığında ise *S. cerevisiae* sayısında yaklaşık 2,5 log azalma olurken *C. stellata*'da 0,5 log azalma görülmüştür (Geveke vd.,2003).

#### **2.3.4. Darbeli Elektrik Alan ile ilgili kaynak özetleri**

Geveke vd. (2003) *S. cerevisiae* ve *Candida stellata*'nın inaktivasyonları incelemek için başlangıç maya miktarı yaklaşık  $6 \times 10^6$  kob/ml olacak şekilde steril deiyonize suya inoküle edilmiştir. Her iki maya süspansiyonuna 12,5 kV/cm yoğunluğa sahip darbeli elektrik alan uygulanmıştır. İşlem koşulları atım sayısı 20'e kadar ve sıcaklık maksimum  $30^\circ\text{C}$ 'dir. DEA uygulaması sonucunda her iki maya sayısında da 3 log'dan daha fazla azalma meydana gelmiştir.

Gretchen Marx vd. (2011), meyve sularında bozulma etmeni olan *S. cerevisiae*'nin üzerine DEA uygulaması denemiştir. İşlem koşulları  $40,7^\circ\text{C}$ 'de 30,76 kV/cm ve 21 atım olmuştur. Uygulama marketten alınan elma suyunda gerçekleştirilmiştir. Ticari elma suyuna başlangıçta  $10^7$  kob/ml maya miktarı

inoküle edilmiştir. Maya hücreleri uygulamadan önce ve sonra taramalı elektron mikroskopunda incelenmiştir. DEA uygulaması hücrede gözenek oluşması ve hücre parçalanması olarak etki göstermiştir. Ayrıca DEA uygulaması ile *S. cerevisiae* sayısı üzerinde 5,03 log bir azalma sağlamıştır.

Yeom vd. (2000), portakal suyunda mikrobiyal inaktivasyon sağlamak için pilot-fabrika ölçekli bir DEA uygulanmıştır. Çalışmada 20, 25, 30 ve 35 kV/cm'lik elektrik-alan kuvvetleri ve toplam 39, 49 ve 59 µs'lik muamele süreleri kullanılmıştır. Taze sıkılmış portakal suyu 4°C'de 10 gün depolanmıştır. DEA koşullarını optimize etmek için portakal suyu oda sıcaklığında 2 gün doğal mikroflorasının gelişimi sağlanmıştır ve inkübasyon sonunda toplam maya-küf sayımı  $10^7$  kob/ml olmuştur. 35 kV/cm'lik şiddetinde 59 µs'lik DEA uygulaması toplam maya-küf sayımında 7 log azalma göstermiştir. Ayrıca 35 kV/cm'lik şiddetinde 59 µs'lik DEA uygulaması 4°C, 22°C ve 37°C'de uygulanmış ve her bir uygulamada 112 gün depolama sürecinde herhangi bir mikrobiyal gelişim görülmemiştir. Buna karşın muamele görmemiş portakal suyunda 14 gün depolama sonrası maya-küf sayımı yaklaşık  $10^7$  kob/ml olmuştur. Bir başka benzer çalışmada Jia vd. (1999), taze sıkılmış portakal suyuna 240 ya da 480 µs için 30 kV/cm DEA işlemi uygulanmıştır. 240, 480 µs DEA ve ısı işlem uygulanan portakal suyu lezzet bileşiklerinin ( $\alpha$ -pinene, Octanal, Limonene Decanal ve Ethyl butyrate) toplam ortalama kaybı sırasıyla kontrole göre %3,0, %9,0 ve %22,0 olmuştur ( $p < 0,05$ ). Lezzet kaybı esas olarak DEA prosesindeki gaz giderme vakum uygulaması nedeniyle meydana gelmiştir. Portakal suyunda toplam maya ve küf sayımları (kob/ml), kontrol 240, 480 µs'de DEA ve ısı işlem uygulanmış portakal suyunda sırasıyla 2800, 15, 9 ve 4 olmuştur.

McDonald vd. (2000), 100 L/h ile akan darbeleri elektrik alan (DEA) sisteminde portakal suyunda bulunan 4 mikroorganizmanın (*Leuconostoc mesenteroides*, *E. coli*, *Listeria innocua* ve *S. cerevisiae*) inaktivasyonunu incelenmiştir. 30 kV/cm ve 50 kV/cm seviyelerinde elektrik alan uygulanmışlar. Başlangıç inokülüm miktarı  $10^9$  kob/ml olan *Leuconostoc mesenteroides*, *E. coli* ve

*Listeria innocua*, 30 kV/cm ve 50°C'de 5 log düzeyinden daha fazla azalma sağlamıştır. 50 kV/cm ve 50°C'de başlangıç inokülüm miktarı  $10^6$  kob/ml olan *S. cerevisiae* askoporlarında maksimum 2,5 log azalma elde etmişlerdir. Uygulanan darbe sayıları mikroorganizmaların inaktivasyonunda etkili olmuştur. Kuldiloke vd. (2008)'da yapmış olduğu bir çalışmada; portakal suyunda maya (*S. cerevisiae*) inaktivasyonu için ısı işlem olmayan uygulamaları incelenmiş ve geleneksel ısı işlem ile karşılaştırılmıştır. Portakal suyuna başlangıçta  $10^6$  kob/ml *S. cerevisiae* inoküle edilmiştir. Maya üzerine sıcaklığın etkisini araştırmak için portakal suyunda 50°C, 70°C ve 90°C'de 15 dakika sıcaklık uygulanmıştır. Sonuçlar, portakal suyunda 50°C de 15 dakikalık ısı işlem uygulanması sonucu *S. cerevisiae*'nin 1 log'dan daha az inaktive edilebildiğini ve 70°C ile 90°C'de ise tamamen inhibe olduğunu göstermiştir. İnoküle portakal suyuna 15 kV/cm DEA şiddetinde 0, 20, 40 ve 60 atım uygulanmıştır ve *S. cerevisiae* sayısı sırasıyla  $3,8 \times 10^5$ ,  $1,3 \times 10^4$ ,  $5,7 \times 10^3$  ve  $4,4 \times 10^3$  kob/ml olmuştur.

Molinari vd. (2004), DEA uygulaması ile farklı gelişme dönemlerindeki üç *S. cerevisiae* suşunun inaktivasyonunu incelenmiştir. DEA uygulamasının koşulları: 8-11 kV/cm 3 darbe, 50 µF direnç veya 12,5 kV/cm, 40 darbe, 1 µF direnç elektrik alan seviyesinde olmuştur. İki farklı elektrik alan uygulamasında *S. cerevisiae*'nin inaktivasyonunda herhangi bir farklılık meydana gelmemiştir. Sonuçlar, sabit fazdaki maya hücrelerinin logaritmik faza göre DEA uygulamasına daha duyarlı olduğunu göstermiştir. DEA logaritmik evreye uygulandığında (14,5 saatlik büyüme zamanında  $2,8 \times 10^7$  kob/ml maya miktarı) maya popülasyonunda 3 log bir azalma gösterirken, sabit fazda (büyüme süresi 30 saatte  $8,7 \times 10^{11}$  kob/ml maya miktarı) maya popülasyonu 6 log azaltılmıştır. Aynı çalışmada, inokülüm miktarı sırasıyla  $5 \times 10^5$  kob/ml' den  $1 \times 10^{11}$  kob/ml'e artırıldığında mayaların inaktivasyonu 2 log'dan 5,8 log arasında değişmiştir. Elektrik alan uygulamasında maya popülasyonundaki azalma inokülüm seviyesindeki artış ile doğru orantılı olarak artmıştır.

Cserhalmi vd. (2006), taze sıkılmış turunçgil sularının (Greyfurt, limon, portakal, mandalina) fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerinde DEA işleminin etkisini elemişlerdir. Mevcut çalışmada, pH, Brix, elektrik iletkenliği, viskozite, enzimatik olmayan esmerleşme indeksi (NEBİ), hidrosimetilfurfural (HMF), renk, organik asit içeriği ve uçucu aroma bileşikleri üzerinde DEA teknolojisinin turunçgil suyundaki etkisini araştırılmışlardır. İşlem sıcaklığı en az 34°C olan meyve sularına 28 kV/cm 'de 50 darbe uygulanmışlardır. Turunçgil suyunun pH, Brix, elektrik iletkenliği, viskozite, NEBİ ve HMF değerlerinde hemen hemen hiç değişiklik bulmamışlardır. Örneklerin çoğunda görünür bir renk farkı olmamış veya çok az olmuştur. DEA uygulanan ve uygulanmayan örneklerin bütün durumlarda absorbands spektrumları birbirine benzer olmuştur. Meyve sularının organik asit içeriğinde önemli bir değişiklik olmamıştır. DEA uygulanan meyve sularının uçucu aroma bileşikleri SPME GC-MS sonuçlarına göre karşılaştırıldığında işlem görmemiş meyve suları esas itibari ile eşit olmuştur. Min vd.(2003)'nın yaptığı benzer bir çalışma ticari ölçekli DEA işleminin portakal suyunun mikrobiyal kararlılık, askorbik asit, brix, renk, pH, lezzet bileşenleri ve duyu özellikleri üzerine etkileri incelenmiş ve ısı işlem uygulaması ile karşılaştırılmıştır. Taze sıkılmış portakal suyuna 90°C de 90 saniye boyunca ısı işlem uygulanmış veya 40 kV/cm DEA işlemi uygulanmışlardır. Meyve suyuna uygulanan DEA işlemi, ısı işlem uygulamasına göre askorbik asit, lezzet ve renk içeriklerini daha çok korumuştur (P<0,05). Tekstür, lezzet ve kabul edilebilirlik bakımından genel değerlendirme en yüksek kontrol örneğinde oldu, bunu takiben DEA uygulamasında ve daha sonra ısı işlem olarak sıralanmıştır (P<0,01).

## **3. MATERYAL VE METOT**

### **3.1. Materyal**

#### **3.1.1. Portakal suyunun hazırlanışı**

Araştırmada piyasa satılan portakallar kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan portakal türü Finike portakalıdır. Portakallar yıkama işleminden sonra ortadan ikiye kesilerek ev tipi meyve sıkacağına meyve suyuna işlenmiştir. Meyve suları tülbent yardımıyla kaba bir şekilde süzümüştür. Daha sonra meyve suları 300 ml'lik şişelere içerisinde yaklaşık 250 ml olacak şekilde doldurulmuştur. Sızdırmazlıkları kontrol edildikten sonra SDÜ Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünde derin dondurucularda uygulanacak analizler için taze portakal suyu şeklinde saklanmıştır.

#### **3.1.2. Besiyerlerinin hazırlanışı**

Mayaların sayımı için Potato Dextrose Agar (PDA) besiyeri (acumedia) seçilmiştir. 1 litre PDA besiyeri hazırlamak için 39 gr PDA tartılmıştır, besiyeri şişesi içerisine konulmuştur ve üzerine 1 litre saf su ilave edilmiştir. Besiyerinin tamamen çözünmesi sağlanmıştır ve hazırlanmış besiyeri 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Sterilize edilen besiyerleri yaklaşık olarak 50°C'e soğutulup bunzen beki alevi etrafında steril petri kaplarına uygun miktarlarda (yaklaşık 12,5 ml) dökülerek katılaşması beklenmiştir. Katılaştıran besiyerleri buzdolabı sıcaklığında (4°C) muhafaza edilmiştir.

Potato Dextrose Broth (PDB,acumedia), maya ve küflerin gelişmesi amacıyla kullanılan sıvı besiyeridir. İçerik olarak PDA' benzemektedir. Fakat içeriğinde katılaştırıcı olarak kullanılan agar-agar maddesi bulunmamaktadır. 1 litre PDB elde etmek için 24 gr PDB tartılmıştır. Besiyeri şişesi içerisine aktarılıp üzerine saf su ilave edilmiştir. Homojen bir şekilde karışımı sağlanmıştır. Elde edilen

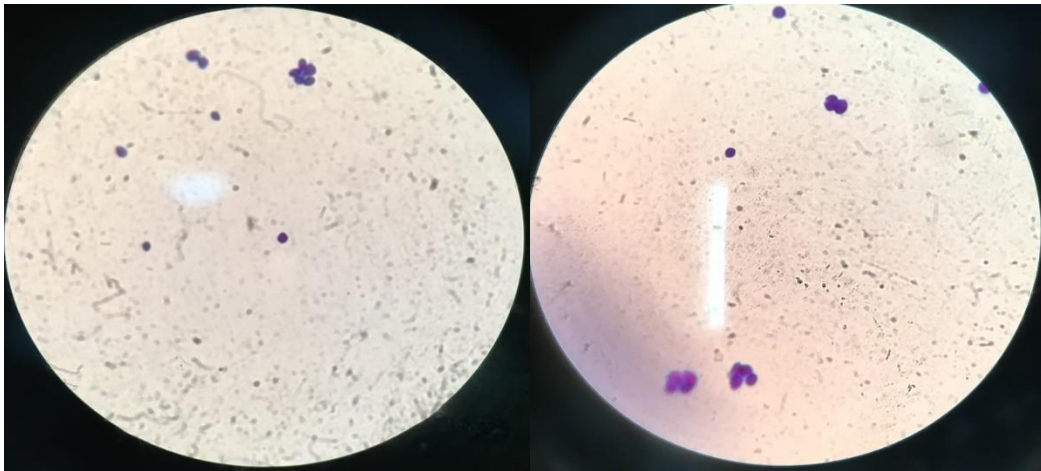
besiyeri 20 cm uzunluğundaki deney tüplerine dispenser yardımıyla 10 ml olacak şekilde boşaltılmıştır. Deney tüplerinin ağızları kapakları ile kapatılıp 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

### 3.1.3. Dilüsyon çözeltilesinin hazırlanışı

Bir litre saf su içerisine 8,5 g NaCl (merck) eklenip çözündürülerek fizyolojik tuzlu su (FTS) çözeltisi hazırlanır. Elde edilen homojen FTS 20 cm uzunluğundaki deney tüplerine dispenser yardımıyla 9 ml olacak şekilde boşaltılmıştır. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavanmıştır. Elde edilen 9 ml'lik FTS'ler +4°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.1.4. *Saccharomyces cerevisiae*'nin canlandırılması

Çalışmamızda daha önceden Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarında izole edilen saf *S. cerevisiae* kültürü kullanılmıştır. Ependorflarda dondurularak muhafaza edilen kültür 20 cm'lik deney tüpleri içerisinde hazırlanan steril PDB besiyerine 100 µl inoküle edilerek canlandırılması sağlanmıştır. *S. cerevisiae*'nin mikroskop görüntüsü Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *S. cerevisiae*'nin mikroskop görüntüsü



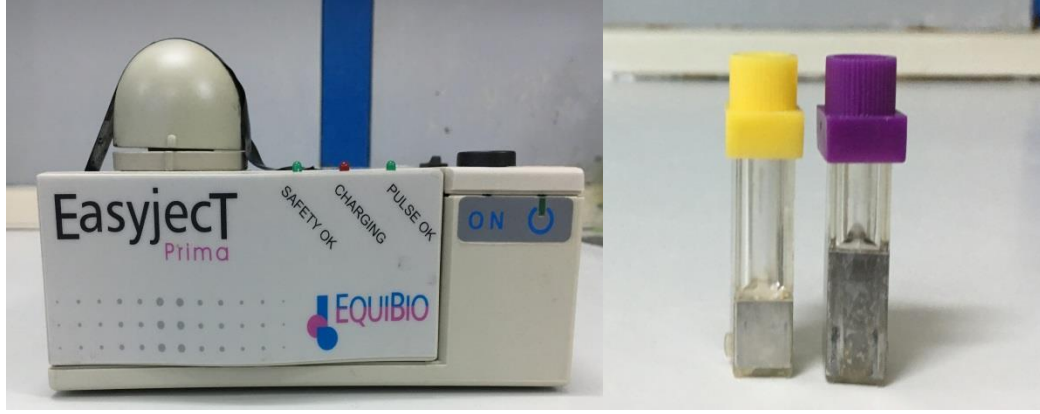
## **3.2. Metot**

### **3.2.1. *Saccharomyces cerevisiae*'nin portakal suyuna inokülasyonu**

Saf *S. cerevisiae* kültürleri önceden hazırlanmış PDB besiyerinde aktifleştirilmiştir. İnoküle olan PDB besiyerleri 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. PDB besiyerinde gelişen *S. cerevisiae* kültürleri vortekslenerek karıştırılmıştır ve daha önceden steril edilmiş ependorflar içerisine 1 ml olacak şekilde aktarılmıştır. Ependorflarda PDB sıvı besiyeri içerisindeki *S. cerevisiae* kültürleri 4000 rpm 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda PDB besiyeri içerisinde ki *S. cerevisiae* ependorf tüpünün dibinde pellet olarak elde edilmiştir. Ependorflardaki süpernatant dökülmüştür ve 3 adet pellet 10 ml portakal suyu bulunan deney tüplerine aktarılmıştır. Portakal suyunun bulunduğu deney tüplerinden 1 ml alınarak 9 ml'lik FTS tüplerine aktarılmış ve  $10^{-1}$  dilüsyon hazırlanmıştır. Bu şekilde  $10^{-6}$ 'a kadar seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Herbir dilüsyondan 0,1 ml alınarak paralelli olarak PDA besiyerine yayma yöntemi ile ekim yapılır. Ekim yapılan petriyerler 3-4 gün 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sayım için 20-300 arası koloni bulunan petriyerler kullanılmıştır. Böylece canlı mikroorganizmaların sayım sonuçları (kob/ml) tespit edilmiştir.

### **3.2.2. İnoküle portakal suyuna DEA ön uygulamaları**

Çalışmamızda kullandığımız elektroporotör (Equibio, Easyject prima) 2 mm'lik kapaklı elektroporasyon kuvvetlerde tek darbeye 13 µs süresince 50 Hz dalga sıklığında, 1800 V ve 2500 V gerilim uygulama özelliğine sahiptir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Elektroporator ve elektroporasyon küveti

Bu şartlar altında *S. cerevisiae* ile inoküle edilen portakal suları elektroporasyon küveti içerisine yaklaşık 2 ml düzeyinde konularak 1800 voltta ve 2500 voltta 5 dakika, 10 dakika ve 15 dakika şeklinde kesikli olarak dakikada bir atım yapılacak şekilde muamele edilmiştir. Her bir DEA ile muamele edilmiş inoküle portakal suyu örnekleri ve kontrol (DEA ile muamele edilmemiş inoküle portakal suyu örneği) 10 ml miktarında steril tüplere alınmıştır. Bütün uygulamalar için tüplerden 1 ml örnek alınarak 9 ml FTS içerisine aktarılıp  $10^{-1}$  dilüsyonu elde edilmiştir ve bu şekilde  $10^{-6}$  seviyesine kadar seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bütün uygulamalar için hazırlanan her bir dilüsyondan paralelli bir şekilde PDA besiyerine 0,1 ml alınarak yayma yöntemi ile ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan örnekler  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 3-4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Sayım sonuçlarında 20-300 arası koloni bulunan petriyerler kullanılmıştır. Bu şekilde muamele gören örneklerde canlı kalan mikroorganizma sayısı (kob/ml) tespit edilmiş ve kontrol ile karşılaştırılmıştır.

