



EGE ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KOLAJEN HİDROLİZAT İÇEREN

MEYVELİ İÇECEK ÜRETİMİ

Sibel KAYA BAYRAM

Tez Danışmanı : Yrd. Doç Dr. Seda ERSUS BİLEK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 614.02.00

Sunuş Tarihi : 22.08.2013

E. Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bornova-İZMİR

2013

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

KOLAJEN HİDROLİZAT İÇEREN MEYVELİ

İÇECEK ÜRETİMİ

Sibel KAYA BAYRAM

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Seda ERSUS BİLEK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 614.02.00

Sunuş Tarihi : 22.08.2013

Bornova-İZMİR

2013

KABUL VE ONAY

Sibel KAYA BAYRAM tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan ‘‘Kolajen Hidrolizat İçeren Meyveli İçecek Üretimi’’ başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 22.08.2013 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri üyeleri**İmza**

Jüri Başkanı : Yrd. Doç. Dr. Seda ERSUS BİLEK

Raportör Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan YILDIZ

Üye : Prof. Dr. Fikret PAZIR

ÖZET

**KOLAJEN HİDROLİZAT İÇEREN MEYVELİ İÇECEK
ÜRETİMİ**

KAYA BAYRAM, Sibel

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Seda ERSUS BİLEK

Ağustos 2013, 111 sayfa

Fonksiyonel gıda üretimine olan talep ülkemizde ve dünyada giderek artmaktadır. Fonksiyonel bir bileşen olan kolajen hidrolizatı, kolajenin enzimatik hidrolize uğraması sonucunda oluşan çoğunlukla içecek sektöründe kemik ve cilt sağlığını düzenlemek amacıyla kullanılan bir bileşendir. Bu yüksek lisans tez çalışmasında % 2,5 oranında kolajen hidrolizat içeren portakal, portakal üzümü, elma ve elma üzümü olmak üzere 4 farklı meyveli içecek formülasyonu geliştirilmiştir. Meyveli içecekler pastörizasyon işlemi ile dayanıklı hale getirilmiştir. Meyveli içeceklerin pastörizasyon etkinliğini sağlamak için *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının 3 desimallık azalması hedeflenmiştir. Her ürüne ve işlem parametrelerine göre mikroorganizmaya ait D ve z değerleri literatür araştırmaları sonucunda belirlenerek hedef P₀ değerleri belirlenmiştir. Bu kapsamda 80 °C sıcaklık referans olarak alınan ürünlerden portakallı ve portakal üzümü içecek için D_{80 °C} değeri 54,3 dakika, z değeri 9,5 °C, elmalı içecekte D_{80 °C} değeri 41,15 dakika, z değeri 12,1 °C, elma üzümü içecekte ise 90 °C'nin referans alındığı durumda ise D_{90 °C} değeri 11,1 dakika, z değeri ise 8,5 °C olarak kullanılmış olup portakallı ve portakal üzümü içecek için hedeflenen P₀ değeri 162,9, elmalı içecek için 123,45, elma üzümü içecekte ise 33,3 olarak hesaplanmıştır. Pastörizasyon işlemi sırasında belirlenmiş olan P₀ değerlerine ulaşıldığı süreden itibaren ürünler soğutma işlemine tabi tutularak ürün merkez sıcaklığı 40 °C olacak şekilde soğutulmuştur.

Meyveli içeceklerin fonksiyonel özelliklerini ortaya koymak amacıyla kolajen, protein ve in vivo kolajen miktarları belirlenmiş ve kolajen hidrolizatına ait biyoyararlılık değerlerinin % 80,87-98,5 aralığında değiştiği bulunmuştur. Bunun yanı sıra ürünlerin kalite özelliklerinin belirlenmesi amacıyla ürünlerin pH değeri, briks derecesi, askorbik asit miktarı, şeker içerikleri, renk ölçümleri,

toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla ABTS ve DPPH değerleri pastörizasyon öncesi ve sonrasında 25 ± 1 °C sıcaklıkta 10 hafta depolama süresi boyunca iki haftalık periyotlarda ölçülmüştür. Ayrıca pastörizasyon etkinliğini belirlemek amacıyla ürünlere inkübasyon testi ve mikrobiyolojik analizler (toplam bakteri sayımı, maya-küf ve *E.coli*) uygulanmıştır. Duyusal test tekniklerinden (sıralama testi) yararlanılarak elde edilen 7 adet meyveli içecek formülasyonundan 4 tanesi seçilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kolajen hidrolizati, fonksiyonel meyveli içecek, pastörizasyon, *Alicyclobacillus acidoterrestris*, biyoyararlılık, antioksidan kapasite.

ABSTRACT

**PRODUCTION OF FRUIT BEVERAGES INCLUDING
COLLAGEN HYDROLYSATE**

KAYA BAYRAM, Sibel

M.Sc. in Food Engineering

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Seda ERSUS BİLEK

August 2013, 111 pages

There is an increase on the demand for functional food production in our country and around the world. The collagen hydrolysate which is a functional component, obtained by enzymatic hydrolysis of collagen tissues, and is currently used in functional beverages for skin and joint health. In this master thesis, the formulations of four different fruity beverages (orange, orange-grape, apple and apple-grape beverage) have been developed which contain 2,5 percent collagen hydrolysate. The fruit beverages are preserved by pasteurization processes. The produced fruit beverages was pasteurized in order to aim 3 decimal decrease of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores. According to each product and process parameters, D and z values were determined from literature and used for P_0 values calculation. In this concept for 80 °C reference temperature, $D_{80\text{ °C}}$ value 54,3 minute, z value 9,5 °C for orange and orange-grape beverage, $D_{80\text{ °C}}$ value 41,15 minute, z value 12,1 °C for apple beverage, and 90 °C reference temperature $D_{90\text{ °C}}$ value 11,1 minute, z value 8,5° C for apple-grape beverage was found. For 3 decimal decrease of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores, P_0 value calculated as 162,9 for orange and orange-grape beverage, 123,45 to apple beverage and 33,3 to apple-grape juice. After the pasteurization process, cooling of the fruit beverages has been done regarding product center temperature reaches to 40 °C.

The fruit beverages were determined to functional product to be consumed as fruit beverages were determine to understand functional properties (collagen, protein and in vitro collagen quantity). Collagen hydrolysate bioavailability values were found as 80,87-98,5 % range. In addition to this, quality properties of products, were evaluated by analysis such as pH value, brix degree, ascorbic acid amount, sugar of contents, color measures, total phenolic substance content, and

VIII

the antioxidan capacity of the samples were measured by using ABTS and DPPH analysis. Analysis were applied before and after pasteurization, and during storage (25 ± 1 °C / 10 weeks). In order to determine for the effectiveness of pasteurization, incubation test and microbiology analysis (total bacteri account, mould-yeast, *E.coli*) were done. 4 of the 7 different fruit beverages has been chosen based on the sensory test techniques (ranking test).

Keywords: Collagen hydrolysate, protein additive, functional fruit beverage, pasteurization, bioavailability, antioxidan capacity

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım boyunca ihtiyaç duyduğum her türlü ekipman ve çalışma ortamını severek sağlayan, görüş, bilgi ve deneyimleriyle bana her zaman yol gösteren saygıdeğer hocam **Yrd. Doç. Dr. Seda ERSUS BİLEK**'e;

Çalışmalarım boyunca çalıştığım ürün üretimi ve analiz aşamasında kullanmış olduğum kolajen hidrolizatını Belçika'dan, kimyasallar ve bazı cihazların teminini sağlayan ve çalışmalarım boyunca verdiklerim manevi destekten dolayı değerli Sanus Ltd. Şti. şirket sahipleri **Barbaros TUNÇ ve Nilhan ANTİTORAS TUNÇ**'a;

Çalışmalarımın belli bir dönemi boyunca beraber çalıştığım, bilgi ve deneyimlerini benimle uygulamalı olarak paylaşan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Ege Üniversitesi doktora öğrencisi **Gülşah SÜMEN**'e

Çalışma ortamını paylaştığım ve her zaman desteğini hissettiğim çok değerli arkadaşım **Burak OZAN ve Demet ULUDAĞ**'a

Tez çalışmalarımı yürütme aşamasında her zaman anlayış gösteren MHE Gıda sahibi **Hülya PEKER**'e

Laboratuar çalışmalarım ve Ege Üniversitesi Pilot tesisinde gerçekleştirdiğim deneme üretimleri sırasında teknik anlamda verdikleri tüm desteklerinden dolayı **Mehmet Uzun, Nazile ERCİ, Berna ŞENGÜL ERDOĞAN** ve yüksek lisans arkadaşım **Özge TAŞTAN**'a;

Tez projeme sağladığı maddi katkılarından dolayı **KOSGEB**'e

Tez çalışmamın her aşamasında bana sabırla destek olan eşim **Hüseyin BAYRAM**'a

Hayatları boyunca çocuklarına en iyiyi sunmak için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve çocukların iyi bir eğitim alması ve gelecekleri için durmadan ve usanmadan çalışan annem **Safiye KAYA** ve babam **Ahmet KAYA** ile hayatımın her aşamasında ve Ege Üniversitesi Pilot tesisinde gerçekleştirdiğim üretimler sırasında beni yalnız bırakmayan kardeşim **Damlanur KAYA**'ya;

Sonsuz **teşekkür** ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	V
ABSTRACT	VII
TEŞEKKÜR	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XV
ÇİZELGELER DİZİNİ	XVII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XXI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
2.1. Kolajenin Moleküler Yapısı	7
2.2. Kolajenin Kimyasal Yapısı	7
2.3. Kolajen Hidrolizatı	8
2.4. Kolajen Hidrolizatı ile Daha Önce Yapılmış Çalışmalar	9
2.5. Kolajenin Vücuttaki Etki Mekanizması	11
2.6. Kolajen Hidrolizatının İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	12
2.7. Kolajen Hidrolizatının Gıdalarda Kullanımı	12
2.8.Meyveli İçeceklerde Hammadde Olarak Kullanılan Meyve Suları.....	14
2.9.Meyveli İçecek Üretimi	15