### 3.2.3. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi

*S. cerevisiae* kültürleri çalışmadan 1 gün önce aktif hale getirilmiştir. Aktif hale getirilen kültürlerin portakal suyuna inokülasyonu yapılmıştır. Daha sonra içerisinde %50 oranında natamisin bulunan natamisin-laktoz karışımından 0,1 g tartılmış ve üzerine 40 ml portakal suyu konularak

karıştırıcı yardımıyla 15 dakika çözülmesi sağlanmıştır (1250 mg/L). Bu karışımdan sırasıyla 50 µl, 100 µl, 200 µl ve 400 µl alınarak her biri deney tüpleri içerisinde portakal suyu ile 10 ml'e tamamlanmıştır. Her bir deney tüpünde sırasıyla elde edilen natamisin konsantrasyonu; 6,25 ppm, 12,50 ppm, 25 ppm ve 50 ppm olmuştur. Bu natamisin ilavesi yapılmış tüpler 2 saat bekletilmiştir. Natamisin ilaveli ve kontrol örneğinin bulunduğu tüplerden 1 ml alınarak 9 ml FTS bulunan tüplere aktarılıp  $10^{-1}$  dilüsyonu oluşturulmuştur ve bu şekilde  $10^{-6}$ 'a kadar seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Her bir numune için oluşturulan dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak PDA besiyerine ekim yapılmıştır. 2.saat ekimi yapıldıktan sonra natamisin ilaveli tüpler 4°C'de depolanarak 12.saat, 24.saat, 48.saat ve 72.saat ekimleri aynı şekilde seri dilüsyonlar hazırlanarak yapılmıştır. Ekimi yapılan petriyerler 3-4 gün 30°C'de inkübe edilmiştir. Sayım sonuçları için 20-300 arasında koloni bulunan petriyerler kullanılmıştır. Canlı kalan mikroorganizma sayısı (kob/ml) tespit edilmiştir ve karşılaştırılmıştır.

#### **3.2.4. DEA ve Natamisin muamelesi kombinasyonlarının inoküle portakal suyuna uygulaması**

*S. cerevisiae* kültürleri çalışmadan 1 gün önce aktif hale getirilmiştir. Kültürlerin portakal suyuna inokülasyonu yapılmıştır. İnoküle portakal suyu örnekleri vortekslenip karıştırıldıktan sonra 2 ml'lik elektroporasyon kuveti içerisinde steril pipet aracılığıyla aktarılmıştır. İçerisinde inoküle portakal suyu bulunan elektroporasyon kuveti cihazın haznesine konulduktan sonra 15 dakika boyunca 1 dakikalık aralıklarla atım uygulanmıştır. DEA muamelesi biten elektroporasyon kuvetindeki inoküle portakal suyu örneği daha önceden steril edilmiş deney tüplerine aktarılmıştır. Her bir deney tüpü 10 ml DEA'a maruz kalmış inoküle portakal suyu ile doldurulmuştur. Daha sonra %50'lik natamisin-laktoz karışımından 0,1 g tartılarak 40 ml saf portakal suyu içerisinde çözülerek 1250 ppm (mg/L)'lik bir çözelti elde edilmiştir. Elde edilen karışımdan sırasıyla 50 µl, 100 µl, 200 µl ve 400 µl alınarak önceden deney tüplerine alınan DEA uygulanmış inoküle portakal suyuna son hacmin 10 ml

olacak şekilde ilave edilerek sırasıyla DEA+6 ppm, DEA+12,5 ppm, DEA+25 ppm ve DEA+50 ppm örnekleri hazırlanmıştır. Ayrıca;

1. İnoküle portakal suyu (kontrol),
2. 1250 ppm'lik natamisin çözeltisinden hazırlanan 6,25 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm ve 50 ppm'lik natamisin ilaveli inoküle portakal suyu,
3. DEA uygulanmış inoküle portakal suyu

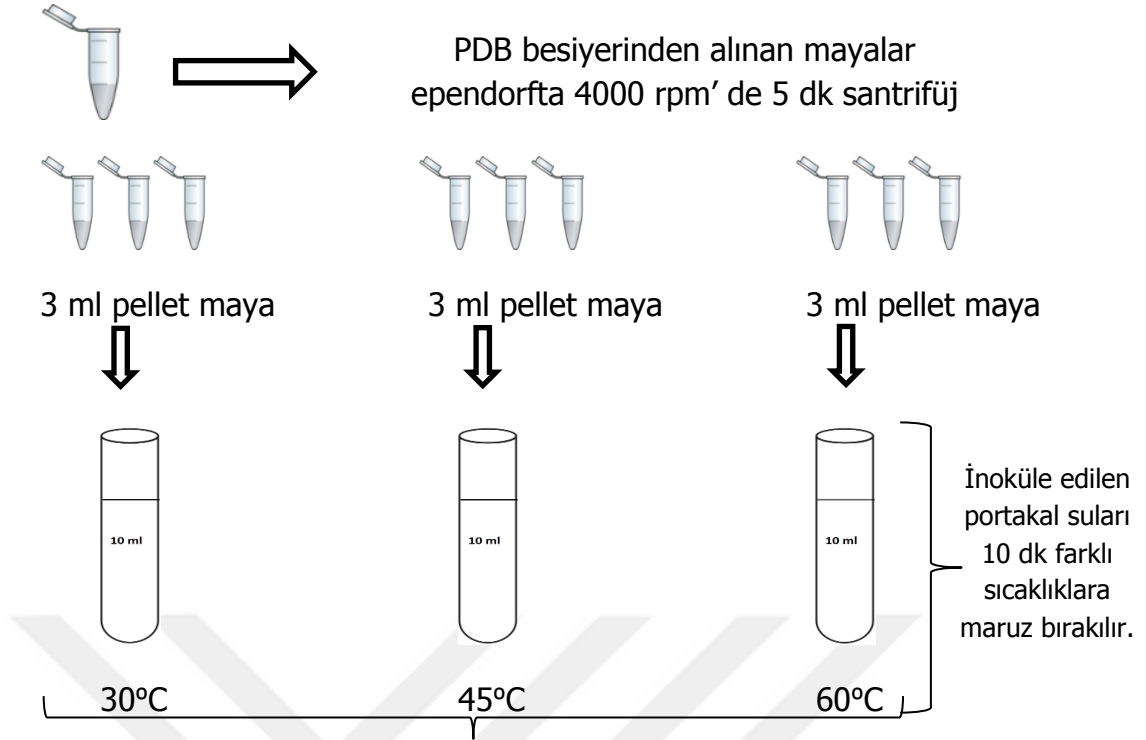
hazırlanmıştır.

Hazırlanan tüm örnekler ve kontrol 4°C'de depolanmış ve mikrobiyal değişimi incelemek amacıyla 0.gün, 5.gün, 10.gün ve 15.gün ekimleri yapılmıştır. Ekim yapılırken her bir örnekten 1'er ml alınarak 9 ml FTS bulunan tüplere ilave edilmiştir ( $10^{-1}$ ) ve bu şekilde  $10^{-6}$  dilüsyona kadar seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bütün muamelelerin dilüsyonlarından 0,1 ml alınarak PDA besiyerine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan tüm petriyerler 3-4 gün 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sayım sonuçları için 20-300 arasındaki koloni sayısına sahip petriyerler kullanılmıştır. Canlı kalan mikroorganizma sayısı (kob/ml) tespit edilmiş ve bütün uygulamalar arasında karşılaştırmalar yapılmıştır.

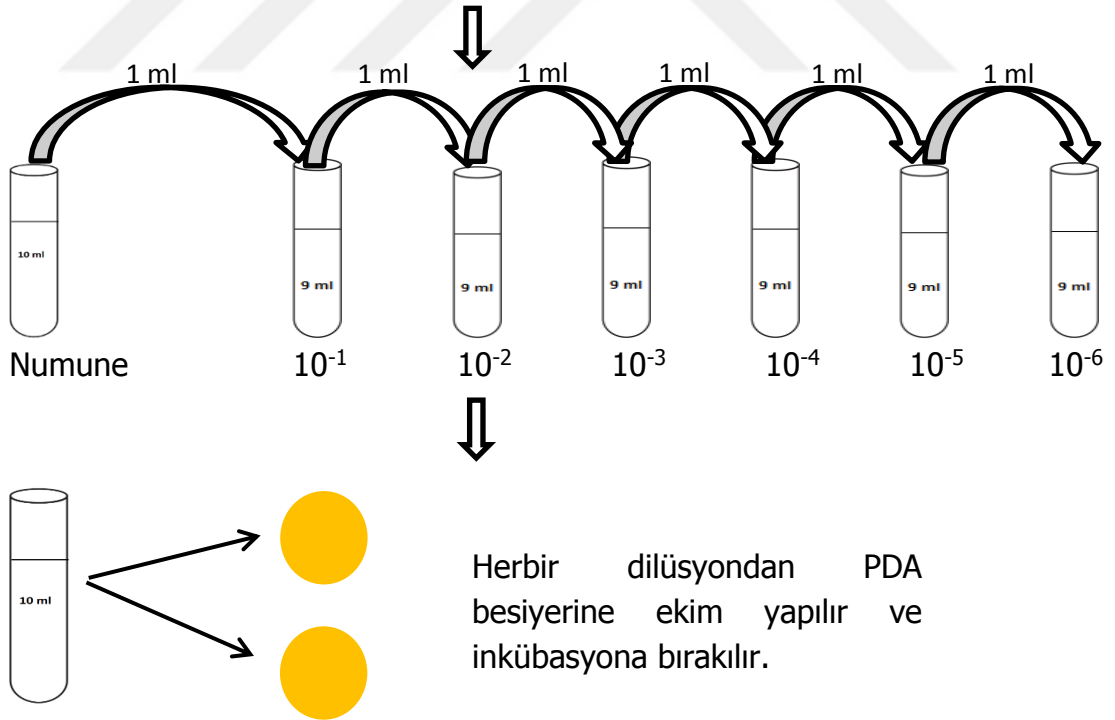
### **3.2.5. İnoküle portakal suyunun farklı sıcaklık uygulamaları ve farklı konsantrasyonlarda natamisin ile muamelesi**

*S. cerevisiae* kültürleri PDB besiyerine 100 µl ilave edilerek 30°C'de 1 gün inkübasyona bırakılıp aktif hale getirilmiştir. Aktif hale getirilen kültürler ependorflara steril pipetler yardımıyla 1 ml olacak şekilde alınarak santrifüj edilmiştir. Daha sonra 3 ependorf tüpünün dibindeki pellet portakal suyuna inoküle edilmiştir. İnoküle edilen portakal suları 10'ar dakika 30°C, 45°C ve 60°C sıcaklığa maruz bırakılmıştır. Daha sonra %50'lik natamisin-laktoz karışımından 0,1 g tartılarak 40 ml saf portakal suyu içerisinde çözülerek 1250 ppm'lik bir çözelti elde edilmiştir. Bu çözeltiden 30°C, 45°C ve 60°C

sıcaklığa maruz kalmış inoküle portakal sularına son hacim 10 ml olacak şekilde 0 ppm, 6,25 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm ve 50 ppm konsantrasyona sahip inoküle portakal suları elde edilmiştir. Bütün muamele görmüş örnekler 0.gün ekimi yapıldıktan sonra 5.gün, 10.gün ve 15.gün ekimi yapılmak üzere 4°C'de depolanmıştır. Tüm örneklerden 1 ml alınarak 9 ml FTS bulunan tüplere ilave edilmiştir ( $10^{-1}$ ) ve bu dilüsyondan da 1 ml alınarak aynı şekilde diğer 9 ml FTS bulunan tüplere aktarılarak seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak PDA besiyerine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 30°C'de 3-4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Sayım sonuçları için 20-300 sayımı yapılmıştır (Şekil 3.3). Bu şekilde canlı mikroorganizma sayıları (kob/ml) tespit edilmiştir ve karşılaştırmalar yapılmıştır.



Her bir sıcaklık için 0 ppm, 6,25 ppm, 12 ppm, 25 ppm, 60 ppm natamisin konsantrasyonlu numuneler hazırlanır. Hazırlanan numuneler 0, 5, 10 ve 15 gün 4°C'de depolanır.



Şekil 3.3. İnoküle portakal suyuna farklı sıcaklıklarda natamisin uygulamasının gösterimi

### **3.2.6. Kalite analizleri**

#### **3.2.6.1 DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda pH tayini**

Kontrol ve muamele görmüş örneklerin pH analizi Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyolojik Analiz Laboratuvarında bulunan WTW marka pH metre ile yapılmıştır.

#### **3.2.6.2 DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda titrasyon asitliği tayini**

Titrasyon asitliği analizi 10 ml örnek üzerine 20 ml saf su eklenmiş ve pH'ı 8,2 oluncaya kadar 0,1 N NaOH ile titre edilerek belirlenmiştir.

#### **3.2.6.3 DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda renk tayini**

Kontrol ve muamele görmüş örneklerin Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Et Laboratuvarında bulunan Precise Color Reader TCR 200 adlı cihazda renk analizi yapılmıştır. Renk ölçer ile L\*, a\*, b\* cinsinden ölçümü yapılmıştır. L\*, rengin koyuluğunu ve açıklığını; a\* (-) yeşil, (+) kırmızı; b\* ise (-) mavi, (+) sarı olduğunu gösterir.

#### **3.2.6.4 DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda °briks tayini**

Briks analizi Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Kimyasal Analiz Laboratuvarında bulunan Atago Hand Refractometer N-1E Brix %0-32 adlı cihazda yapılmıştır. Örneklerden birkaç damla refraktometrede haznesine konulmuştur. Suda çözünen kuru madde miktarları (%) tespit edilmiştir.

### **3.2.6.5 DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda askorbik asit (C vitamini) tayini**

%0,1'lik askorbik asit standart çözeltisinden 100 ml'lik balon jodelere sırasıyla 1, 2, 3, 4 ve 5 ml aktarılır ve daha sonra balon jodeler çizgilerine kadar stabilizan (%0,4'lük okzalik asit çözeltisi ) ile tamamlandı. Balon jodeler için ikişer tane tüp alınır, bunların her birine 1'er ml aktarıldı, tüplerden birine 9 ml su diğerine 9 ml boya çözeltisi (12 mg/L diklorindofenol) konuldu. Saf su konulanla 518 nm'de sıfırlama yapıldı ve boya çözeltisi ilave edilenle 518 nm'de absorbens değerleri okundu. Herbir balon joje için bu işlem yapılır ve değerler  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$  ve  $A_5$  olarak kaydedildi. 5 balon joje için okuma yapıldıktan sonra 2 tüpe 1'er ml stabilizan çözeltisi konuldu ve bir tanesinin üzerine 9 ml saf su ve diğerine 9 ml boya çözeltisi eklendi. Saf su konulanla sıfırlama yapılır ve diğerinin 518 nm'de absorbens değeri okundu. Bu absorbens değeri de  $A_0$  olarak kaydedildi.  $A_0$  değerlerinden  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$  ve  $A_5$  değerleri çıkarılır ve 5 değer elde edildi. Bu değerler 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg ve 5 mg askorbik asite karşılık gelen absorbens değerleri olmaktadır. Askorbik asit değerlerine karşılık absorbens değerleri grafiğe dökülerek  $y=ax+b$  denklemi elde edildi. Sonrasında gıda örneği için aynı işlem yapılır ve okunan absorbens değeri denklemde yerine yazılarak karşılık gelen askorbik asit içeriği hesaplandı (Hışıl vd. 2004).

### **3.2.6.6 DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda Hidroksimetilfurfural (HMF) Tayini**

5 ml numune ayırma hunisine alınarak üzerine 10 ml etil asetat ilave edildi, 5 dakika boyunca hızlıca çalkalandı. Etil asetat fazı (üst faz) alınarak numune tekrar 10 ml etil asetat ile 5 dakika boyunca çalkalandı. Etil asetatlı fazlar birleştirilir ve 2 ml %1,5'lik  $Na_2CO_3$  ile tekrar çalkalandı. Bu kısım fazla uzun tutulmuştur. Etil asetatlı kısım alınarak  $Na_2CO_3$  fazı 10 ml etil asetat ile tekrar ekstrakte edildi. Etil asetatlı fazlar birleştirilerek mavi bant süzgeç kağıdı ile süzüldü. Süzüntü 5 damla asetik asit ile asitlendirildi. Evaporatörde 40°C'de



kuruluğa kadar evapore edildi. Kalıntı 1 ml pH'ı 4 olan asetik asit çözeltisi ile çözülür ve 20 µL'si HPLC cihazına enjekte edildi.

#### **Kullanılan Shimadzu Marka HPLC cihazı ile ilgili özellikler:**

- Dedektör: DAD ( $\lambda_{max}=276nm$ )
- Sistem kontrol: SCL-10Avp
- Pompa: LC-10ADvp
- Kolon fırını: CTO-10Avp
- Kolon: Luna C18 (2) (250x4,60 mm) 5 mikron
- Mobil faz: ACN/H<sub>2</sub>O (5:95)
- Akış Hızı: 1 ml / dakika
- Kolon sıcaklığı: 30°C
- Enjeksiyon hacmi: 20 µl

Gökmen V., vd. (1999)'un yaptığı çalışmadaki yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır.

#### **3.2.6.7 DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda toplam fenolik madde tayini**

Örneklerin toplam fenolik madde tayini, Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır (Singleton ve Rossi (1965); Doğançay, 2013). Folin ayırıcı ile muamele edildikten sonra oluşan mavi renk, spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda şahide karşı okunmuştur. Örnekte ölçülecek absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanan standart eğrinin denkleminde hesaplanmıştır. Toplam fenolik bileşik miktarı; meyve suları, meyve şarapları ve meyve sirkelerinde "mg gallik asit/ml" cinsinden belirlenmiştir.

### **3.2.6.8 DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda antioksidan aktivitesi Tayini**

Portakal suyunun DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) üzerindeki serbest radikalleri temizleyici etkileri Lafka vd. (2007) tarafından modifiye edilmiş metot kullanılarak ölçülmüştür. Metanol kullanılarak farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örnek çözeltilisinin 0,1 ml'si üzerine yine metanolde hazırlanan (25 mg/L) DPPH çözeltilisinden 3,9 ml ilave edilmiş ve vortekste 30 saniye karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir. Karanlıkta inkübasyon sonrasında, örneklerin absorbansı UV-DAD spektrofotometre kullanılarak 515 nm'de metanole karşı ölçülmüştür. Örneklerin serbest radikalleri temizleyici etkileri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerden elde edilen % inhibisyon değerleri ile konsantrasyon değerleri grafiğe geçirilerek her bir örnek için DPPH'in etkisini %50 azaltan etkili konsantrasyon (EC<sub>50</sub>) ml/g olarak hesaplanmıştır.