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.10. Meyveli İçecek Üretiminde Uygulanan Pastörizasyon İşlemi	17
2.11. Meyveli İçeceklerin Zenginleştirme Amaçlı Kullanımı	23
3. MATERYAL VE METOT	25
3.1. Materyal	25
3.1.1. Meyve suları.....	25
3.1.2. Kolajen hidrolizat.....	25
3.1.3. Askorbik asit	25
3.1.4. Sitrik asit	25
3.1.5. Doğal nane aroması.....	25
3.1.6. Toz şeker	25
3.1.7. Cam kavanoz ve kavanoz kapağı.....	25
3.2. Kimyasal maddeler.....	25
3.3. Kullanılan cihaz ve ekipmanlar	26
3.4. Metot.....	26
3.4.1. Araştırma planı	26
3.4.2. Formülasyon geliştirme.....	28
3.4.3. Meyveli içecek formülasyonları ve üretimlerin gerçekleştirilmesi.....	29

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.4.4. Sıcaklık ölçümleri ve pastörizasyon kriteri olarak toplam P _o değerinin hesaplanması.....	29
3.4.5. Pastörize edilmiş meyveli içeceklerde uygulanan analiz Metotları.....	34
3.4.6. İnkübasyon testi	43
3.4.7. Mikrobiyolojik analiz	43
3.4.8. Duyusal analiz.....	43
3.4.9. İstatistiksel analiz.....	44
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	45
4.1. Meyveli İçecek Formülasyonları	45
4.1.2. Duyusal Analiz Sonuçları	48
4.2.Meyveli İçeceklerin Üretimlerin Gerçekleştirilmesi	49
4.2.1. Pastörizasyon işleminde sıcaklık ölçümleri.....	49
4.2.2. İnkübasyon testi	53
4.2.3. Mikrobiyolojik analiz bulguları	55
4.3. pH Değerleri ve Sitrik Asit İlavesi	57
4.4. Briks Derecesi Sonuçları	60
4.5. Ürünlerin Depolama Süresince Askorbik Asit İçeriğindeki değişimleri	61
4.6. Protein Tayini Sonuçları	66

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.7. Kolajen, İn Vivo Kolajen ve Biyoyararlılık Tayini Sonuçları	67
4.8. Fenolik Madde Miktarı	72
4.9. Antioksidan Kapasitesi Değerleri	77
4.9.1. ABTS değerleri	77
4.9.2. DPPH Değerleri	81
4.10. Renk Tayini Sonuçları	84
4.11. Şeker Tayini Sonuçları	89
5. GENEL SONUÇLAR	94
KAYNAKLAR DİZİNİ	100
ÖZGEÇMİŞ	111
EKLER	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Kolajenin Amino Asit Dağılımı	7
2.2. Kolajen Hidrolizatı Akış Şeması.....	8
3.1. Araştırma Planı	27
3.2. Diyaliz Tüpünün Şartlandırılması	38
3.3. Fenolik Bileşik Tayini Akım Şeması	40
3.3. CIE Renk Skalası.....	42
4.1. Depolama Süresi Boyunca Askorbik Asit Kayıp Yüzdeleri	63
4.2. Gallik Asit Kalibrasyonu Eğrisi.....	72
4.3. Depolama Süresi Boyunca Fenolik Madde Miktarı Kayıpları (%)	74
4.4. Troloks Kalibrasyon Eğrisi.....	77
4.5. Depolama Süresi Boyunca Antioksidan Aktivite (ABTS) Kayıp Yüzdeleri ...	79
4.6. Depolama Süresi Boyunca Antioksidan Aktivite (DPPH) Kayıp Yüzdeleri...	82
4.7. Depolama Süresi Boyunca Portakallı İçeceğe Ait Renk Ölçüm Değerleri.....	85
4.8. Depolama Süresi Boyunca Portakal Üzümlü İçeceğe Ait Renk Ölçüm Değerleri	85