### **3.2.7. İstatistiksel analiz**

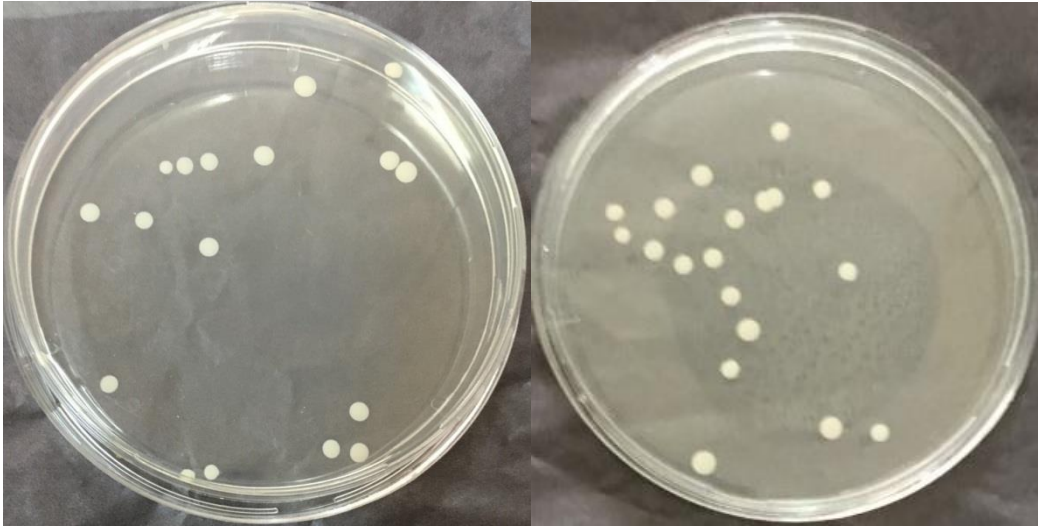
Portakal suyunda DEA ve natamisin uygulaması sonucu *S. cerevisiae*'nin sayısındaki değişim Annova istatistiksel programında varyans analizi ile Duncan tek yönlü karşılaştırma testi kullanılarak %95 güven aralığında değerlendirilmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Mikrobiyolojik sonuçlar

#### 4.1.1. Portakal suyuna inoküle edilen *Saccharomyces cerevisiae*'nin mikrobiyolojik sayımı ve gelişimi

Çalışmak için seçtiğimiz *S. cerevisiae*'nin portakal suyuna inokülasyonunda  $10^6$  düzeyinde bir mikrobiyal yüke ulaşılacak istenmiştir. Bu amaçla portakal suyuna inoküle ettiğimizde elde ettiğimiz sonuç sayım sonuçları  $7,14 \pm 0,06$  kob/ml olmuştur. *S. cerevisiae*'nin PDA besiyeri üzerinde koloni gelişimi Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



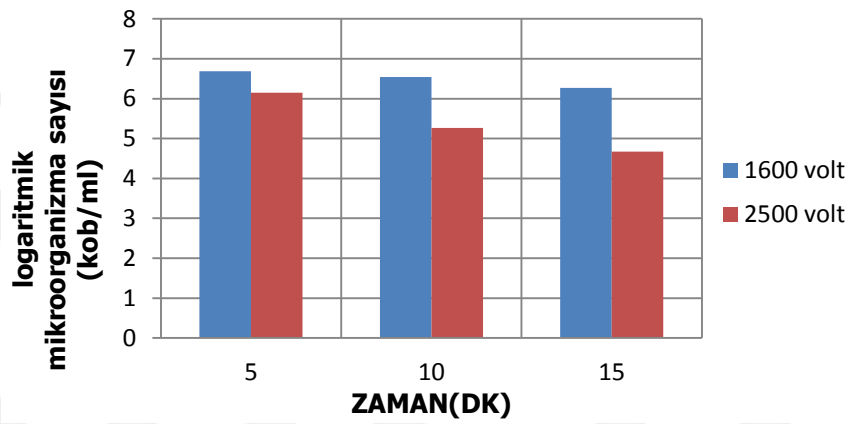
Şekil 4.1. *S. cerevisiae*'nin PDA besiyerindeki gelişimi

#### 4.1.2. İnoküle portakal suyuna DEA ön uygulamalarının sonuçları

Farklı şiddette DEA uygulaması ile *S. cerevisiae*'nin koloni sayılarındaki logaritmik değişim, Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı şiddetteki DEA ve farklı süre uygulaması sonucu inoküle portakal suyunda bulunan *S. cerevisiae*'nin koloni sayılarındaki logaritmik değişim (kob/ml)

SÜRE(DAKİKA)	1600 volt	2500 volt
5	6,69±0,02	6,15±0,02
10	6,54±0,06	5,27±0,00
15	6,27±0,04	4,67±0,02



Şekil 4.2. Farklı şiddetteki DEA ve farklı süre uygulaması sonucu inoküle portakal suyunda bulunan *S. cerevisiae*'nin koloni sayılarındaki logaritmik değişim (kob/ml)

Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2' de 1600 volt ve 2500 voltluk DEA uygulamalarının süreye göre etkileri incelendiğinde en etkin değer 2500 volt DEA şiddetinin 15 dakika uygulanmasıyla gerçekleşmiştir. Kontrol numunesinde canlı *S. cerevisiae*'nin logaritmik sayısı 7,14 kob/ml'dir ve 2500 volt-15 dakika DEA uygulamasından sonra bu değer, Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi 4,67 kob/ml'e düşmüştür. Kontrol numunesi ile kıyaslandığında 2,47 kob/ml düzeyinde bir azalma gerçekleşmiştir. 2500 volt elektrik alan şiddetinin 1600 volt uygulamasına göre daha etkin olduğu da görülmektedir. Raso vd. (1998) çeşitli meyve sularında *Zygosaccharomyces bailii* inhibisyonu üzerine uyguladıkları 32-36,5 kV/cm şiddetinde yüksek titreşimli elektrik alan sonucu *Z. bailii* sayısında sırasıyla 3,5 ile 5 log bir azalma olmuştur. Zhao vd. (2011)

15 ve 20 kV/cm gibi voltajlarda elektrik alan uygulamasının hücrenin geçirgenliğini sırasıyla %10 ve %20 oranında yeniden kazandığını göstermiştir. Buna karşın 25 kV/cm gibi daha yüksek yoğunluklarda PEF uygulaması hücrede kalıcı hasar bırakmıştır. Bir başka benzer sonucu Cserhalmi vd. (2002) sterilize elma suyuna  $4 \times 10^6$  kob/ml düzeyinde *S. cerevisiae* inoküle ederek gerçekleştirmiştir. 10 ile 28 kV/cm arası elektrik alan kuvveti uygulamışlardır. 10 kV/cm'lik DEA hücre sayısında yaklaşık 0,5 log, 20 kV/cm'lik DEA hücre sayısında 1,5 log bir azalma yaparken, 28 kV/cm'lik DEA uygulaması hücre sayısında 3,4 log azalma ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Bu durum daha yüksek şiddette elektrik alan uygulamasının hücre inaktivasyonunu artırdığını göstermiştir.

Çalışmamızda 1600 volt ve 2500 volt elektrik alan şiddetinde 5, 10 ve 15 dk'lık uygulamalarda Şekil 4.2'de görüldüğü gibi süre ile beraber atım sayısının artması inaktivasyonu artırdığı belirlenmiştir. Benzer bir çalışma Kuldiloke vd. (2008) başlangıç inokülüm miktarı  $10^6$  kob/ml olan portakal suyunda maya (*S. cerevisiae*) inaktivasyonu amacıyla gerçekleştirmiştir. 15 kV/cm DEA şiddetinde 0, 20, 40 ve 60 atım uygulanmıştır ve *S. cerevisiae* sayısı sırasıyla  $3,8 \times 10^5$ ,  $1,3 \times 10^4$ ,  $5,7 \times 10^3$  ve  $4,4 \times 10^3$  kob/ml olmuştur. Geveke vd. (2003)'de deiyonize su içerisinde başlangıç inokülüm miktarı  $6 \times 10^6$  kob/ml olan *S. cerevisiae* üzerine 12,5 kV/cm yoğunluğa sahip darbeli elektrik alan uygulamışlardır. 5 atım sonucu yaklaşık olarak 3,3 log düzeyinde bir azalma olurken 2 atım uygulandığında *S. cerevisiae* sayısında yaklaşık 2,5 log azalma gerçekleşmiştir.

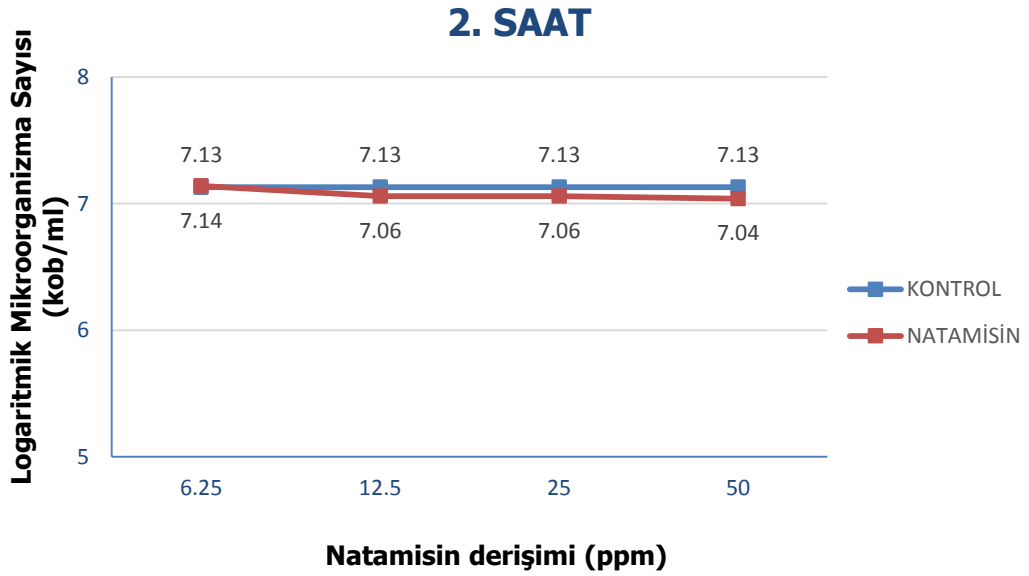
#### **4.1.3. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesinin sonuçları**

İnoküle portakal suyuna ilave edilen natamisin miktarlarının zamana göre etkisi incelenmiştir.

Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3'te tüm natamisin konsantrasyonlarında 2.saat sonundaki inoküle portakal suyunda bulunan *S. cerevisiae*'nin mikrobiyal yükündeki değişim gösterilmiştir. 2 saat sonunda tüm natamisin konsantrasyonlarının etkisi kontrol numunesi ile karşılaştırıldığında benzer şekilde çok küçük değerler olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu *S. cerevisiae* kolonilerinde 2.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml)

DERİŞİM(PPM)	KONTROL (kob/ml)	LOGARİTMİK SAYIM(kob/ml)	LOGARİTMİK FARK
6,25	7,13±0,05 <sup>a</sup>	7,14±0,03 <sup>a</sup>	-0,01
12,5	7,13±0,05 <sup>a</sup>	7,06±0,04 <sup>b</sup>	0,07
25	7,13±0,05 <sup>a</sup>	7,06±0,02 <sup>b</sup>	0,07
50	7,13±0,05 <sup>a</sup>	7,04±0,01 <sup>b</sup>	0,09



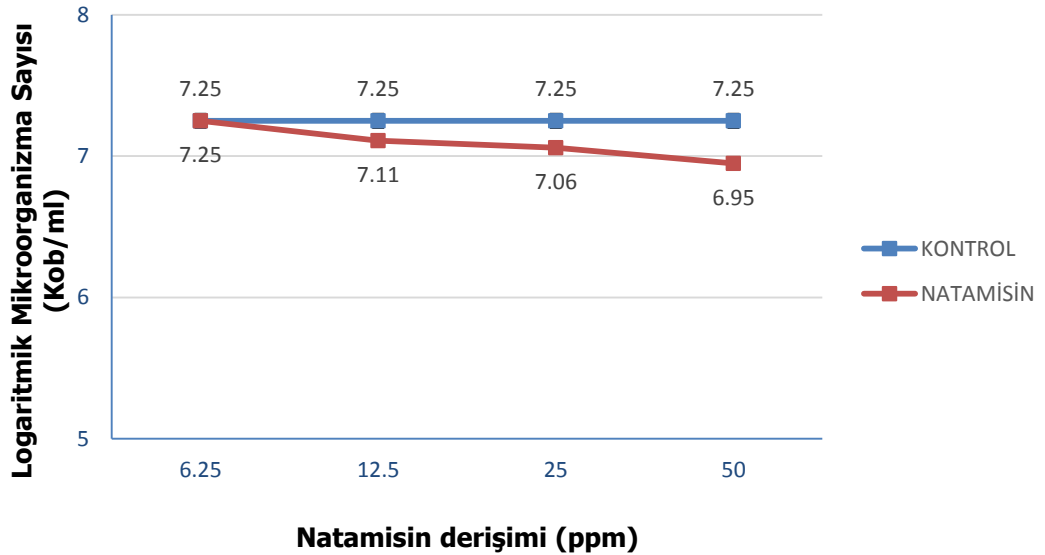
Şekil 4.3. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisinin 2.saat sonundaki *S. cerevisiae* kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml)

Şekil 4.4’de görüldüğü gibi 12 saat sonunda en düşük konsantrasyon 6,25 ppm natamisin ilavesinin bir etkisi olmazken 12,5 ppm, 25 ppm ve 50 ppm’de çok küçük bir etki tespit edilmiştir. Bu değerler kontrol numunesi ile kıyaslandığında 50 ppm konsantrasyonunun en iyi etki olduğu ve *S. cerevisiae*’nin canlı hücre sayımında 0,30 değerinde bir logaritmik azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu *S. cerevisiae* kolonilerinde 12.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml)

DERİŞİM(PPM)	KONTROL (kob/ml)	LOGARİTMİK SAYIM(kob/ml)	LOGARİTMİK FARK
6,25	7,25±0,05 <sup>a</sup>	7,25±0,02 <sup>a</sup>	0
12,5	7,25±0,05 <sup>a</sup>	7,11±0,01 <sup>b</sup>	0,14
25	7,25±0,05 <sup>a</sup>	7,06±0,02 <sup>c</sup>	0,19
50	7,25±0,05 <sup>a</sup>	6,95±0,02 <sup>d</sup>	0,30

### 12. SAAT

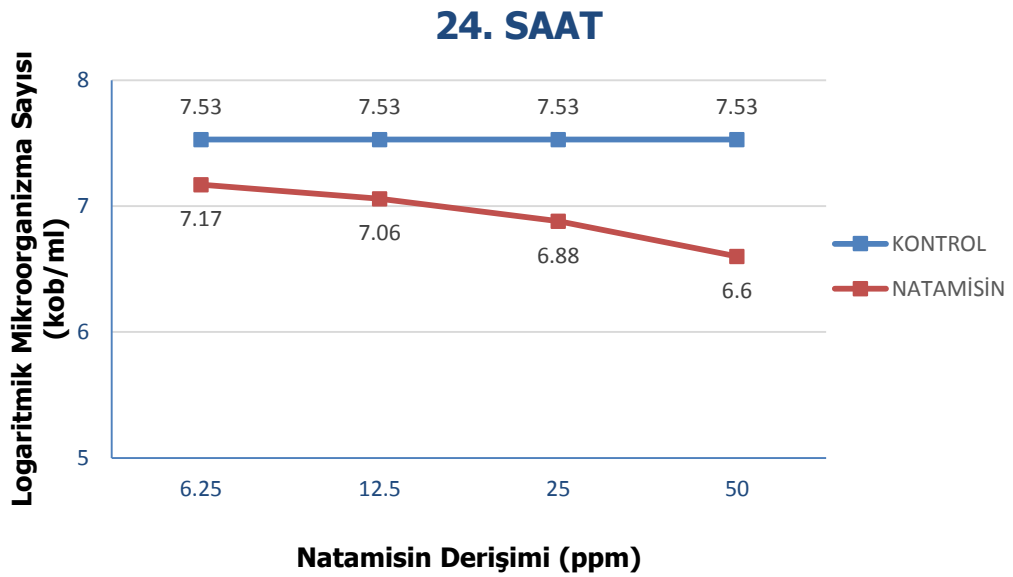


Şekil 4.4. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisin 12.saat sonundaki *S. cerevisiae* kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml)

*S. cerevisiae*'nin natamisin ilavesinden 24 saat sonraki logaritmik değişimi incelendiğinde 24 saat sonunda natamisinin *S. cerevisiae* üzerindeki etkisinin natamisin konsantrasyonu ile artmıştır(Çizelge 4.4 ve Şekil 4.5).

Çizelge 4.4. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu *S. cerevisiae* kolonilerinde 24.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml)

DERİŞİM (PPM)	KONTROL (kob/ml)	LOGARİTMİK SAYIM(kob/ml)	LOGARİTMİK FARK
6,25	7,53±0,03 <sup>a</sup>	7,17±0,00 <sup>b</sup>	0,36
12,5	7,53±0,03 <sup>a</sup>	7,06±0,00 <sup>c</sup>	0,47
25	7,53±0,03 <sup>a</sup>	6,88±0,01 <sup>d</sup>	0,65
50	7,53±0,03 <sup>a</sup>	6,6±0,01 <sup>e</sup>	0,93



Şekil 4.5. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisinin 24.saat sonundaki *S. cerevisiae* kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml)

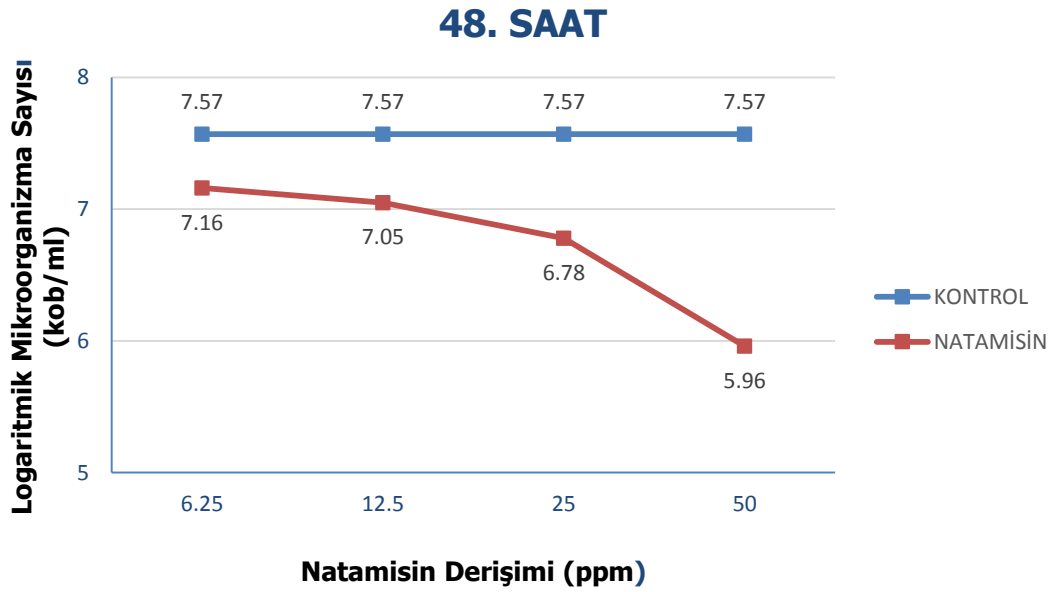
Çizelge 4.5 ve Şekil 4.6'da *S. cerevisiae*'in 48 saat sonundaki logaritmik mikrobiyal değişimi görülmektedir. *S. cerevisiae* üzerinde tüm natamisin konsantrasyonlarına bakıldığında 6,25 ppm küçük bir logaritmik azalma



yaparken, 25 ppm ve 50 ppm konsantrasyonlarda ki logaritmik azalma 6,25 ppm'e göre sırasıyla yaklaşık olarak 2 ve 4 kat daha etkili olmuştur. Ayrıca 12,5 ppm natamisin konsantrasyonu 6,25 ppm natamisin konsantrasyonuna yakın bir etki göstermiştir.