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil

Sayfa

4.9. Depolama Süresi Boyunca Elmalı İçeceğe Ait Renk Ölçüm Değerleri.....86

4.10. Depolama Süresi Boyunca Elma Üzümlü İçeceğe Ait Renk Ölçüm
Değerleri.....86

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. 2010 Yılına Ait Ülkelere Göre Fonksiyonel Gıda Pazarı % Pazar Payı.....	2
3.1. <i>Aliycyclobacillus acidoterrestris</i> Sporlarının D ve Z Değerleri	21
3.2. Pastörizasyon Değeri (Po) ve P Denemelerinde Kullanılan Parametreler.....	31
4.1. Şekersiz Portakallı İçecek Ürün Formülasyonu	45
4.2. Şekersiz İçerikli Portakallı İçecek Ürün Formülasyonu.....	46
4.3. Portakal Üzümlü İçecek Ürün Formülasyonu	46
4.4. Elmalı İçecek Ürün Formülasyonu.....	46
4.5. Elmalı Üzümlü İçecek Ürün Formülasyonu	47
4.6. Limonlu İçecek Ürün Formülasyonu.....	47
4.7. Limon Üzümlü İçecek Ürün Formülasyonu.....	47
4.8. Meyveli İçeceklerin Lezzet Değerlendirmesine Ait Sıralama Testi Puanları	48
4.9. Meyveli İçeceklerin Lezzet (Duyusal) Değerleri	49
4.10. Meyveli İçecek Örneklerine Ait Isıl İşlem Verileri	50
4.11. İnkübasyon Öncesi ve Sonrası pH Değişimleri.....	53
4.12. İnkübasyon Öncesi ve Sonrası pH Değişimleri.....	53

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.13. İnkübasyon Öncesi ve Sonrası Meyveli İçeceklere Ait Renk Değerleri (L*,a*,b*).....	54
4.14. Isıl İşlem Öncesi Meyveli İçeceklere Uygulanan Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	56
4.15. İnkübasyon Testine Tabi Tutulan Meyveli İçeceklere Uygulanan Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	57
4.16. Depolama Süresi Boyunca Meyveli İçeceklere Ait pH Değerleri	58
4.17. Depolama Süresi Boyunca Meyveli İçeceklere Ait Briks Değerleri.....	60
4.18. Depolama Süresi Boyunca Meyveli İçeceklere Ait Askorbik Asit Değerleri.....	62
4.19. Meyveli İçeceklerin Protein İçerikleri	66
4.19. Portakallı İçekte Kolajen Miktarı, In Vivo Kolajen Miktarı, ve Biyoyararlılık Analiz Sonuçları	68
4.20. Portakal Üzümlü İçekte Kolajen Miktarı, In Vivo Kolajen Miktarı ve Biyoyararlılık Analiz Sonuçları	69
4.21. Elmalı İçekte Kolajen Miktarı, In Vivo Kolajen Miktarı ve Biyoyararlılık Analiz Sonuçları.....	70
4.22. Elmalı Üzümlü İçekte Kolajen Miktarı, In Vivo Kolajen Miktarı ve Biyoyararlılık Analiz Sonuçları	71
4.23. Meyveli İçeceklere Ait Toplam Fenolik Madde İçerikleri (mg/100 g)	73

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.24. Meyveli İçeceklerin Toplam Antioksidan Aktivitesi Sonuçları	78
4.25. Meyveli İçeceklerde ve Standartların DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Sonuçlarından Elde Edilen EC ₅₀ Değerleri	81
4.26. Portakallı İçeceğe Ait Şeker İçeriği.....	89
4.27. Portakal Üzümlü İçeceğe Ait Şeker İçeriği.....	90
4.28. Elmalı İçeceğe Ait Şeker İçeriği	91
4.29. Elmalı Üzümlü İçeceğe Ait Şeker İçeriği.....	92

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
ANOVA	Varyans Analizi
°Bx	Briks Değeri
g	Gram
D	Desimal
T _{ort}	Ortam Sıcaklığı
T _k	Ürün Merkez Sıcaklığı
P _o	Pastörizasyon Değeri

1. GİRİŞ

Günümüzde tüketiciler, sağlık ve güzelliklerini korumak ve oluşan sorunlarına çözüm bulmak için ilaç yerine doğal ürünlere, fonksiyonel gıdalara ve güvenli gıda takviyelerine yönelmektedir. Fonksiyonel gıdalar, besleyici etkilerinin yanı sıra bir ya da daha fazla etkili bileşene bağlı olarak sağlığı koruyucu, düzeltici veya hastalık riskini azaltıcı etkiye sahip olan gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Ekşi, 2005). Gıda ve İlaç Teşkilatı'nın (FDA) tanımına göre fonksiyonel gıdalar; önemli düzeyde özel besin unsurlarını içermeli, bu unsurların yapısı ve vücuttaki fonksiyonu bilinmeli, besin öğelerinin yanı sıra sağlık açısından da faydalı olduğu ispatlanmalı, FDA tarafından kabul edilen hastalık/diyet ilişkisi konusunda iddiasını kanıtlamış bilimsel çalışmalar bulunmalıdır (Gülmez ve Güven, 2005). Takviye edici gıdalar ise bir ya da birden fazla besin öğesi; vitamin, mineral, protein, bitki, botanik, bitkisel kaynaklı maddeler, amino asitler ve benzeri bileşenler ile bunların konsantrisi ve/veya ekstraktlarından oluşan ve günlük alım dozu belirlenmiş ürünler olarak tanımlanmıştır (Ersöz, 2011). Fonksiyonel gıda teriminin yanı sıra bu kapsamdaki gıdalar için sağlık gıdaları, nutrasötikler, tıbbi gıdalar, düzenleyici gıdalar, özel besleme amaçlı gıdalar ve farmakolojik gıdalar gibi terimler de kullanılmaktadır (Arvanitoyannis and Koukaiaroglou, 2005).