Çizelge 4.5. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu *S. cerevisiae* kolonilerinde 48.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml)

DERİŞİM(PPM)	KONTROL (kob/ml)	LOGARİTMİK SAYIM(kob/ml)	LOGARİTMİK FARK
6,25	7,57±0,01 <sup>a</sup>	7,16±0,02 <sup>b</sup>	0,41
12,5	7,57±0,01 <sup>a</sup>	7,05±0,01 <sup>c</sup>	0,52
25	7,57±0,01 <sup>a</sup>	6,78±0,01 <sup>d</sup>	0,79
50	7,57±0,01 <sup>a</sup>	5,96±0,03 <sup>e</sup>	1,61

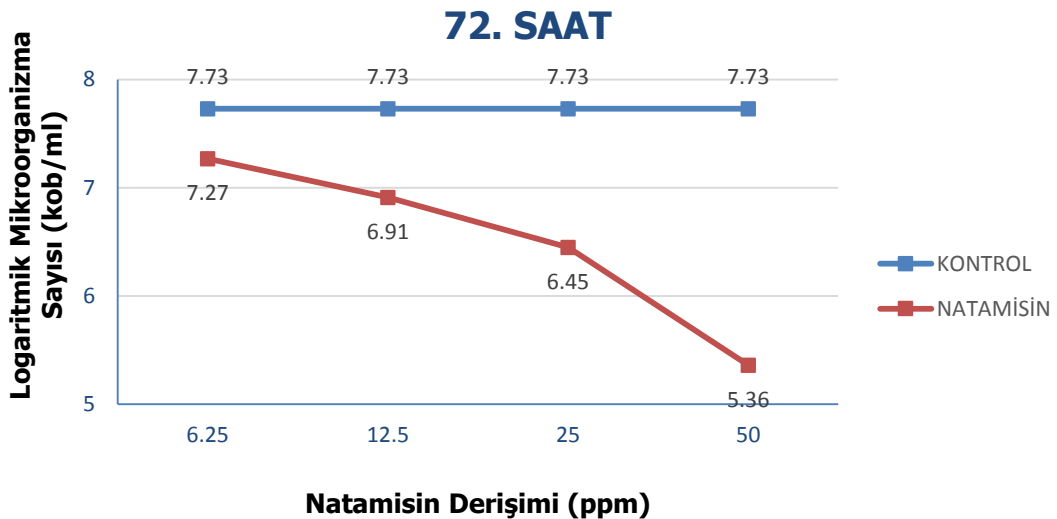


Şekil 4.6. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisinin 48.saat sonundaki *S. cerevisiae* kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml)

72 saat sonunda natamisin konsantrasyonlarının *S. cerevisiae* üzerine etkisi belirgin bir şekilde, Çizelge 4.6 ve Şekil 4.7'de görülmektedir. 72.saat sonunda 6,25 ppm konsantrasyonda natamisin bulunan örnekte çok küçük miktarda bir logaritmik azalma görülürken, 12,5 ppm'de de 72 saatte önemli miktarda bir logaritmik azalma görülmemiştir. 25 ppm ve 50 ppm konsantrasyonda natamisin ilave edilmiş örneklerde *S. cerevisiae* üzerinde dikkate değer bir logaritmik azalma kaydedilmiştir. 25 ppm ve 50 ppm konsantrasyonlarda sırasıyla 1 ve 2'den daha fazla logaritmik azalma görülmüştür.

Çizelge 4.6. İnoküle portakal suyuna farklı konsantrasyonlarda natamisin ilavesi sonucu *S. cerevisiae* kolonilerinde 72.saat sonundaki logaritmik değişim (kob/ml)

DERİŞİM (PPM)	KONTROL (kob/ml)	LOGARİTMİK SAYIM(kob/ml)	LOGARİTMİK FARK
6,25	7,73±0,04 <sup>a</sup>	7,27±0,04 <sup>b</sup>	0,46
12,5	7,73±0,04 <sup>a</sup>	6,91±0,02 <sup>c</sup>	0,82
25	7,73±0,04 <sup>a</sup>	6,45±0,05 <sup>d</sup>	1,28
50	7,73±0,04 <sup>a</sup>	5,36±0,02 <sup>e</sup>	2,37



Şekil 4.7. İnoküle portakal suyuna ilave edilen farklı konsantrasyonlarda natamisin 72.saat sonundaki *S. cerevisiae* kolonileri üzerinde gösterdiği logaritmik değişim (kob/ml)

Natamisin ile muamele edilmiş bütün örnekler ve kontrol örneğinin zamana göre etkisi incelenmiştir. 6,25 ppm natamisin içeren örnekteki *S. cerevisiae*'nin logaritmik mikroorganizma sayısında (kob/ml) 2.saat sonunda kontrol ile hiçbir farklılık göstermemiştir ve 6,25 ppm natamisin içeren örnekte 2.saat sonundaki logaritmik sayım ile 48.saat sonundaki logaritmik sayım arasında hiçbir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca 6,25 ppm natamisin içeren örnekte 72.saat sonundaki *S. cerevisiae*'nin logaritmik mikroorganizma sayısı (kob/ml) 2.saat ile kıyaslandığında artış gözlenmiştir ve kontrol örneğinin 12.saat sonunda gelişen mikroorganizma sayısına benzer olduğu gözlenmiştir. Yani 6,25 ppm konsantrasyonda natamisin ilavesinin mikroorganizma miktarını sabit bir düzeyde tuttuğunu veya küçük bir miktarda mikrobiyal gelişimin olduğunu göstermiştir. 12,5 ppm natamisin ilave edilmiş örnekte, 6,25 ppm natamisin ilave edilmiş örneğe benzer bir şekilde 2.saat sonundaki *S. cerevisiae* sayısı 48.saat sonundaki *S. cerevisiae* sayısından bir farklılık göstermemiştir. Ayrıca 12,5 ppm natamisin ilave edilmiş örnekte 72 saat sonundaki mikrobiyal sayım 2.saat sonundaki mikrobiyal sayım ile kıyaslandığında 0,15 kob/ml gibi küçük bir oranda azalma göstermiştir ( $p < 0,05$ ). Çalışmamıza benzer bir sonucu Kung vd. (2007), bira prosesinde bozulma etmeni olan *S. cerevisiae*'nin sayısını kontrol altında tutmak üzerine yaptıkları çalışmada bulmuştur. Natamisinin minimum inhibitör konsantrasyonlarının 7 mg/L ve 9 mg/L olduğunu göstermişlerdir. Sonuçların yakın olması bira ve portakal suyunun pH değerlerinin birbirine yakın olması ile yorumlanabilir ve natamisinin stabilitesinin benzer düzeyde korunduğunu gösterebilmektedir. 25 ppm natamisin ilaveli örnekte 2.saat ve 12.saat sonunda mikrobiyal sayım benzerlik gösterirken 12.saatten itibaren 72.saat sonuna kadar mikrobiyal sayım sonucunda sürekli olarak bir azalma gözlenmiştir ve bu azalma değerlerinin anlamlı bir düzeyde olduğu istatistiksel olarak gösterilmiştir. Ayrıca 25 ppm ilave edilmiş örnekte 72.saat sonundaki *S. cerevisiae* sayısı ile 2.saat sonundaki logaritmik fark 0,61 düzeyinde olup 12,5 ppm ilave edilmiş natamisinin göstermiş olduğu logaritmik farkın 4 katı olduğu görülmüştür ( $p < 0,05$ ). Gallo vd. (2006)'nın peynir altı suyunda *S. cerevisiae*'nin inaktivasyonu üzerine yapmış olduğu

çalışmada natamisin depolama boyunca uygulandığında, 20°C (25 mg/L)'de 72 saat sonra 4,7 log azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. 50 ppm natamisin ilaveli örneğe baktığımızda ise 25 ppm natamisin ile benzer bir şekilde 2.saat sonundan itibaren 72.saate kadar düzenli olarak *S. cerevisiae* sayısında bir azalma görülmüştür (Çizelge 4.7). Ollé vd. (2014) peyniraltı suyuna 4 kob/ml düzeyinde *S. cerevisiae* inoküle ettikten sonra örneklere 20 ppm ve 50 ppm düzeyinde natamisin ilavesi sonucu 96 saat sonunda sırasıyla yaklaşık olarak 2,75 kob/ml ve 4 kob/ml'lik bir azalma meydana gelmiştir.

Çizelge 4.7. Zamana göre natamisin konsantrasyonlarının portakal suyuna inoküle edilen *S. cerevisiae* üzerine etkisinin karşılaştırılması

DERİŞİM (ppm)	2. saat	12. saat	24. saat	48.saat	72.saat
kontrol	7,13±0,05 <sup>e,f</sup>	7,25±0,05 <sup>d</sup>	7,53±0,03 <sup>c</sup>	7,57±0,01 <sup>b</sup>	7,73±0,04 <sup>a</sup>
6,25	7,14±0,03 <sup>e,f</sup>	7,25±0,02 <sup>d</sup>	7,17±0,00 <sup>e</sup>	7,16±0,02 <sup>e,f</sup>	7,27±0,04 <sup>d</sup>
12,5	7,06±0,04 <sup>g</sup>	7,11±0,01 <sup>f</sup>	7,06±0,00 <sup>g</sup>	7,05±0,01 <sup>g</sup>	6,91±0,02 <sup>h,i</sup>
25	7,06±0,02 <sup>g</sup>	7,06±0,02 <sup>g</sup>	6,88±0,01 <sup>i</sup>	6,78±0,01 <sup>j</sup>	6,45±0,05 <sup>l</sup>
50	7,04±0,01 <sup>g</sup>	6,95±0,02 <sup>h</sup>	6,6±0,01 <sup>k</sup>	5,96±0,03 <sup>m</sup>	5,36±0,02 <sup>n</sup>

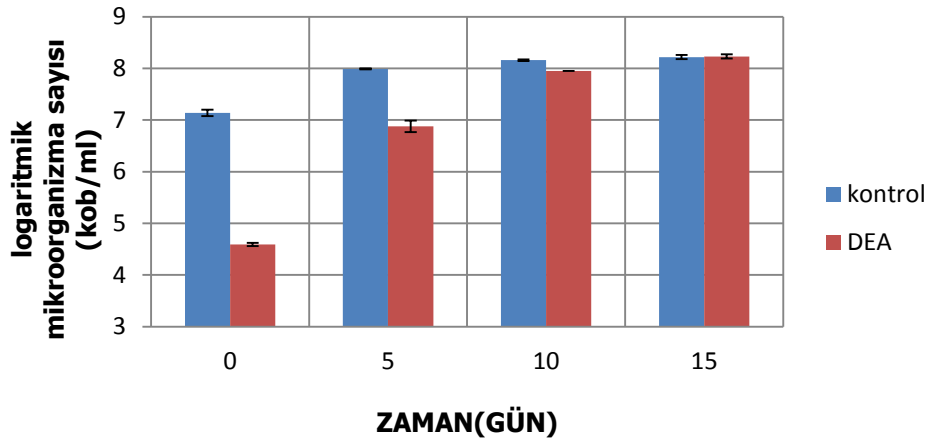
#### 4.1.4. DEA muamelesi ve farklı konsantrasyonlarda Natamisin kombinasyonlarının inoküle portakal suyuna uygulanmasının sonuçları

*S. cerevisiae* üzerinde en yüksek inaktivasyonu sağlayan 2500 voltta 15 dakika DEA inoküle portakal suyuna uygulanmıştır (Çizelge 4.1). *S. cerevisiae*'nin başlangıç inokülümü 7,14 kob/ml'dir ve inoküle portakal suyuna uygulanan DEA *S. cerevisiae*'nin logaritmik sayısını 4,59 kob/ml'e azaltmıştır (Çizelge 4.8). Kontrol ile DEA uygulanmış portakal suyu örnekleri 5, 10 ve 15.gün sonunda *S. cerevisiae* gelişimini incelemek amacıyla 4°C'de muhafaza edilmiştir. 5, 10 ve 15.gün sonunda DEA uygulanan örnekte bulunan *S. cerevisiae*'nin sayısı sırasıyla 6,88 kob/ml, 7,95 kob/ml, 8,23 kob/ml olmuştur. Şekil 4.8'de DEA uygulanmış örnekte *S. cerevisiae* sayısı 0.günde azalmasının ardından 5, 10 ve 15.günlerde tekrardan bir artış meydana

geldiği görülmektedir. DEA uygulanmış örnekte bulunan *S. cerevisiae* sayısı 15.gün sonunda kontrol örneği ile eşit düzeyde olmuştur ( $p<0,05$ ).

Çizelge 4.8. 0, 5, 10 ve 15. günler sonunda inoküle portakal suyu ve DEA uygulanmış inoküle portakal suyu örneklerinin *S. cerevisiae* koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim (kob/ml)

ZAMAN(GÜN)	KONTROL (kob/ml)	DEA (kob/ml)	LOGARİTMİK FARK(kob/ml)
0	7,14±0,06 <sup>c</sup>	4,59±0,03 <sup>e</sup>	2,55
5	7,99±0,01 <sup>b</sup>	6,88±0,01 <sup>d</sup>	1,11
10	8,16±0,02 <sup>a</sup>	7,95±0,00 <sup>b</sup>	0,21
15	8,22±0,04 <sup>a</sup>	8,23±0,04 <sup>a</sup>	-0,01



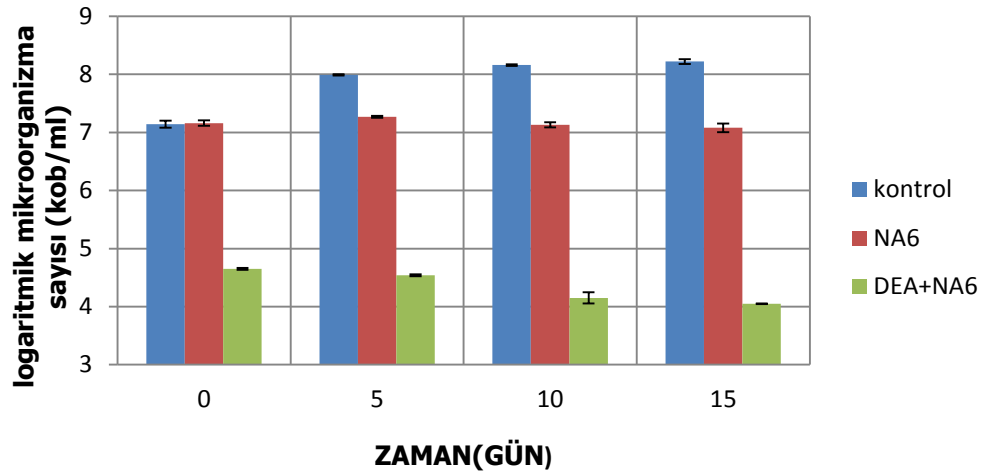
Şekil 4.8. 0, 5, 10 ve 15. günlerin sonunda inoküle portakal suyu ve DEA uygulanmış inoküle portakal suyu örneklerinde *S. cerevisiae* koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim

DEA ve 6,25 ppm natamisin (NA6) kombinasyonunun *S. cerevisiae* sayısı üzerindeki logaritmik değişimi incelenmiştir. Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi kontrol örneğinde 15 günlük depolama süresi boyunca *S. cerevisiae* sayısında bir artış meydana gelirken NA6 örneğinde 15.gün sonunda istatistiksel olarak 0.günden herhangi bir fark tespit edilmemiştir. DEA+NA6 örneğinde ise

0.güne göre 15.gün sonunda 0,60 kob/ml miktarında logaritmik azalma görülmüştür ( $p < 0,05$ ).

Çizelge 4.9. DEA ve 6,25 ppm natamisin (NA6) kombinasyonun inoküle portakal suyunda bulunan *S. cerevisiae*'nin logaritmik sayısına etkisi

ZAMAN(GÜN)	KONTROL (kob/ml)	NA6 (kob/ml)	DEA+NA6 (kob/ml)
0	7,14±0,06 <sup>d</sup>	7,16±0,05 <sup>d</sup>	4,65±0,02 <sup>e</sup>
5	7,99±0,01 <sup>b</sup>	7,27±0,02 <sup>c</sup>	4,54±0,02 <sup>f</sup>
10	8,16±0,02 <sup>a</sup>	7,13±0,05 <sup>d</sup>	4,15±0,09 <sup>g</sup>
15	8,22±0,04 <sup>a</sup>	7,08±0,08 <sup>d</sup>	4,05±0,01 <sup>h</sup>



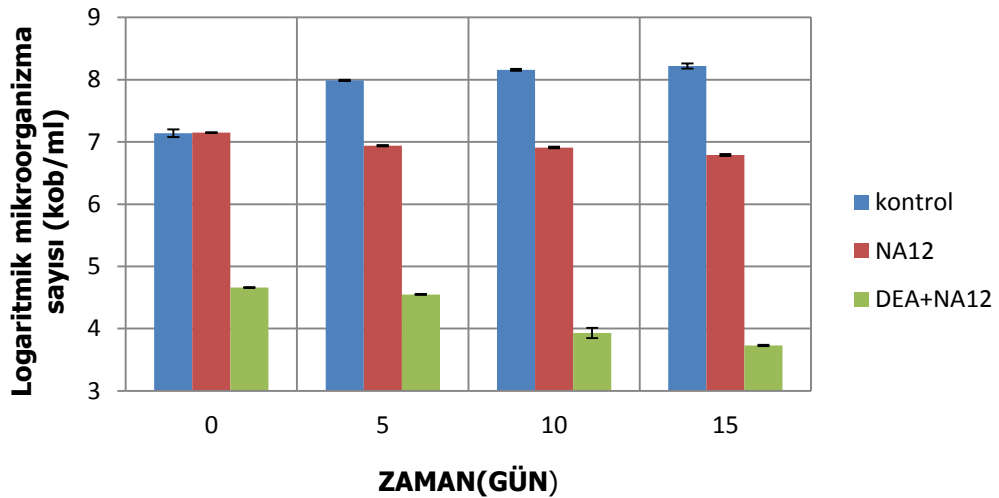
Şekil 4.9. 0, 5, 10 ve 15.gün sonunda kontrol, 6,25 ppm natamisin (NA6) ve DEA+NA6 örneklerinde *S. cerevisiae* koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim

Çizelge 4.10 ve Şekil 4.10'da DEA ve 12,5 ppm natamisin (NA12) kombinasyonun *S. cerevisiae* sayısı üzerindeki logaritmik değişimi göstermektedir. Kontrol örneğinde 15 gün sonunda *S. cerevisiae* sayısı artış göstermektedir. NA12 örneğinde 5.gün ve 10.gün sonunda *S. cerevisiae* sayısı aynı olduğu tespit edilmiştir ve 15.gün sonunda 0,36 kob/ml miktarında bir

azalma meydana gelmiştir. DEA+NA12 örneğinde ise DEA uygulamasından sonra *S. cerevisiae* sayısı 4,66 kob/ml düzeyine azaldığı ve sonra natamisin ilavesi ile *S. cerevisiae* sayısı 0.günden 15.günün sonuna kadar 0,93 kob/ml'lik bir azalış göstermiştir ( $p<0,05$ ).

Çizelge 4.10. DEA ve 12,5 ppm natamisin (NA12) kombinasyonunun inoküle portakal suyunda bulunan *S. cerevisiae*'nin logaritmik sayısına etkisi

ZAMAN(GÜN)	KONTROL (kob/ml)	NA12 (kob/ml)	DEA+NA12 (kob/ml)
0	7,14±0,06 <sup>c</sup>	7,15±0,01 <sup>c</sup>	4,66±0,01 <sup>f</sup>
5	7,99±0,01 <sup>b</sup>	6,94±0,01 <sup>d</sup>	4,55±0,01 <sup>g</sup>
10	8,16±0,02 <sup>a</sup>	6,91±0,01 <sup>d</sup>	3,95±0,08 <sup>h</sup>
15	8,22±0,04 <sup>a</sup>	6,79±0,02 <sup>e</sup>	3,73±0,01 <sup>i</sup>



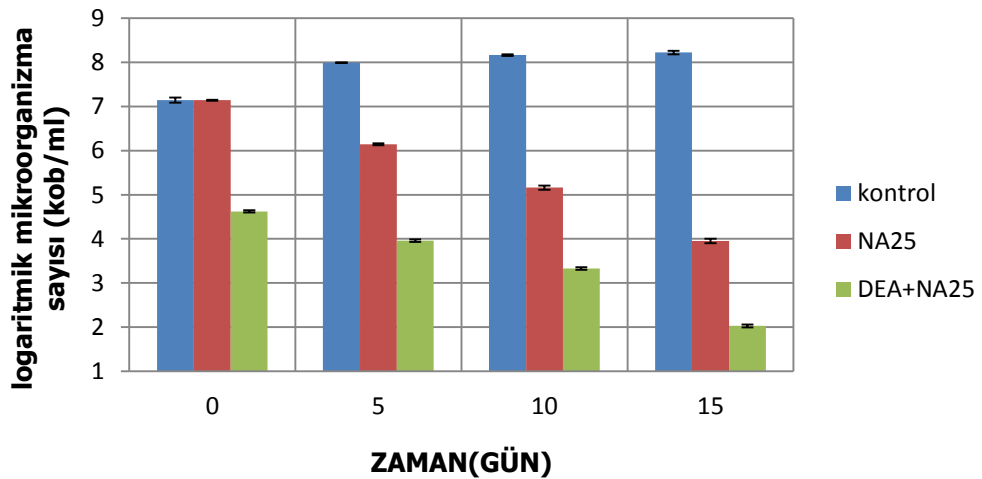
Şekil 4.10. 0, 5, 10 ve 15.gün sonunda kontrol, 12,5 ppm natamisin (NA12) ve DEA+NA12 örneklerinde *S. cerevisiae* koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim

25 ppm natamisin (NA25) uygulaması NA6 ve NA12 uygulamalarına bakıldığında *S. cerevisiae* sayısında önemli ölçüde azalma sağladığı Çizelge 4.11 ve Şekil 4.11'e bakarak görülmektedir. NA25 örneğinde 0.günden

15.günün sonuna kadar 3,20 kob/ml düzeyinde bir azalma meydana gelmiştir. DEA+NA25 örneğinde ise 0.günde *S. cerevisiae* sayısı 4,62 kob/ml'e düşmüş ve üzerine 25 ppm natamisin ilavesi ile 15.gün sonunda *S. cerevisiae* sayısı 2,04 kob/ml olmuştur. DEA+NA25 uygulaması ile 0.gün ile 15.gün arasındaki logaritmik azalma 2,58 kob/ml olduğu gösterilmiştir ( $p<0,05$ ). Ayrıca DEA+NA25 örneğinin göstermiş olduğu etki başlangıçtaki inokülüm miktarı (7,14 kob/ml) ile karşılaştırıldığında 5,1 kob/ml düzeyinde önemli bir azalma sağlamıştır.

Çizelge 4.11. DEA ve 25 ppm natamisin (NA25) kombinasyonunun inoküle portakal suyunda bulunan *S. cerevisiae*'nin logaritmik sayısına etkisi

ZAMAN(GÜN)	KONTROL (kob/ml)	NA25 (kob/ml)	DEA+NA25 (kob/ml)
0	7,14±0,06 <sup>c</sup>	7,15±0,01 <sup>c</sup>	4,62±0,03 <sup>g</sup>
5	7,99±0,01 <sup>b</sup>	6,14±0,02 <sup>d</sup>	3,96±0,03 <sup>h</sup>
10	8,16±0,02 <sup>a</sup>	5,17±0,05 <sup>e</sup>	3,34±0,03 <sup>i</sup>
15	8,22±0,04 <sup>a</sup>	3,95±0,05 <sup>f</sup>	2,04±0,04 <sup>j</sup>



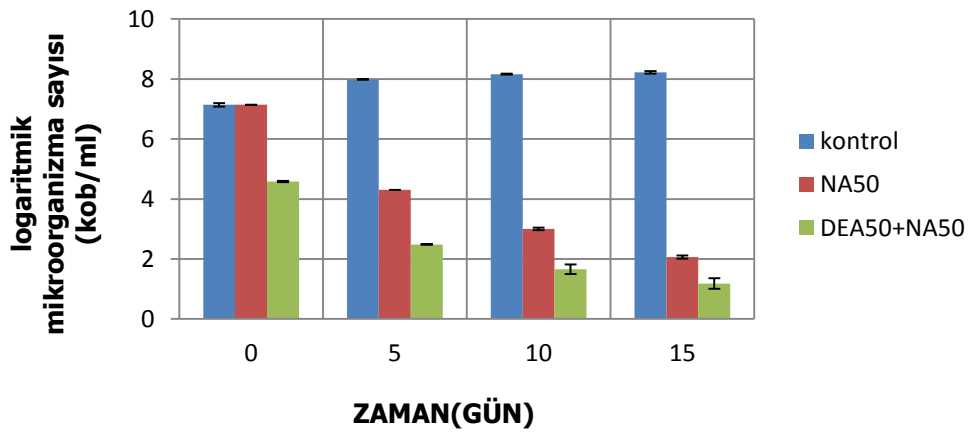
Şekil 4.11. 0, 5, 10 ve 15.gün sonunda kontrol, 25 ppm natamisin (NA25) ve DEA+NA25 örneklerinde *S. cerevisiae* koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim



50 ppm natamisin (NA50) uygulanan örnekte ise 0, 5, 10 ve 15.gün *S. cerevisiae* sayısı sırasıyla 7,13 kob/ml, 4,3 kob/ml, 3 kob/ml ve 2,07 kob/ml olmuştur (Çizelge 4.12). 0.gün ile 15.gün arasında 5,06 kob/ml gibi belirgin düzeyde bir azalma olmuştur (Şekil 4.12). DEA+NA50 örneğinde ise DEA uygulamasından sonra *S. cerevisiae* sayısı 4,59 kob/ml olmuştur ve natamisin ilavesi ile 5, 10 ve 15.gün sonunda sırasıyla 2,47 kob/ml, 1,66 kob/ml, 1,18 kob/ml olduğu gösterilmiştir. DEA+NA50 örneğinde 0.gün ile 15.gün arasındaki logaritmik fark 3,41 kob/ml (Çizelge 4.12) olmuştur ( $p<0,05$ ).

Çizelge 4.12. DEA ve 50 ppm natamisin (NA50) kombinasyonunun inoküle portakal suyunda bulunan *S. cerevisiae*'nin sayısına etkisi (kob/ml)

ZAMAN(GÜN)	KONTROL (kob/ml)	NA50 (kob/ml)	DEA+NA50 (kob/ml)
0	7,14±0,06 <sup>c</sup>	7,14±0,01 <sup>c</sup>	4,58±0,02 <sup>d</sup>
5	7,99±0,01 <sup>b</sup>	4,3±0,00 <sup>e</sup>	2,48±0,01 <sup>g</sup>
10	8,16±0,02 <sup>a</sup>	3±0,05 <sup>f</sup>	1,66±0,16 <sup>i</sup>
15	8,22±0,04 <sup>a</sup>	2,06±0,06 <sup>h</sup>	1,18±0,17 <sup>j</sup>

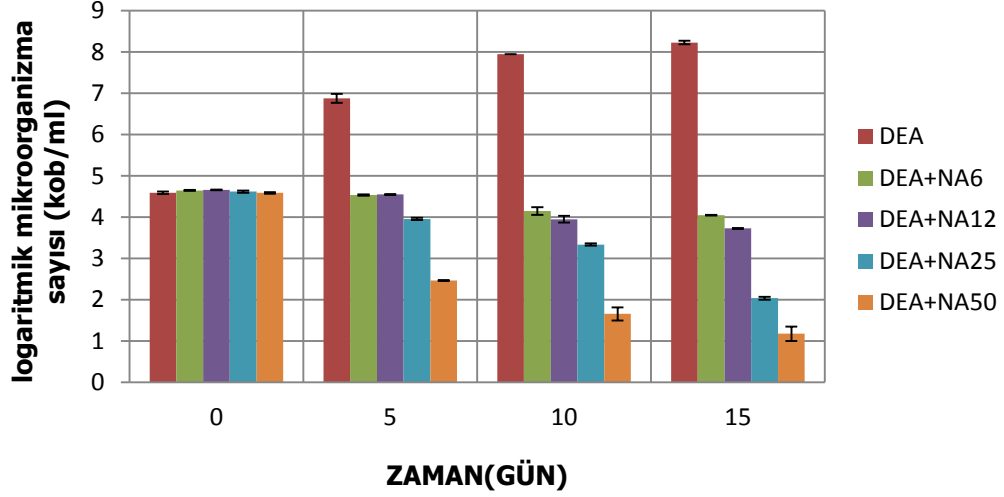


Şekil 4.12. 0, 5, 10 ve 15.gün sonunda kontrol, 50 ppm natamisin (NA50) ve DEA+NA50 örneklerinde *S. cerevisiae* koloni sayılarında meydana gelen logaritmik değişim

Çizelge 4.13 ve Şekil 4.13'de DEA ve farklı konsantrasyonlarda natamisin uygulamalarının *S. cerevisiae* sayısında meydana getirdiği logaritmik değişim gösterilmiştir. 0.günde uygulanan DEA ve natamisin uygulamaları *S. cerevisiae* sayısı üzerinde benzer etki göstermiştir. DEA uygulanan inoküle portakal suyunda 15 gün boyunca logaritmik sayı artış göstermiştir. DEA+NA6 ve DEA+NA12 uygulamalarında *S. cerevisiae* logaritmik sayısı 5.gün sonunda 0.gün ile bir farklılık göstermezken, DEA+NA25 ve DEA+NA50 uygulamalarında sırasıyla 0,66 kob/ml ve 2,12 kob/ml miktarında logaritmik azalma meydana gelmiştir. 10.gün değerleri incelendiğinde bütün uygulamalarda bir azalma meydana geldiği görülmüştür. DEA+NA6, DEA+NA2, DEA+NA25 ve DEA+NA50 uygulamalarında 0.gün ile 10.gün arasındaki *S. cerevisiae*'nin logaritmik azalması sırasıyla 0,50 kob/ml, 0,71 kob/ml, 1,28 kob/ml ve 2,93 kob/ml'dir. 15.gün değerlerine bakıldığında ise DEA+NA6, DEA+NA2, DEA+NA25 ve DEA+NA50 uygulamalarında 0.gün ile 15.gün arasındaki logaritmik azalma sırasıyla 0,60 kob/ml, 0,93 kob/ml, 2,58 kob/ml ve 3,41 kob/ml olmuştur ( $p<0,05$ ).

Çizelge 4.13. DEA ve farklı konsantrasyonlardaki natamisin kombinasyonlarının 0, 5, 10 ve 15.günlerin sonunda inoküle portakal suyunda bulunan *S. cerevisiae* sayısı üzerine etkilerinin karşılaştırılması (kob/ml)

ZAMAN (GÜN)	DEA	DEA + NA6	DEA + NA12	DEA + NA25	DEA + NA50
0	4,59±0,03 <sup>d</sup>	4,65±0,02 <sup>d</sup>	4,66±0,01 <sup>d</sup>	4,62±0,03 <sup>d</sup>	4,58±0,02 <sup>d</sup>
5	6,88±0,11 <sup>c</sup>	4,54±0,02 <sup>d</sup>	4,55±0,01 <sup>d</sup>	3,96±0,03 <sup>h</sup>	2,48±0,01 <sup>k</sup>
10	7,95±0,00 <sup>b</sup>	4,15±0,09 <sup>f</sup>	3,95±0,08 <sup>h</sup>	3,34±0,03 <sup>j</sup>	1,66±0,16 <sup>m</sup>
15	8,23±0,04 <sup>a</sup>	4,05±0,01 <sup>g</sup>	3,73±0,01 <sup>i</sup>	2,04±0,04 <sup>l</sup>	1,18±0,17 <sup>n</sup>



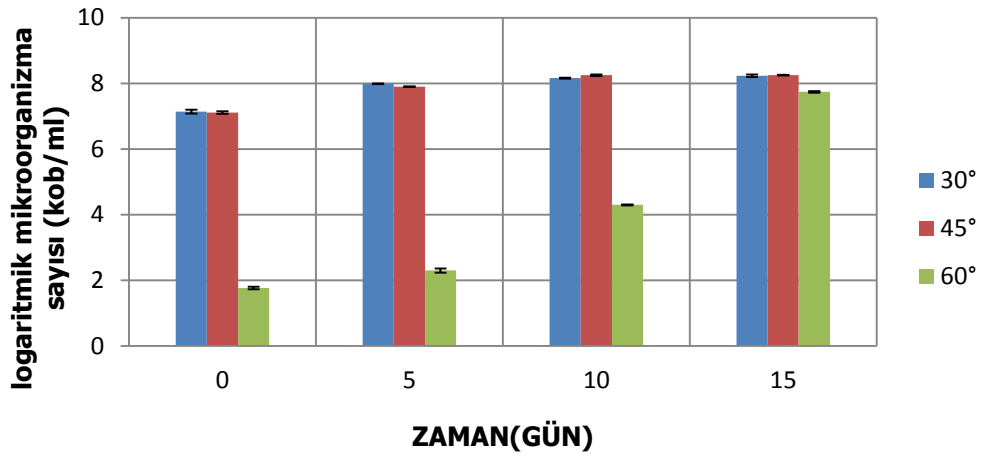
Şekil 4.13. DEA ve farklı konsantrasyonlardaki natamisin kombinasyonlarının 0, 5, 10 ve 15.günlerin sonunda inoküle portakal suyunda bulunan *S. cerevisiae* sayısı üzerine etkilerinin karşılaştırılması (kob/ml)

#### 4.1.5. İnoküle portakal suyunda sıcaklık uygulamaları ve farklı konsantrasyonlarda natamisin ile muamelesinin sonuçları

İnoküle portakal suyuna 30°C, 45°C ve 60°C sıcaklıkları ve farklı konsantrasyonda natamisin uygulanmıştır. Çizelge 4.14 ve Şekil 4.14'de natamisin ilave edilmeden sıcaklık uygulamalarının *S. cerevisiae* sayımında meydana getirdiği logaritmik değişimler verilmiştir. Çizelge 4.4'de gösterildiği gibi 0.günde 30°C ve 45°C'nin etkisinde bir farklılık olmazken 60°C'de diğer iki sıcaklığa göre 5 kob/ml'den daha fazla bir azalma meydana gelmiştir. Buna karşın 15 gün sonunda ise bütün sıcaklıklarda *S. cerevisiae* sayısında artış olduğu tespit edilmemiştir (p<0,05). Duried vd. (2002) yaptığı bir çalışmada; portakal suyunda *S. cerevisiae* gelişimini incelemiştir. Portakal suyu örneklerinden birine 10<sup>5</sup> kob/ml düzeyinde mikroorganizma inoküle edilmiştir. Diğer örneklere 10<sup>7</sup> kob/ml düzeyinde inoküle edilmiştir ve sonra ısı işlem uygulanmıştır. *S. cerevisiae* popülasyonlarında 60°C-40 s. ve 55°C- 40 s.'de sırasıyla >6 and 2 log azalmıştır.