Fonksiyonel gıda sektörü, tüketicilerin diyet/hastalık ilişkisini kavramaları, nüfusun yaşlanması, tedavi giderlerinin artması ile birlikte gıda ve beslenme biliminin gelişmesine paralel olarak hızla büyümekte ve gıda üretimine yön vermektedir. Bu düşünceyle birlikte fonksiyonel gıda sektörünün gelişmesinin hükümetler tarafından da desteklenmesi ve tüketici bilinci ile üretim modellerinin değişmesi ile birlikte yenilikçi gıda üretimlerinde artış gerçekleşmektedir. Dünya ile paralel olarak, ülkemizdeki fonksiyonel ve takviye edici gıda pazarı büyüklüğü her yıl % 10 oranında büyümektedir. Fonksiyonel gıda pazarı 2000 yılında 28 milyar dolar, 2003 yılında 30 milyar dolar, 2005 yılında 50 milyar dolar, 2012 yılında ise 100 milyar dolara ulaşmıştır (Anon, 2011b). Ülkelere göre fonksiyonel gıda pazarı Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. 2010 Yılına Ait Ülkelere Göre Fonksiyonel Gıda Pazarı % Pazar Payı (Anon, 2011b).

ÜLKE	FONKSİYONEL GIDA PAZARI (%)
Japonya	38,4
Avustralya	1,6
Amerika Birleşik Devletleri	31,1
Avrupa	28,9

Mevcut veriler 2005 yılında beri meyve suyu sektörünün; gerek işlenen meyve, gerek tüketilen meyve suyu, gerekse ihraç edilen konsantre açısından artış göstermesi fonksiyonel içeceklerle yönelik eğilimin de artacağını ortaya koymaktadır. Vitamin (A, C, E) ve mineral katkısı dışında; fonksiyonel meyve suyu çeşitlerinden probiyotik meyve suyu, meyve suyu-peynir altı, meyve suyu-soya, meyve suyu-bitki ve bitki çayı karışımlarının popüleritesinde artış görülmektedir. Son yıllardaki meyve suyu üretimini bir önceki yıllar ile kıyaslandığında % 70 meyveli içecek, % 13 meyve nektarı üretiminin arttığı, aromalı içecek üretiminde ise % 36 oranında düşüş görülmüştür. Kişi başına tüketim ise meyve suyunda 0.17 litreden (2004 yılı) 0.43 litreye (2005 yılı); meyve nektarında 4.18 litreden 5.12 litreye; içecekte 0.24 litreden 0.41 litreye artış görülmüştür. Bu verilere karşılık aromalı içecek tüketimi, kişi başına 1.80 litreden 1.16 litreye düşmüştür (Ekşi, 2005). MEYED verilerine göre, 2010 yılı itibarıyla ülkemizde fert başına yıllık tüketim yaklaşık 10 litre olup, dünya ortalamasının üzerinde seyretmektedir (Anon.2012c). Meyve suyu ve içecek tüketiminde görülen bu artış fonksiyonel meyveli içecek üretimi talebindeki artışı da beraberinde getirmektedir.

Ülkemizde ise fonksiyonel gıdalardan kolesterolü azaltan yağ ve margarinler, vitamin ve ek maddelerle takviye edilmiş süt, ekmek ve meyve suları, faydalı bakteriler içeren mayalı içecekler, tam buğday ekmeği, yüksek lifli ürünler, katkılı tahıllar, iyotla zenginleştirilmiş sofraya tuzu yaygın olarak kullanılmaktadır.

Fonksiyonel gıda üretimi bireyin beslenmesine katkıda bulunan, sağlığı koruyucu özellikte ve daha iyi duruma getirilmesine yardımcı olan, besleyici ve sağlığı olumlu yönde etkileyici özelliklerinin beslenme bilimi ve tıp açısından sağlam temelleri olan, tıbbi ve beslenme bilgilerimize dayalı olarak besin veya besin ögesi için günlük uygun alım miktarları belirlenmiş olan, söz konusu besinin

tüketiminin güvenilir olduğu ortaya konulmuş olması gibi kriterler dikkate alınarak yapılmalıdır (Scrinis, 2008). Buna ek olarak besin bileşenlerinin fizikokimyasal özellikleri, niceliksel ve niteliksel özellikleri belirlenmiş olmalı, gıda işlenerek fonksiyonel özellik kazanmışsa; besleyici özelliğinde kayıp olmamalı, söz konusu besin seyrek olarak tüketilen, değil, günlük beslenmede sıkça kullanılan bir besin olmalı, besin doğal olarak tüketildiği şekilde olmalı, söz konusu besin veya bileşeni ilaç, kapsül olarak kullanılan bir madde olmamalıdır (Coşkun, 2005).

Türkiye’de diyet ve fonksiyonel gıda pazarının 420 milyon TL’ye ulaştığını kaydeden Diyabetik ve Fonksiyonel Gıda Üreticileri Derneğine göre fonksiyonel gıda pazarının, hane halkı bazında kullanım oranının % 43 olduğu, en fazla tüketilen fonksiyonel gıdaların sıralamasının % 39,1 maden suyu, % 15,5 margarin, % 12,6 çay, % 6,4 bisküvi, % 6,2 meyve suyu, % 5,6 süt, % 5,5 yoğurt, % 4 ekmek şeklinde olduğu belirtilmiştir. Diyet ürünlerinin pazarının ise 90,7 milyon TL olduğu hane halkı bazında kullanım oranının da % 46 oranına ulaştığı bilinmektedir (Doğu, 2009). Ayrıca takviye edici gıda pazarı, ülkemizde hızla büyümektedir ve kayıtlı pazar büyüklüğünün 150 milyon dolar’ın üzerinde olduğu düşünülmektedir.

Meyve suyu sektörü ise gerek işlenen meyve, gerek tüketilen meyve suyu, gerekse ihraç edilen konsantre açısından yükseliş göstermektedir. Tüketici bilincinin artması ile birlikte ise % 100 meyve suyuna ve fonksiyonel meyveli içecekler için eğilim artarken meyve içermeyen aromalı içeceklerin üretim ve tüketiminde ise düşüş görülmektedir (Ekşi, 2005). Fonksiyonel ürünlerin sektörel dağılımı incelendiğinde içecek sektörü, fonksiyonel sektör dağılımında % 12,5 oranına sahiptir (Anon, 2011a). Meyve suyu içeren meyveli içeceklerin fonksiyonel gıda kapsamında yeni ürün olarak geliştirilmesi son yıllarda oldukça yaygındır. Meyve suyu tüketiminin yükselişte olması, fonksiyonel gıda üretimine teknolojik olarak ve besinsel içerik açısından uygun olması gibi nedenlerle fonksiyonel içeceklerin üretimi yaygınlaşmaktadır.

Fonksiyonel bir bileşen olan kolajen hidrolizatı, vücutta kolajen yapımını arttırarak kemik ve cilt sağlığını düzenleyici gıdalarda kullanılan popüler bir bileşen hale gelmiştir. Kolajen dokulardaki matriks, hücrelerin arasında bulunan, hücre aralarını dolduran ve onları destekleyen kompleks bir yapıdır. Ayrıca su ve mineralleri tutar ve doku gerginliğini ayarlar. Ekstrasellüler matriksi oluşturan yapısal proteinlerden en önemlisi kolajendir. Kolajen vücudumuzdaki proteinlerin

yaklaşık % 25'lik kısmını oluşturan, derimizin % 75'lik kısmını meydana getiren önemli bir proteindir (Sharma et al., 2008). Çoğunlukla deri, tendonlar, iç organlar, kemik, kıkırdak ve bağ dokuda bulunur ve vücut tarafından fibroblast hücrelerince doğal yollarla üretilir. Doku hücreleri arasındaki boşlukları dolduran lifli yapısı ile deri dokusunun esnekliğini, parlaklığını ve yumuşaklığını sağlarken, kemik ve kıkırdak dokusunda destek görevini gören madde kolajendir (Djavani et al.,1991).

Yaşlanma, sigara ve alkol, vücuttaki oksijen azlığı, beslenme yetersizlikleri ile güneş ve diğer dış etkenler nedeniyle 20'li yaşların ortalarından itibaren vücutta kolajen sentezi azalır (Sağcan vd., 2011). Kronolojik yaşlanma genetik programa bağlı olduğundan sonuçları bireysel farklılıklar gösterir. Bu farklılıklar kolajen ve elastindeki biyokimyasal değişikliklere bağlı olmakla birlikte deri, deri ekleri, sinirler ve deri fonksiyonlarını etkilemektedir (Oğuz, 2002). Kolajen kaybı sonucunda deri esnekliğini, parlaklığını ve yumuşaklığını kaybeder, donuklaşır, kırışır ve kahverengi lekeler ve başka renk değişiklikleri oluşur. Bunun sonucunda deride sarkmalar ve kırışıklıklar meydana gelmektedir (Sağcan, 2011).

Kolajen sentezinin azalması sonucunda benzer bir durum da, bağ doku ve kıkırdaklar için geçerlidir. Yaşlanma ve diğer nedenlerden ötürü kolajen sentezinin azalmasıyla bağ doku ve kıkırdaklar esnekliğini kaybeder ve osteoporoz başta olmak üzere çeşitli rahatsızlıklar meydana gelir. Osteoporoz veya kemik erimesi, kemik metabolizmasındaki bir bozukluk sonucunda kemikteki protein örgüsünün seyrelmesiyle iskelette ortaya çıkan ve kemiklerin çok kolay kırılabilmesine sebep olan bir hastalıktır. En çok omurlarda, kalça ve bilek kemiklerinde görülse de vücuttaki bütün kemikler bu durumdan etkilenir. Kolajen hidrolizat günümüzde yaygın olan bu hastalığı engelleyici, eklem ağrılarını azaltıcı ve eklem iltihabını engelleyici etkiye sahiptir (Anon, 2012a).