Çizelge 4.14. İnoküle portakal suyunda farklı sıcaklık uygulamalarının *S. cerevisiae* üzerine etkisi (kob/ml)

ZAMAN(GÜN)	30°C	45°C	60°C
0	7,14±0,06 <sup>f,g</sup>	7,11±0,04 <sup>f,g</sup>	1,74±0,04 <sup>j</sup>
5	7,99±0,01 <sup>c</sup>	7,89±0,01 <sup>d</sup>	2,16±0,06 <sup>i</sup>
10	8,16±0,02 <sup>b</sup>	8,25±0,03 <sup>a</sup>	5,28±0,02 <sup>h</sup>
15	8,22±0,04 <sup>a,b</sup>	8,24±0,01 <sup>a,b</sup>	7,74±0,03 <sup>e</sup>



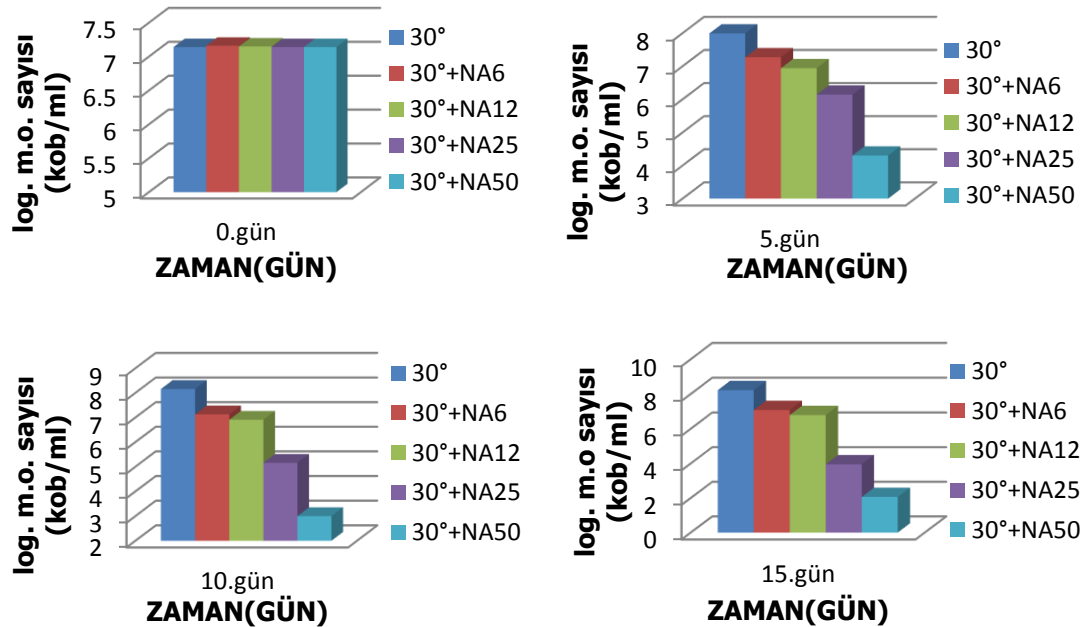
Şekil 4.14. İnoküle portakal suyuna uygulanan farklı sıcaklıkların *S. cerevisiae* üzerine etkisi

Çizelge 4.15 ve Şekil 4.15'de 30°C ve farklı konsantrasyonlarda natamisin uygulamasının sonuçları verilmiştir. 0.günde bütün uygulamalarda *S. cerevisiae*'nin logaritmik sayısı farklılık göstermemiştir. 30°C uygulanmış inoküle portakal suyunda logaritmik fark 0.güne göre 5.gün, 10.gün ve 15.günde sırasıyla 0,85 kob/ml, 1,02 kob/ml ve 1,08 kob/ml olmuştur. 30°C+NA6 uygulamasında 0.gün ile 15.gün sonunda *S. cerevisiae* sayısı herhangi bir değişiklik göstermemiştir. 30°C+NA12 uygulamasında 0.gün ile 5.gün arasında 0,19 kob/ml'lik logaritmik azalma olurken 5.gün ile 10.gün arasında *S. cerevisiae* sayısında bir değişiklik görülmemiştir. 0.gün ile 15.gün arasında ise 0,36 kob/ml düzeyinde bir azalma meydana gelmiştir. 30°C+NA25 uygulamasında 15 gün boyunca azalma gözlenmiş olup sırasıyla

5.gün, 10.gün ve 15.günün 0.güne göre logaritmik farkı sırasıyla 1,01 kob/ml, 1,98 kob/ml ve 3,2 kob/ml olmuştur. 30°C+NA50 uygulamasında ise *S. cerevisiae* sayısında 5.gün, 10.gün ve 15.gün boyunca 0.güne göre sırasıyla 2,84 kob/ml, 4,14 kob/ml ve 5,08 kob/ml'lik azalma meydana gelmiştir.

Çizelge 4.15. İnoküle portakal suyuna 30°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisinin 0, 5, 10 ve 15.günlerde *S. cerevisiae* sayısı üzerine etkisi (kob/ml)

ZAMAN (GÜN)	30°C	30°C+NA6	30°C+NA12	30°C+NA25	30°C+NA50
0	7,14±0,06 <sup>d</sup>	7,16±0,05 <sup>d</sup>	7,15±0,01 <sup>d</sup>	7,15±0,01 <sup>d</sup>	7,14±0,01 <sup>d</sup>
5	7,99±0,01 <sup>c</sup>	7,27±0,02 <sup>c</sup>	6,94±0,01 <sup>e,f</sup>	6,14±0,02 <sup>h</sup>	4,3±0,00 <sup>j</sup>
10	8,16±0,02 <sup>b</sup>	7,13±0,05 <sup>d</sup>	6,91±0,01 <sup>f</sup>	5,17±0,05 <sup>i</sup>	3±0,05 <sup>l</sup>
15	8,22±0,04 <sup>a,b</sup>	7,08±0,08 <sup>d</sup>	6,79±0,02 <sup>g</sup>	3,95±0,05 <sup>k</sup>	2,06±0,06 <sup>m</sup>

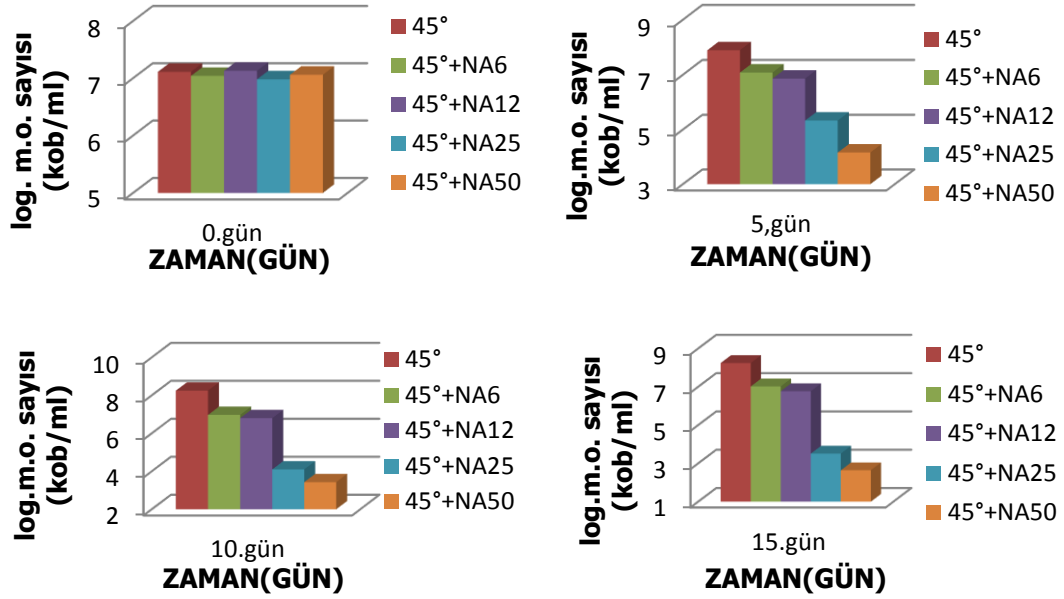


Şekil 4.15. İnoküle portakal suyuna 30°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisinin 0, 5, 10 ve 15.günlerde *S. cerevisiae* sayısı üzerine etkisi (kob/ml)

Çizelge 4.16 ve Şekil 4.16'da 45°C ve farklı konsantrasyonlarda natamisin uygulamalarının *S. cerevisiae* sayısı üzerindeki etkileri gösterilmiştir. 0.günde bütün uygulamalarda *S. cerevisiae* sayıları yakın değerler göstermiştir. 45°C uygulamasında 0.güne göre 5.gün, 10.gün ve 15.günde *S. cerevisiae* sayısı sırasıyla 0,78 kob/ml, 1,14 kob/ml ve 1,13 kob/ml düzeyinde bir artış göstermiştir. 45°C+NA6 uygulamasında 0.gün ile 15.gün arasında *S. cerevisiae* logaritmik sayısında herhangi bir değişim meydana gelmemiştir. 45°C+NA12 uygulamasında 5.gün sonunda 0.güne göre küçük bir miktarda azalma meydana gelmiştir. Ayrıca 5.gün, 10.gün ve 15.gün sonundaki *S. cerevisiae* sayısında herhangi bir fark meydana gelmemiştir. 45°C+NA25 uygulamasında 15.gün sonuna kadar azalma gözlenmiştir. *S. cerevisiae* sayısı 0.güne göre 5.gün, 10.gün ve 15.gün sonunda sırasıyla 1,65 kob/ml, 2,88 kob/ml ve 3,41 kob/ml'lik logaritmik fark göstermiştir. 45°C+NA50 uygulamasında ise aynı şekilde 15.gün sonuna kadar azalma görülürken, 0.güne göre 5.gün, 10.gün ve 15.gün sonunda logaritmik fark sırasıyla 2,9 kob/ml, 3,63 kob/ml ve 4,42 kob/ml olmuştur.

Çizelge 4.16. İnoküle portakal suyuna 45°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin'in 0, 5, 10 ve 15.günlerde *S. cerevisiae* sayısı üzerine etkisi (kob/ml)

ZAMAN (GÜN)	45°C	45°C+NA6	45°C+NA12	45°C+NA25	45°C+NA50
0	7,11±0,04 <sup>c,d,e</sup>	7,04±0,04 <sup>e,f,g,h</sup>	7,13±0,02 <sup>c,d</sup>	6,98±0,03 <sup>g,h</sup>	7,06±0,02 <sup>d,e,f,g</sup>
5	7,89±0,01 <sup>b</sup>	7,08±0,03 <sup>c,d,e</sup>	6,86±0,04 <sup>l,j</sup>	5,33±0,03 <sup>l</sup>	4,16±0,02 <sup>m</sup>
10	8,25±0,03 <sup>a</sup>	6,97±0,04 <sup>h</sup>	6,8±0,02 <sup>j,k</sup>	4,1±0,02 <sup>m</sup>	3,43±0,07 <sup>o</sup>
15	8,24±0,01 <sup>a</sup>	7,02±0,02 <sup>f,g,h</sup>	6,77±0,02 <sup>k</sup>	3,51±0,02 <sup>n</sup>	2,64±0,03 <sup>p</sup>

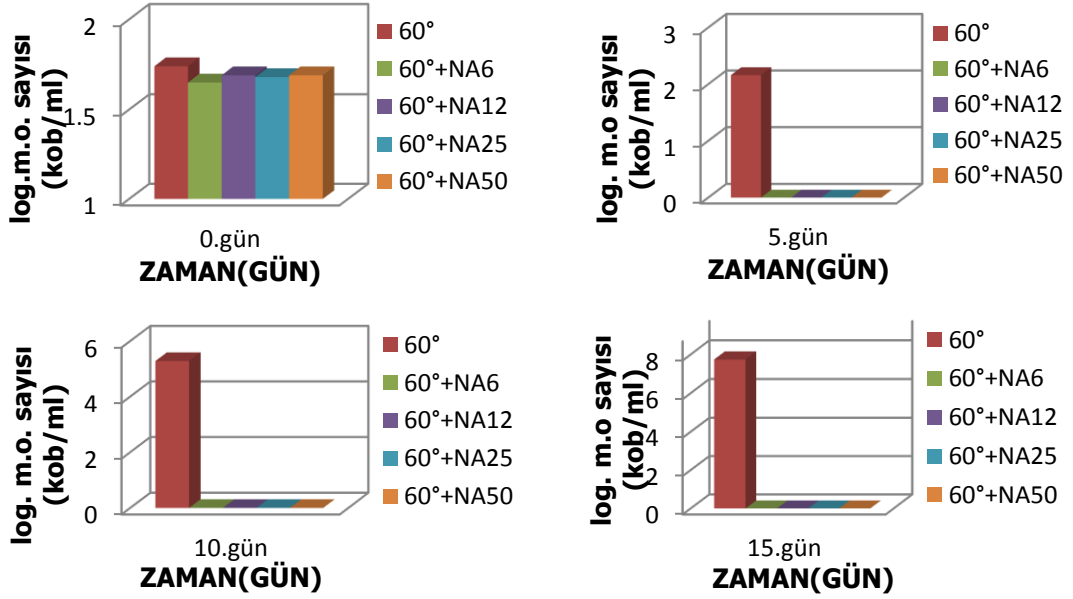


Şekil 4.16. İnoküle portakal suyuna 45°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin'in 0, 5, 10 ve 15.günlerde *S. cerevisiae* sayısının değişimi (kob/ml)

Çizelge 4.17 ve Şekil 4.17'de 60°C ve farklı konsantrasyonlarda natamisin uygulamalarının *S. cerevisiae* sayısı üzerindeki etkileri gösterilmiştir. 0.günde *S. cerevisiae* sayıları tüm örneklerde benzer değerler göstermiştir. 15 gün sonunda 60°C uygulamasında *S. cerevisiae* sayısında artış meydana gelirken diğer tüm uygulamalardaki *S. cerevisiae* sayısı 5.gün, 10.gün ve 15.gün değerleri 0 kob/ml olmuştur.

Çizelge 4.17. İnoküle portakal suyuna 60°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin'in 0, 5, 10 ve 15.günlerde *S. cerevisiae* sayısı üzerine etkisi (kob/ml)

ZAMAN (GÜN)	60°C	60°C+NA6	60°C+NA12	60°C+NA25	60°C+NA50
0	1,74±0,04 <sup>d</sup>	1,65±0,05 <sup>e</sup>	1,69±0,09 <sup>d,e</sup>	1,68±0,19 <sup>d,e</sup>	1,69±0,09 <sup>d,e</sup>
5	2,16±0,06 <sup>c</sup>	0	0	0	0
10	5,28±0,02 <sup>b</sup>	0	0	0	0
15	7,74±0,03 <sup>a</sup>	0	0	0	0



Şekil 4.17. İnoküle portakal suyuna 60°C'de uygulanan farklı konsantrasyonlarda natamisin'in 0, 5, 10 ve 15.günlerde *S. cerevisiae* sayısı üzerine etkisi (kob/ml)

## 4.2. Kalite analiz sonuçları

### 4.2.1. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda pH tayini sonuçları

0.günde DEA+NA25 uygulanan örnek ile saf portakal suyunda sırasıyla 4,34 ve 4,30 olmuştur. 15.gün pH değerleri ise sırasıyla 4,35 ve 4,34'dir. 0.gün ve 15.gün sonuçlarına göre DEA+NA25 uygulaması ile saf portakal suyu pH arasında bir farklılık meydana gelmemiştir.

Rivas vd. (2006), ticari olarak satılan portakal (%80)-havuç (%20) suyu karışımı (ısıl işlem uygulanmamış) üzerine DEA (25 kV/cm-280 µs maksimum sıcaklık 65°C) uygulanmıştır. Kontrol ve DEA uygulanan numunelerin pH değerleri sırasıyla 3,86 ve 3,83 olmuştur. Sánchez-Moreno vd. (2005) portakal suyuna 35 kVcm-1/750 µs DEA uygulamışlardır. DEA uygulanmış örnek ile kontrol (işlem görmemiş portakal suyu) örneklerinin pH değerleri



arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla 3,52 ve 3,59). Walkling-Ribeiro vd. (2009), farklı şiddet ve sürede portakal suyuna DEA (30-40kV/cm şiddetinde 25, 50, 100 ve 15 µs süresinde) ve sıcaklık kombinasyonu uygulamışlardır (55°C-10 dk). Kontrol ile işlem görmüş örnekler karşılaştırıldığında pH'da 3,7 düzeyinde olup istatistiksel olarak bir farklılık meydana gelmemiştir ( $P \geq 0,05$ ). Cserhalmi vd. (2006) portakal suyuna 28 kV/cm'de 50 atım uyguladıkları çalışmalarında DEA muamelesi görmüş örnek ile muamele görmemiş portakal suyunun pH'ının sırasıyla 3,63 ve 3,61 olduğunu bildirmişlerdir.

#### **4.2.2. DEA ve Natamisin muamelesi yapılmış inoküle portakal suyunda titrasyon asitliği tayini sonuçları**

Numuneler için titrasyon asitliği sonuçları çizelge 4.18'de verilmiştir. Titrasyon asitlikleri 0.günde DEA+NA25 ve saf portakal suyunda sitrik asit cinsinden sırasıyla 0,44 g/100 ml'dir. 15.günde ise bu değerler 0,41 g/100 ml ve 0,42 g/100 ml olmuştur. Sonuçlar DEA+NA25 uygulaması ile saf portakal suyu arasında bir değişiklik göstermemiştir.

Çizelge 4.18. DEA+NA uygulanan örnekler ile saf portakal suyunun titrasyon asitliği (sitrik asit cinsinden)

<b>NUMUNE</b>	<b>0.gün</b>	<b>15.gün</b>
PS	0,44	0,41
DEA+NA	0,44	0,42

PS: saf portakal suyu

Elez-Martínez vd. (2007) yaptığı çalışmada taze sıkılmış portakal suyunun titrasyon asitliği  $0,44 \pm 0,05$  g sitrik asit/100 ml olmuştur. Sánchez-Moreno vd. (2005) DEA (35 kVcm-1/750 µs) uyguladıkları portakal suyunda titre edilebilir asitlik sitrik asit cinsinden 0,94 g sitrik asit/100 ml olup taze sıkılmış portakal suyu (0,95 g sitrik asit/100 ml) ile arasında bir farklılık olmamıştır. Rivas vd. (2006) ticari olarak satılan portakal (%80)-havuç (%20) suyu karışımı (ısıl

işlem uygulanmamış) üzerine DEA (25 kV/cm -280 µs- maksimum sıcaklık 65°C) uygulanmıştır. DEA uygulanmış örnek ile kontrolün titrasyon asitliği sırasıyla 0,599±0,002 g sitrik asit/100 ml ve 0,568±0,012 g sitrik asit/100 ml olmuştur.

#### 4.2.3. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda renk değerleri

Çizelge 4.19'da portakal suyu örneklerinin renk değerleri gösterilmiştir. 0.gün L\* değerlerine bakıldığında DEA uygulanan örnek saf portakal suyuna göre yaklaşık +4 birim fazla olmuştur. 15.günde ise saf portakal suyu örneğinin L\* değeri artış gösterirken DEA+NA25 uygulanan örnekte yaklaşık -2 birim azalma meydana gelmiştir. a\* değerlerine bakıldığında 15.gün DEA+NA25 örneği haricinde bütün numunelerde yakın sonuçlar görülmüştür. b\* değerleri ise 0.gün saf portakal suyunda diğer örneklerden yaklaşık 0,6-0,7 düzeyinde fazla olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.19. DEA+NA ve saf portakal suyu örneklerinin renk (L\*, a\* ve b\*) değerleri

ZAMAN	NUMUNE	L*degerleri	a*	b*
0.gün	PS	36,323±0,17	0,97±0,12	3,813±2,93
	DEA+NA25	40,42±0,48	1,1±0,06	3,157±3,25
15.gün	PS	40,83±0,27	1,04±0,34	3,193±0,26
	DEA+NA25	38,83±0,36	0,1±0,07	3,136±2,99

PS: saf portakal suyu

Sánchez-Moreno vd. (2005) DEA (35 kVcm-1/750 µs) uyguladıkları portakal suyunun kontrol ile renk değerlerini karşılaştırdıklarında; L\* değerinde herhangi bir farklılık meydana gelmezken (36,30±0,18 ve 36,82±0,51), a\* değerleri (-2,17±0,18 ve -1,46±0,15) ve b\* değerleri (34,22±1,47 ve 36,61±1,12) farklılık göstermiştir.

Ayhan vd. (2002) yaptıkları çalışmada; DEA (59  $\mu$ s süresinde 35 kV/cm) ile işlenmiş portakal suyu, tüm renk özelliklerinde kontrol ile kıyaslandığında L\* ve b\*'da bir artış ve a\* değerlerinde azalma olmuştur. Cserhalmi vd. (2006) kontrol ve DEA ile muamele edilen portakal suyu arasında renk değerlerinde çok küçük düzeyde farklılık olduğunu bildirmişlerdir. Kontrol örneği portakal suyunda L\*, a\* ve b\* değerleri sırasıyla 14,48, -2,08 ve 3,34 iken, DEA (28 kV/cm 'de 50 darbe) ile muamele edilen numunede L\*, a\* ve b\* değerleri sırasıyla 14,73, -2,25 ve 3,70 olmuştur. Rivas vd.(2006)'da portakal (%80)-havuç (%20) suyu karışımı (ısıtma işlemi uygulanmamış) üzerine DEA (25 kV/cm-280  $\mu$ s maksimum sıcaklık 65 °C) uygulanmıştır. Kontrol ile DEA uygulanmış örnek karşılaştırıldığında L\* değerleri sırasıyla 62,80±0,03 ve 63,08±0,09 olup herhangi bir farklılık olmamıştır.

Walkling-Ribeiro vd. (2009) portakal suyu üzerine sıcaklık (55°C-10 dk)+DEA (30-40 kV/cm şiddetinde 25, 50, 100 ve 150  $\mu$ s süresinde) uygulamışlardır. Herhangi bir işlem görmeyen portakal suyunun genel renk özelliklerini sırasıyla L\*, a\* ve b\* için 42,84, -6,31 ve 18,99 olarak bildirmişlerdir. Sıcaklık+30 kV/cm şiddetinde 25, 50, 100 ve 150  $\mu$ s süresinde DEA uygulanan örnek ile kontrol karşılaştırıldığında DEA uygulanan numunede L\* değerleri sırasıyla 2,28, 0,94, 0,35 ve 0,39 fazla olmuştur ve sıcaklık+40 kV/cm şiddetinde 25, 50, 100 ve 150  $\mu$ s süresinde DEA uygulanan örneklerde ise L\* değerleri kontrol ile karşılaştırıldığında +1,53, +1,39, +0,26 ve -0,33 miktarında farklılık göstermiştir. a\* değerlerinde sıcaklık+30 kV/cm şiddetinde 25, 50, 100 ve 150  $\mu$ s süresinde DEA uygulaması kontrol örneğinden sırasıyla -0,33, -0,14, -0,03 ve -0,07 ve sıcaklık+40 kV/cm şiddetinde 25, 50, 100 ve 150  $\mu$ s süresinde DEA uygulanan örneklerde de sırasıyla -0,33, -0,32, -0,08 ve +0,02 düzeyinde farklılık olmuştur. b\* değerlerinde ise kontrol ile karşılaştırıldığında sıcaklık+30 kV/cm şiddetinde 25, 50, 100 ve 150  $\mu$ s süresinde DEA uygulanan portakal suyu örneği sırasıyla +1,76, +0,91, +0,53, +0,55 ve sıcaklık+40 kV/cm şiddetinde 25, 50, 100 ve 150  $\mu$ s süresinde DEA uygulanan portakal suyu örneklerinde ise sırasıyla +1,01, +0,87, +0,13, +0,06 farklılık olduğu bildirilmiştir.

#### 4.2.4. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda °briks tayini sonuçları

Saf portakal suyu ile DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneklerinin 0.gün ve 15.gün değerleri incelenmiştir (Çizelge 4.20). 0.gün ile 15.gün portakal suyu ve DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneklerinin °briks değerleri birbirine yakın olmuştur. 0.günde saf portakal suyu ve DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneklerinde sırasıyla 15,0 ve 15,4'dir. 15.gün de ise °briks değerleri 15,2 ve 15,3 olmuştur. Çalışmamıza benzer bir sonucu; Walkling-Ribeiro vd. (2009) portakal suyuna farklı şiddet ve sürede DEA (30-40 kV/cm şiddetinde 25, 50, 100 ve 15 µs süresinde) ve sıcaklık (55°C-10 dk) kombinasyonu uygulamışlardır. °Briks değerlerinde kontrol ile önemli bir değişiklik tespit etmemişlerdir (yaklaşık 11,0). Cserhalmi vd. (2006)'da DEA (28 kV/cm'de 50 darbe) uyguladıkları portakal suyunda °briks değerinde kontrol ile bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Kontrol portakal suyu örneği °briks değeri 4,53, DEA uygulanan portakal suyu örneği °briks değeri 4,30 olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4.20. DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneği ve saf portakal suyu örneklerinin °Briks değerleri

ZAMAN	NUMUNE	°Briks
0.gün	PS	15,0
	DEA+NA25	15,4
15.gün	PS	15,2
	DEA+NA25	15,3

PS: saf portakal suyu

Sánchez-Moreno vd. (2005) taze sıkılmış portakal suyunda uyguladıkları DEA (35 kV/cm-1/750 µs) sonucu kontrol ile küçük bir farklılık olduğunu tespit etmişlerdir. Taze sıkılmış portakal suyunun °briks değeri 10,47 iken DEA uygulanan örneğin briks (%) değeri 10,86 olmuştur. Rivas vd. (2006) ticari olarak satılan portakal (%80)-havuç (%20) suyu karışımı (ısıtma işlemi)

uygulanmamış) üzerine DEA (25 kV/cm -280 µs-maksimum 65°C) uygulamıştır. Kontrol ile DEA uygulanan numunelerin °briks değerlerinde az bir farklılık görülmüş olup sırasıyla 9,5 ve 10,2 olmuştur.

#### **4.2.5. DEA ve Natamisin muamelesi yapılmış inoküle portakal suyunda askorbik asit (C vitamini) miktarı**

Çizelge 4.21'de C vitamini değerleri ve Şekil 4.18'de askorbik asit standart eğrisi gösterilmiştir. 0.gün ve 15.gün saf portakal suyunda C vitamini değerleri sırasıyla 40,9 mg/100 ml ve 37,5 mg/100 ml'dir. DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneğinde C vitamini değerleri 0.günde 38,1 mg/100ml, 15.günde ise 33,6 mg/100 ml olmuştur. 15.gün sonunda herhangi bir işlem görmeyen portakal suyunda C vitamini kaybı 0.güne göre %8-8,5 düzeyinde azalma göstermiştir. Saf portakal suyu ile DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneğinde 0.günde C vitamini kaybı yaklaşık olarak %6,5-7 oranında olmuştur. Ayrıca 15.günde ise saf portakal suyu ve DEA+NA25 uygulanan portakal suyu arasındaki C vitamini farkı %10 düzeyinde olmuştur. Bu durum askorbik asitin, depolama ve gıda işleme aşamalarında oksidasyon ve ısı gibi faktörlerden dolayı en hızlı kayba uğrayan vitamin olması ile açıklanmaktadır (Cemeroğlu, 2013).

Taze portakal suları içerisindeki C vitamininin içeriği çokça çalışılmıştır ve Mevcut çalışmalarda elde edilen sonuçlar, 25 mg/100 ml ila 68 mg/100 ml arasında değişmiştir (Farnworth vd., 2001, Fernandez-Garcia vd., 2001, Kabasakalis vd, 2000, Lee ve Coates, 1999, Rapisarda vd, 2001 ve Sanchez-Moreno vd., 2003).

Cserhalmi vd. (2006) DEA (28 kV/cm'de 50 atım) uygulanmış portakal suyunda kontrol ile karşılaştırıldığında yaklaşık %3 oranında bir azalma meydana gelmiştir. İşlem görmemiş portakal suyunda 32,8 mg/100 ml, DEA ile muamele edilen portakal suyunda 31,8 mg/100 ml C vitamini bulmuşlardır. Elez-Martinez vd. (2007) portakal suyuna 15, 25 and 35 kV/cm şiddetinde

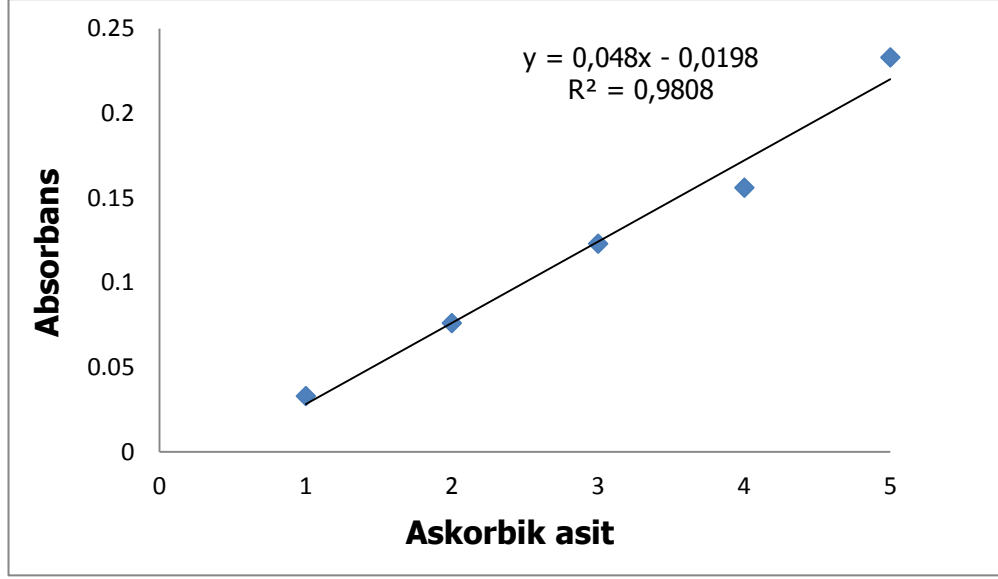
100, 400 and 1000 µs sürelerinde DEA uygulamışlardır. İşlem görmemiş portakal suyunun C vitamini değeri 56,3 mg/100 ml'dir. Tüm DEA uygulamalarında C vitamini korunumu %87,5'in üzerinde olmuştur.

Sánchez-Moreno vd. (2005) yaptıkları çalışmada DEA (35 kV/cm-1/750 µs) uyguladıkları portakal suyu örneğinin C vitamini içeriği 41,26±1,01 mg/100 ml olurken kontrol örneğinin 44,37±1,09 mg/100 ml olmuştur. Hodgins vd. (2002) 40 ve 60 µs 80 kV/cm'de DEA uyguladıkları portakal suyunda askorbik asit içeriği kontrol ile karşılaştırıldığında %2,5 azalmıştır (sırasıyla 50,9 mg/100 ml ve 52,2 mg/100 ml). Ayrıca Walkling-Ribeiro vd. (2009) portakal suyuna sıcaklık (55°C-10 dk)+DEA (30-40 kV/cm 25, 50, 100 ve 150 µs süresinde) uygulaması sonucu C vitamini değerlerinde istatistiksel olarak herhangi bir farklılık olmamıştır.

Çizelge 4.21. Saf portakal suyu örneği ile DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneklerinin 0.gün ve 15.gün askorbik asit (C vitamini) değerleri

ZAMAN	NUMUNE	mg/100ml
0.gün	PS	40,9
	DEA+NA25	38,1
15.gün	PS	37,5
	DEA+NA25	33,6

PS: saf portakal suyu



Şekil 4.18. Askorbik asit (C vitamini) standart eğrisi

#### 4.2.6. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda Hidroksimetilfurfural (HMF) miktarı

HMF değerleri Çizelge 4.22’de verilmiştir. Saf portakal suyu ve DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneklerinin HMF değerleri 0.günde sırasıyla 0,004 mg/L ve 0,020 mg/L, 15.günde ise sırasıyla 0,007 mg/L ve 0,022 mg/L olmuştur. HMF içerikleri çok düşük düzeyde olup dikkate değer bir farklılık meydana gelmemiştir.

Çizelge 4.22. DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneği ve saf portakal suyu örneklerinin HMF değerleri (mg/L)

Numuneler	0.gün	15.gün
PS	0,004	0,007
DEA+NA25	0,020	0,022

PS: saf portakal suyu

Rivas vd. (2006) Ticari olarak satılan portakal (%80)-havuç (%20) suyu karışımı (ısıtma işlemi uygulanmamış) üzerine farklı şiddetlerde DEA (25 kV/cm-280 µs maksimum 65°C) uygulanmıştır. DEA uygulanmış ve uygulanmamış

örneğin HMF içeriği 0,013 mg/L olup herhangi bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Cserhalmi vd. (2006) portakal suyu üzerine DEA (28 kV/cm'de 50 atım) uygulamışlardır. HMF değerleri DEA uygulanmayan portakal suyu örneği için 0,25 mg/L, muamele edilen portakal suyu örneği için 0,22 mg/L olmuştur.

#### **4.2.7. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunda toplam fenolik madde miktarı**

Numunelerin fenolik madde içerikleri Çizelge 4.23'de ve gallik asit standart eğrisi Şekil 4.19'da verilmiştir 0.günde DEA+NA25 uygulaması sonucu fenolik madde içeriğinde saf portakal suyuna göre az bir düzeyde artış olmuştur. 15.gün sonunda hem saf portakal suyu hem de DEA+NA25 uygulanan portakal suyunda fenolik madde içeriği 0.gün ile karşılaştırıldığında daha fazla olmuştur. Bunun nedeninin ise hücre dokularına darbeli elektrik alan uygulaması ile hücreden ekstrakte edilecek maddelerin kütle transferi ile açıklanmaktadır (Baysal, 2012).

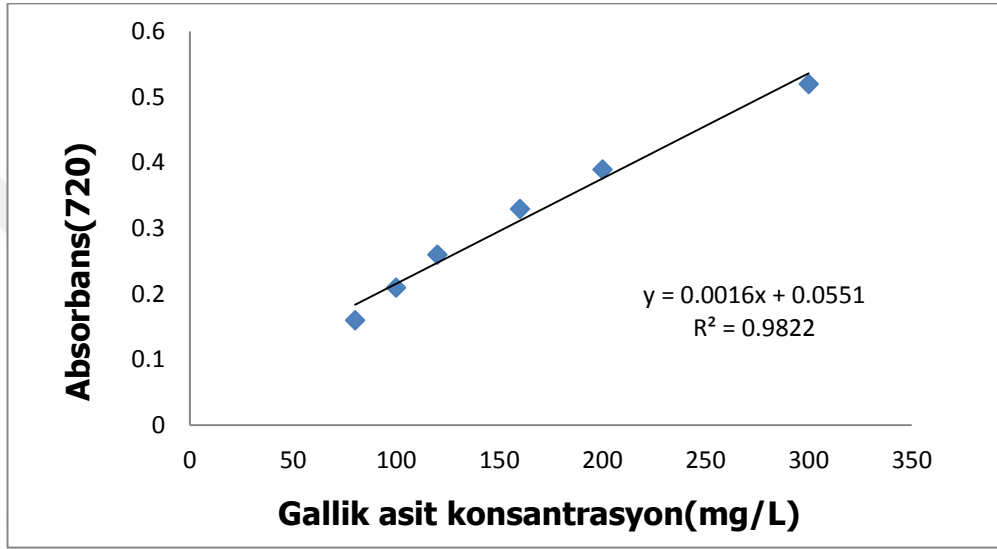
Ramful vd. (2011) çeşitli turuncgil ekstraktlarının fenolik madde içeriklerini 406–1694 mg/L aralığında olduğunu rapor etmişlerdir. Ağçam vd. (2014a) Portakal suyuna 1033,9 µs süresinde 13,82kV/cm, 17,06 kV/cm, 21,50 kV/cm ve 25,26 kV/cm DEA uygulamıştır. Herhangi bir işlem görmemiş portakal suyunun toplam fenolik madde içeriği 388,97±40,18 mg/L olurken 1033,9 µs süresinde 13,82 kV/cm, 17,06 kV/cm, 21,50 kV/cm ve 25,26 kV/cm DEA uygulaması sonucu fenolik madde içerikleri sırasıyla 350,42±54,14 mg/L, 370,27±38,44 mg/L, 377,04±45,05 mg/L ve 428,26±59,74 mg/L olmuştur. Ayrıca DEA uygulanan numunelerin 60.gün sonunda fenolik madde içerikleri ise sırasıyla 365,93±26,17 mg/L, 418,93±25.03 mg/L, 353,18±25,89 mg/L ve 370,20±15,93 mg/L olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlere bakıldığında da bazı uygulamalarda zamana göre fenolik madde içeriğinde artış olduğu görülmektedir.



Çizelge 4.23. DEA+NA25 uygulanan portakal suyu örneği ve saf portakal suyu örneklerinin fenolik madde içerikleri

ZAMAN	NUMUNELER	mg GEA/L
0.gün	PS	974
	DEA+NA25	1036
15.gün	PS	1162
	DEA+NA25	1193

PS: saf portakal suyu



Şekil 4.19. Gallik asit standart eğrisi

#### 4.2.8. DEA ve Natamisin mualemesi yapılmış inoküle portakal suyunun antioksidan aktivitesi

Örneklerin antioksidan aktiviteleri Çizelge 4.24'de gösterilmiştir. DEA+NA25 uygulanan portakal suyu numunesi ile saf portakal suyu numunesi arasında önemli bir fark olmamıştır. DEA+NA25 uygulanan örnek ile saf portakal suyunun antioksidan içerikleri 0.günde 232 ml/g ve 244 ml/g, 15.günde ise 237 ml/g ve 256 ml/g olmuştur.

Çizelge 4.24. DEA+NA25 ve saf portakal suyu örneklerinin antioksidan aktivitesi

ZAMAN	NUMUNELER	ml/g
0.gün	PS	244
	DEA+NA25	232
15.gün	PS	256
	DEA+NA25	237

PS: saf portakal suyu

Çalışmamıza benzer bir sonucu Sánchez-Moreno vd. (2005) DEA (35 kVcm-1/750 µs) uyguladıkları örnek ile kontrol arasında DPPH radikalinde herhangi bir farklılık meydana gelmediğini bildirmişlerdir (197,79±5,26 mL/g ve 194,20±11,35 ml/g). Elez-Martinez vd. (2007) 15, 25 and 35 kV/cm şiddetinde 100, 400 and 1000 µs sürelerinde DEA uygulamışlardır. DEA ile muamele görmeyen portakal suyu örneğinde DPPH inhibisyonu %39,3'dur. DEA uygulanan örneklerin DPPH inhibisyonu %36,1–41,2 arasında olmuştur. İstatistiksel olarak DEA uygulanan örnekler ile kontrol arasında hiçbir farklılık olmamıştır.

## 5. SONUÇ

Gıdalarda meydana gelen bozulmaların birçoğu mikrobiyal kökenli olmaktadır. Mikrobiyal kökenli bu bozulmaları önlemek ve gıdaların besleyici özelliklerinin uzun süre muhafaza edilebilmesi için çoğunlukla ısı işlemler gıdanın çeşidine göre farklı süre ve sıcaklıklarda uygulanmıştır. Fakat ısı işlemler mikrobiyal aktiviteyi etkin bir şekilde inaktive ederken gıdanın kalite özelliklerinde olumsuz değişikliklere neden olmaktadır. Bu yüzden ısı işlemlere alternatif olarak son yıllarda yüksek basınç teknolojisi, elektrik alan teknolojisi, UV uygulamaları gibi ısı olmayan işlemler üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu uygulamaların yanısıra gıdalarda koruyucu olarak benzoat, sorbat, nitrat, asetik asit, laktik asit, nisin gibi antimikrobiyal maddelerinde kullanımı mevcuttur. Yaptığımız çalışmada gıda sanayinde yer almaya başlayan elektrik alan uygulaması ve küflerden elde edilen doğal bir antibiyotik madde olan natamisin ile kombinasyonunun gıda sektöründeki uygulamalara katkı sağlamayı amaçlamıştır.