Önemli bir protein ve amino asit kaynağı olan kolajenin sentezinin azalması ile yaraların geç iyileşmesi, yorgunluk ve performans düşüklüğü gibi semptomlar da görülmektedir (Sağcan, 2011).

Kozmetik, gıda (süt, meyveli içecek, su vs.), biyomedikal, nutrasötik, farmasötikal ve kozmetik alanlarında kolajen hidrolizati kullanılmaktadır. Kolajen hidrolizati kozmetik endüstrisinde özellikle yaşlanma karşıtı kremlerde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak molekül büyüklüğünün yüksek olması nedeniyle, cildin dışından içeri nüfuz etmesinin zor olacağı yönünde eleştiriler bulunmaktadır. Ayrıca çeşitli kliniklerde deri altına kolajen dolgusu yapılmaktadır, fakat bu yöntem kişilere acı vermekte ve bazı enfeksiyonlara yol açabilmektedir.

Piyasada tablet olarak da kolajen hidrolizatının satışı gerçekleşmektedir. Şu an ülkemizde bulunmamasına rağmen yurtdışında özellikle Uzak Doğu ve ABD’de kolajen hidrolizat içeren fonksiyonel gıda ürünlerinin piyasada satışı yapılmaktadır.

Kolajen hidrolizat moleküler yapılarındaki farklılıklara göre 7 sınıfa ayrılmaktadır (Anon, 2012b). Bağ dokusunda bulunan ve kolajen tipleri içinde en yaygın olan Tip I ve Tip III kolajenlerinin deriye direnç sağlama fonksiyonu bulunmaktadır. Gıda endüstrisinde kullanımı uygun olan kolajen tipi Tip I ve Tip II’dir. Tip I kolajeni kemik, tendon, deri, ligamentler ve yara dokusunda yer almaktadır (Miller and Gay, 1987). Cilt kusurları ile kemik ve bağ doku rahatsızlıkları üzerinde olumlu etkileri olan, protein hidrolizatları açısından zengin, biyoyararlılığı yüksek olan kolajen hidrolizatının gıda endüstrisinde kullanımı artmıştır.

Tez çalışmasında hammadde olarak kullanılan balık kaynaklı kolajen hidrolizatı, ülkemizde şu anda gıda sanayinde kullanılmayan, değerli bir protein kaynağıdır. Bu protein yurtdışında içecek dışında farklı ürünlerde de gıda bileşeni olarak kullanılmaktadır. Yurtdışı marketlerinde değişik firmalar (Shiesedo, Medcoll, Lotte vs.) tarafından krem, kapsül ve sıvı formlarında olan cilt ve kemik sağlığı için tüketime sunulmaktadır. Gıdalarda kullanımına örnek olarak Nescafe verilebilmektedir. Nescafe deriyi sıkılaştırarak kırışıklıkları yok eden kolajen içeren yeni bir ürünü piyasaya sürmüş olup ürünün içeriğinde ise kahve, yağsız süt ve 200 mg kolajen bulunmaktadır. Meyveli içeceklere örnek olarak ise Lotte Collagen, Meiji, Blink ve Shiseido markalı meyveli içecekler verilebilmektedir. Bu meyveli içecekler elma suyu, mango suyu, beyaz üzüm suyu gibi antisivonince düşük meyve suyu çeşitleri kolajen hidrolizat, tatlandırıcı, vitamin C gibi birçok bileşen ile zenginleştirilmiş meyveli içecekler piyasada yer almaktadır.

Kolajen hidrolizatı, tüm dünyada gıda güvenliği ile ilgili yetkin bir otorite olarak kabul edilen FDA (Food and Drug Administration - Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından GRAS (Generally Recognized As Safe – Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen) olarak ilan edilmiştir ve alerjen riski taşımamaktadır. Türk Gıda Kodeksi takviye edici gıdalar tebliğine göre kolajen hidrolizatının gıdalarda kullanımı uygundur.

Bu çalışmada balık kaynaklı kolajen hidrolizatının eklendiği doğal meyve suyu içeren fonksiyonel içecek formülasyonlarının geliştirilmesinin yanı sıra ürünlerin dayanıklı hale getirilmesi planlanmaktadır.

Bu kapsamda yeni bir ürünün piyasaya sunulmasında, bu ürüne özgü ısı işlem koşullarının öncelikler saptanması zorunludur. Ayrıca herhangi bir ürünün kendine özgü nitelikleri, bu ürüne uygun ısı işlem koşullarını saptamayı gerektirir. Isı aktarımı mikroorganizmaların ölümü açısından bir farklılık taşıyorsa, bu durumda ısı işlem koşullarının bilimsel yollarla saptanması gerekir (Şahbaz vd., 1996). Meyveli içeceklerin pH değerinin 4,5'dan daha düşük olması, bu ürünleri düşük asitli gıdalar kapsamına sokmakta olup bu ürünler 100°C'nin altında uygulanan pastörizasyon işlemi ile dayanıklı hale getirilebilmektedir.