Portakal suyuna inoküle edilen *S. cerevisiae* üzerine 1600 volt ve 2500 volt DEA uygulaması farklı sürelerde denenmiştir. 1600 volt-5, 10 ve 15 dk uygulamasında maya inaktivasyonu sırasıyla 0,45, 0,6 ve 0,87 log olurken 2500 volt- 5, 10 ve 15 dk uygulamasında 0,99, 1,87 ve 2,47 log olmuştur. *S. cerevisiae* üzerinde en iyi etkiyi 2500 volt-15 dk uygulaması göstermiştir. Bu veriler doğrultusunda elektrik alan şiddeti ve süresi arttıkça mikrobiyal inaktivasyonun arttığı tespit edilmiştir.

Natamisinin *S. cerevisiae* inaktivasyonunu incelemek için farklı konsantrasyon ve süre uygulamaları denenmiştir. 6,25, 12,5, 25 ve 50 ppm konsantrasyonlarda natamisin uygulamalarının mayanın başlangıç inokülüm miktarında anlık (2 saat sonunda) bir azalma sağlamamıştır. 48. saate kadar natamisin konsantrasyonlarının etkileri incelendiğinde 6,25 ppm ve 12,5 ppm natamisin miktarının mayanın başlangıçtaki inokülüm miktarı üzerinde herhangi bir azalmaya neden olmazken 25 ppm ve 50 ppm natamisin

ilavesinin 48 saat sonunda 0,28 log ve 1,08 log bir azalma göstermiştir. 72 saat sonunda 6,25 ppm natamisin ilaveli örnekteki maya miktarının başlangıç maya miktarına göre arttığı tespit edilmiştir. 12 ppm natamisin ilavesi 72 saat sonunda *S. cerevisiae* üzerine çok düşük düzeyde etki sağladığı tespit edilmiştir. Buna karşın 25 ppm ve 50 ppm natamisin ilavesinin maya üzerinde önemli düzeyde bir azalma gerçekleştirdiği görülmüştür. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde 6,25 ppm ve 12,5 ppm natamisinin mayanın sayısını sabit tutarak çoğalmasını engellediği görülürken daha yüksek konsantrasyonlarda natamisin uygulamasının *S. cerevisiae* üzerinde dikkate değer bir azalma sağladığı söylenebilir.

DEA ve natamisin kombinasyonunda portakal suyunun mikrobiyolojik ve kalite özellikleri değerlendirildi. Bu çalışma için maya üzerinde en yüksek inaktivasyonu sağlayan 2500 volt-15dk DEA uygulaması ile *S. cerevisiae* üzerinde 72 saat sonunda dikkate değer azalmayı sağlayan en düşük natamisin konsantrasyonu 25 ppm seçildi. İnokülüm miktarı 7,14 kob/ml olan *S. cerevisiae* DEA+NA uygulamasından sonra 0.günde 2,52 log azalma tespit edildi. Depolama sonunda ise toplamda 5,1 log azalma meydana gelmiştir. DEA ve natamisin uygulamaları tek başlarına değerlendirildiğinde 15 gün sonunda DEA uygulanan örnekte maya sayısında tekrardan bir artış tespit edilirken ve natamisin uygulamasında ise 3,2 log bir azalma meydana gelmiştir. Bu değerlere bakılarak DEA+NA kombinasyonunun tekli uygulamalara göre çok daha etkili olduğu sonucuna varılmaktadır. DEA+NA uygulamasının pH, briks, antioksidan aktivite ve titrasyon asitliğinde herhangi bir farklılık meydana gelmemiştir. Renk değerlerinde küçük değişiklikler meydana gelmiştir. C vitamini değerlerinde kontrol ile DEA+NA uygulaması 0.günde karşılaştırıldığında %6-7 oranında azalma görülürken 15.gün karşılaştırıldığında ise yaklaşık %10 civarında bir farklılık görülmüştür. 0.gün ve 15.günde HMF değerlerinde değişiklik olmamıştır. DEA+NA uygulaması sonucu toplam fenolik madde içeriğinde 0.gün ve 15.günde kontrole göre küçük bir miktarda azalma olduğu görülmüştür.

Çalışmamızın sonucunda DEA ve natamisin kombinasyonlarının gıdanın kalite parametrelerini koruduğu ve mikrobiyal gelişimi engellediği görülmüştür. Gıda sanayisinde özellikle meyve suyu üretim prosesinde büyük ölçeklerde DEA prosesi ile beraber üründe bozulma yapabilecek mikroorganizmalara karşı uygun antimikrobiyal kullanımının olumlu bir göstergesi olabileceği kanaatine varılmıştır.



## KAYNAKLAR

Ağçam, E., Akyıldız, A., Akdemir Evrendilek, G., 2014. Vurgulu Elektrik Alan Teknolojisi (PEF): Sistem ve Uygulama Odacıkları, Akademik Gıda. 12(2), 69-78.

Agcam, E., Akyıldız, A., & Evrendilek, G.A., 2014a. Comparison of phenolic compounds of orange juice processed by pulsed electric fields (PEF) and conventional thermal pasteurisation. Food chemistry, 143, 354-361.

Altuğ, T., 2001. Gıda Katkı Maddeleri. Mata Basım, 286s, İzmir.

Amerine, M.A., Berg, H.V., Kunkee, R.E., Ough, C.S., Singleton, V.L., Webb, A.D., 1980. The technology of wine making. The AVI Publishing Company, Inc. Vestport, Connecticut, 794s.

Aneja, K.R., Dhiman, R, Aggarwal, N.K. and Aneja, A., 2014. Emerging preservation techniques for controlling spoilage and pathogenic microorganisms in fruit juices. International Journal of Microbiology, 14.

Aneja, K.R., Dhiman, R., Aggarwal N.K., Kumar, V., and Kaur, M., 2014a. Microbes associated with freshly prepared juices of citrus and carrots. International Journal of Food Science, 7.

Anonim., 2008. Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Maddeleri Tebliği.

Anonim, 2009. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği (Tebliğ No: 2009/25) Resmi gazete sayı: 27143.

- Anonim, 2014. Türk Gıda Kodeksi- Meyve Suyu Ve Benzeri Ürünler Tebliği. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı. Tebliğ no: 2014/34.
- Ayhan, Z., Zhang, Q.H., & Min, D.B., 2002. Effects of pulsed electric field processing and storage on the quality and stability of single-strength orange juice. *Journal of Food Protection®*, 65(10), 1623-1627.
- Baysal, T., İçier, F. (Ed.), 2012. Gıda mühendisliğinde ısı olmayan teknolojiler. Nobel yayınevi, I. Basım, 288s. Ankara.
- Brik H., 1981. Natamycin in Analytical profiles of drug substances, Flory, K., Academic Press, New York, 513.
- Buckow, R., Ng, S., & Toepfl, S., 2013. Pulsed electric field processing of orange juice: a review on microbial, enzymatic, nutritional, and sensory quality and stability. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12 (5), 455-467.
- Burns, J., and Holtman, D.F., 1959. Tenuacetin: A new fungal antibiotic. *Antibiot. Chemother*; 9, 398.
- Castro, A.J., Barbosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G., 1993. Microbial inactivation of food by pulsed electric fields. *Journal of Food Processing and Preservation*, 17, 47-73.
- Cemeroğlu, B.S. (Ed.), 2013. Gıda analizleri. Bizim grup basımevi, 3. Baskı, 87s. Ankara.
- Charles-Rodriguez, A.V., Nevarez-Moorillon, G.V., Zhang, Q.H., Ortega-Rivas, E., 2007. Comparison of thermal processing and pulsed electric fields treatment in pasteurization of apple juice"; *Food and Bioproducts Processing*, 85 (2), 93–97.

- Cserhalmi, Z., Vidacs, I., Beczner, J., & Czukor, B. 2002. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus cereus* by pulsed electric fields technology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3 (1), 41-45.
- Cserhalmi, Zs., Sass-Kiss, A., Toth-Markus, M., Lechner, N., 2006. Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innovative Food Science and Emerging Tecnologies*, 7, 49-54.
- Davidson, P.M., and Doan, C.H., 1993. Natamycin. in: *Antimicrobials in foods*. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel and Hong Kong, 395–407.
- Davidson, P.M., Sofos, J.N., & Branen, A.L. (Eds.), 2005. *Antimicrobials in food*. CRC press.
- Doğançay, G., 2013. Sulanan ve Sulanmayan Koşullarda Bazı Zeytin Çeşitlerinin Yapraklarındaki Biyoaktif Bileşiklerin Mevsimsel Değişimi. Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 39, Kilis.
- Duried, A., Remy, C., Charles, D., 2002. Behavior of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* in fresh and thermally processed orange juice. *Journal of Food Protection*, 10 (4), 527-1563, 1586-1589.
- Elez-Martinez, P., & Martin-Belloso, O., 2007. Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup. *Food Chemistry*, 102 (1), 201-209.



- FAO., 2005. FAO Statistical Database FAOSTAT-Agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, (25.09.2007). <http://faostat.fao.org/site/340/DesktopDefault.aspx?PageID=340>.
- Fleischman, G.J., Ravishankar,S., Balasubramaniam, V.M., 2004. The Inactivation of *Listeria monocytogenes* by Pulsed Electric Field (PEF) Treatment in A Static Chamber. Food Microbiology, 21 (1), 91–95.
- Gallo, L.I. et al., 2006. Modelling *Saccharomyces cerevisiae* inactivation by natamycin in liquid cheese whey. Brazilian Journal of Food Tecnology, Preprint serie, N.256.
- Geveke, D.J., & Kozempel, M.F., 2003. Pulsed electric field effects on bacteria and yeast cells. Journal of food processing and preservation, 27 (1), 65-72.
- Gökmen V., Acar J., 1999. Simultaneous determination of 5-hydroxymethylfurfural and patulin in apple juice by reversed-phase liquid chromatography. Journal of Chromatography A, 847, 69–74.
- Guyot, S., Ferret, E., Boehm, J. B., & Gervais, P., 2007. Yeast cell inactivation related to local heating induced by low-intensity electric fields with long-duration pulses. International journal of food microbiology, 113 (2), 180-188.
- Hamilton-Miller, J.M.T., 1974. Fungal sterols and the mode of action of the polyene antibiotics. Adv. Appl. Microbial, 17, 109.
- Hışıl, Y., 2004. Enstrümental gıda analizleri laboratuvar deneyleri. Ege üniversitesi basımevi, 45s. İzmir.

Hodgins, A.M., Mittal, G.S., & Griffiths, M.W., 2002. Pasteurization of fresh orange juice using low-energy pulsed electrical field. *Journal of Food Science*, 67 (6), 2294-2299.

Hulshegar, H., Potter, J. And Niemann, E.G., 1983. Elektrik field effects on bacteria and yeast cells. *Radiation and Environmental Biophysics*, 22, 149-162.

Işık, Ö., Akyıldız, A., 2008. Pastörizasyon sıcaklığının kozan yerlisi ve hamlin portakallarından üretilen meyve sularının kalitesi üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Fakültesi, Yüksek lisans tezi, ADANA.

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

Kakı, H.İ., Balka, B., Akar, M., Font, A., Kabancıoğlu Güler, F., Kalenderli, Ö., 2014. Darbeli elektrik alan uygulamasının sıvı gıdaların pastörizasyonunda kullanımı. *Elektrik-Bilgisayar ve Biyomedikal Sempozyumu, Bursa*, 230-234.

Kaletunç, G., 2009. Gıda endüstrisinde alışılmamış yöntemler. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi*, 502, 61-63.

Kiermeier, F., 1973. Zum Einsatz von Pimaricin zur Verhinderung der Schimmelpilz Entwicklung auf Lebensmitteln. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 151, 179-186.

Kuldiloke, J., and Eshtiaghi, M.N., 2008. Application of non thermal processing for preservation of orange juice. *KMITL Science Technologies*, 8, 64-74.

- Kung, C., and Tong-II, 2007. Study on the Inhibition of Natamycin on the Growth of *Saccharomyces cerevisiae* & Its Application. *Liquor Making Science & Tecnology*, 03.
- Lafka TI, Sinanoğlou V, Lazos ES (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*. 104: 1206-1214.
- Lancelin, JM., Beau, JM., 1990. Stereostructure of pimaricin. *J. Am. Chem. Soc.* 112, 4060-4061.
- Lewis, RJ., 1989. *Food Additives Handbook*. Van Nostrand Reinhold, 592 s, New York.
- Loeffler, J.M., 2006. Pulsed electric fields technology for the food industry. Javier Rosa, Valker Heinz (edi.), *Generation and Application of High Intensity Pulsed Electric Fields*, Springer, New York, 32-33.
- Lück, E. and Jager, M., 1997. *Antimicrobial Food Additives Characteristics, Uses, Effects*. Newyork.
- Marx, G., Moody, A., & Bermúdez-Aguirre, D., 2011. A comparative study on the structure of *Saccharomyces cerevisiae* under nonthermal technologies: high hydrostatic pressure, pulsed electric fields and thermo-sonication. *International Journal of Food Microbiology*, 151 (3), 327-337.
- Mcdonald, C.J., Litale, S.W., Petersson, K. and Innings, F., 2000. Effects of pulsed electric fields on microoganims in orange juice using electric field strengths of 30 and 50 kv/cm. *Food Engineering and Physical Properties*, 65, 984-989.

- Michael Davidson, P., Thomas, L.V., Delves-Broughton, J., Doan, C.H., 2005. Natamycin. In *Antimicrobials in Food*, Third Edition (pp. 275-289). CRC Press.
- Min, S., Jin, Z.T., Min, S.K., Yeom, H. and Zhang, Q.H., 2003. Commercial-scale pulsed electric field processing of orange juice. *Journal of Science*, 68, 1265-1271.
- Mohamed, M., Eissa, A.A., 2012. Structure and function of food engineering. Ayman Amer Eissa (editör). *Intech Rijeka, Pulsed electric fields for food processing technology*, 284-287.
- Molinari, P., Pilosof, A.M.R., Jagus, R.J., 2004. Effect of growth phase and inoculum size on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in fruit juices, by pulsed electric fields. *Food Research International*, 37 (8), 793-798.
- Moreira de Oliveria, T., Fatima Ferreira Solares, N., Magela Pereira, R., Freitas Fraga, K., 2007. Development and evaluation of antimicrobial natamycin-incorporated film in gorgonzola cheese conservation. *Packaging Technologie and Science*, 20, 147-153.
- Okunowo, W.O., Okotore, R.O., and Osuntoki, A.A., 2005. The alcoholic fermentative efficiency of indigenous yeast strains of different origin on orange juice. *African Journal of Biotechnology*, 4 (11), 1290-1296.
- Ollé Resa, C.P., Jagus, R.J., Gerschenson, L.N., 2014. Natamycin efficiency for controlling yeast growth in model systems and on cheese surfaces. *Food Control*, 35, 101-108.
- Orlic, S., Ocic, N., Jeromel, A., Huic, K. and Redzepovic, S., 2005, Selection of indigenous *Sacharomyces cerevisiae* strains from Kutjevo wine

growing area at the laboratory scale. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 70 (3), 93-97.

Özkaya, M., 2005. Yüksek gerilim tekniği. Cilt 2, Birsen yayınevi, İstanbul.

Parish, M.E., and Higgins, D.P., 1989. Yeasts and molds isolated from spoiling citrus products and by-products. *Journal of Food Protection*, 52, 261-263.

Qin, B.L., Barbosa-Canova, G.V., Swanson, B.G. and Pedrow, P.D., 1988. Inactivating microorganism using a pulsed electric field continuous treatment system. *IEEE Transactions of Industrial Application*, 34 (1), 603-627.

Raso, J., Calderón, M.L., Góngora, M., Barbosa-Cánovas, G.V., & Swanson B.G., 1988. Inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in fruit juices by heat, high hydrostatic pressure and pulsed electric fields. *Journal of Food Science*, 63 (6), 1042-1044.

Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O. I., Bourdon, E., & Bahorun, T., 2011. Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*, 44 (7), 2088-2099.

Rivas, A., Rodrigo, D., Martínez, A., Barbosa-Cánovas, G. V., & Rodrigo, M., 2006. Effect of PEF and heat pasteurization on the physical-chemical characteristics of blended orange and carrot juice. *LWT-Food Science and Technology*, 39 (10), 1163-1170.

Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., Elez-Martínez, P., De Ancos, B., Martín-Belloso, O., & Cano, M.P., 2005. Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of

orange juice in comparison with traditional thermal processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53 (11), 4403-4409.

Singleton, V.L., and Rossi, Jr., J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158.

Şahan, N., Güven, M., Kaçar, A., 2004. Farklı Asitliklerdeki Yoğurtlardan Torba Yoğurdu Üretimi ve Natamisinin Raf Ömrü Üzerine Etkisi. Gıda, 29 (1), 9-15.

Şener, A., 2005. Emir üzümünün şaraba işlenmesinde sıcaklığın ve maya suşunun etil alkol fermentasyonu kinetiğine etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana.

Titarmare, A., Dabholkar, P., and Godbole, S., 2009. Bacteriological analysis of Street vended fresh fruit and vegetable juices in Nagpur city, India. Internal Journal of Food Safety, 11, 1-3.

Tournas, V.H., Heeres, J., and Burgess, L., 2006. Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices. Food Microbiology, 23 (7), 684-688.

Tsong, T.Y., 1991. Electroporation of cell membranes. Biophysical Journal, 60, 297-306.

Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Riener, J., Cronin, D.A., Lyng, J.G., & Morgan, D.J. 2009. The impact of thermosonication and pulsed electric fields on *Staphylococcus aureus* inactivation and selected quality parameters in orange juice. Food and Bioprocess Technology, 2 (4), 422.

- Yeom, H.W., Streaker, C.B., Zhang, Q.H., & Min, D.B., 2000. Effects of pulsed electric fields on the activities of microorganisms and pectin methyl esterase in orange juice. *Journal of Food Science*, 65 (8), 1359-1363.
- Zhang, Q.H., Barbosacanvas, G.V., Swanson, B.G., 1995. Engineering aspects of pulsed electric-field pasteurization. *Journal of Food Engineering*, 25 (2), 261–281.
- Zhao, W., Yang, R., Zhang, H.Q., Zhang, W., Hua, X., & Tang, Y., 2011. Quantitative and real time detection of pulsed electric field induced damage on *Escherichia coli* cells and sublethally injured microbial cells using flow cytometry in combination with fluorescent techniques. *Food Control*, 22 (3), 566-573.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sinan AKBAL  
Doğum Yeri ve Yılı : Bursa, 1988  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : İngilizce  
E-posta : sinanakbal@windowslive.com

### Eğitim Durumu

Lise : Keçiören Kanuni Lisesi  
Lisans : Gümüşhane Üniversitesi Gıda Mühendisliği

### Mesleki Deneyim

Sühabey süt ürünleri (Ortaköy/AKSARAY) 2014-2016

### Yayınları

Sinan AKBAL, Pervin BAŞARAN AKOÇAK; 2017; "Applications of Electric Field and Natamycin Combinations on *Saccharomyces cerevisiae* Spoilage in Fresh Orange Juice"; International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (sayfa:553); Nevşehir/Türkiye.