Gıdaların korunmasında ısı işlem uygulamasının mikrobiyolojik yönden güvenli, sağlığa uygun ve ekonomik olması bu yöntemin yaygın uygulama alanı bulmasına neden olmuştur (Cemeroğlu ve Artık, 1996). Ayrıca meyveli içeceklerin nitelik ve tüketim alanı bakımından, tüketici tercihi de göz önüne alınırsa, ısı işlemle dayanıklı hale getirilmesi, meyveli içeceklerin işlenmesi açısından uygun gıda teknolojisi yöntemi olarak benimsenmektedir.

Bu tez çalışması ile ülkemizde herhangi bir örneği bulunmayan, cilt kusurları ve kemik-bağ doku rahatsızlıkları üzerinde olumlu etkileri olabilecek, biyoaktif bileşenler içeren, protein hidrolizatlarınca zengin, doğal aroma, C vitamini ve konsantre meyve suyu içeren, duyu analizi yöntemleri ile Türk damak tadına uygun, biyoyararlılığı yüksek, yeni bir meyveli içecek geliştirilmesi ve geliştirilen ürünün dayanıklı hale getirilmesi amaçlanmıştır. Geliştirilecek ürünlerin hem tüketici tarafından ilgi göreceği hem de ülke ekonomisine katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

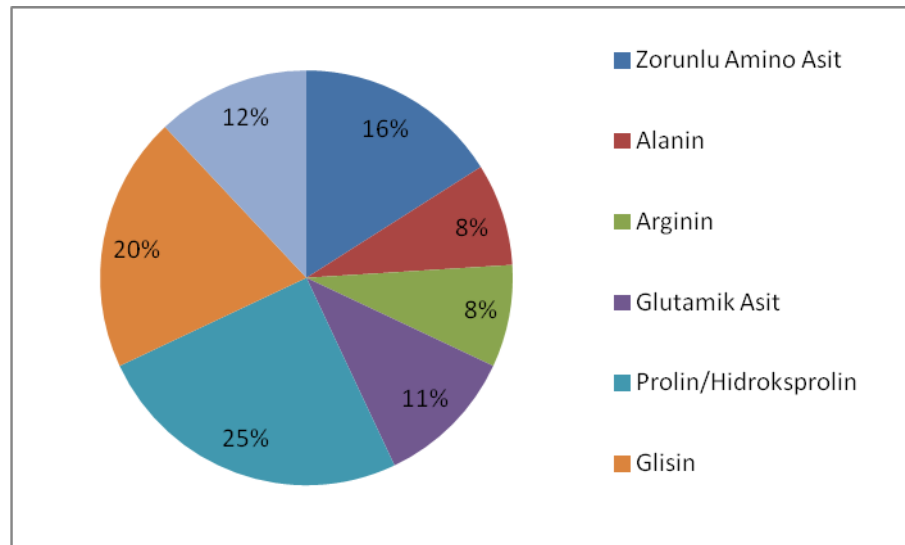
2.1 Kolajenin Moleküler Yapısı

Kolajen moleküler yapılarındaki farklılıklara göre 7 sınıfa ayrılmaktadır (Anon, 2012c). Bu sınıflar içinde çeşitli dokularda belirli fonksiyonları yerine getiren 19 farklı kolajen tipi bulunmaktadır (Culav et al.,1999).Tip I, II, III, V ve XI kolajenleri liflerden oluşmaları nedeniyle lifli kolajenler olarak bilinirler. Diğer kolajen tipleri ağ yapı ya da tabakalardan oluşmaları nedeniyle genel olarak lifli olmayan kolajenler olarak adlandırılırlar (Anon, 2013a). Bağ dokusunda bulunan ve kolajen tipleri içinde en yaygın olan Tip I ve Tip III kolajenlerinin deriye direnç sağlama fonksiyonu vardır (Miller and Gay, 1987). Gıdalara eklenmesi uygun olan kolajen tipleri Tip I ve Tip II'dir. Tip 1 kolajeni kemik, tendon, yumuşak doku (deri), ligamentler ve yara dokusunda bulunmaktadır. Tip 2 kolajeni ise kıkırdak doku ve gözün yapısında bulunmaktadır (Anon, 2012c).

2.2 Kolajenin Kimyasal Yapısı

Kolajen sarmal yapıda 3 polipeptidten oluşmaktadır. Fonksiyonel olarak yapısal proteinlerdir. Zorunlu amino asit olan hidroksiprolin içerirler(Kunge vd., 1999).

Kolajenin yapısında 20 farklı amino asit bulunmakla birlikte 9 zorunlu amino asitin 8 tanesi(glisin, prolin ve hidroksiprolin gibi) kolajenin yapısında yüksek oranda bulunmaktadır (Anon, 2012a). Kolajenin amino asit dağılımı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



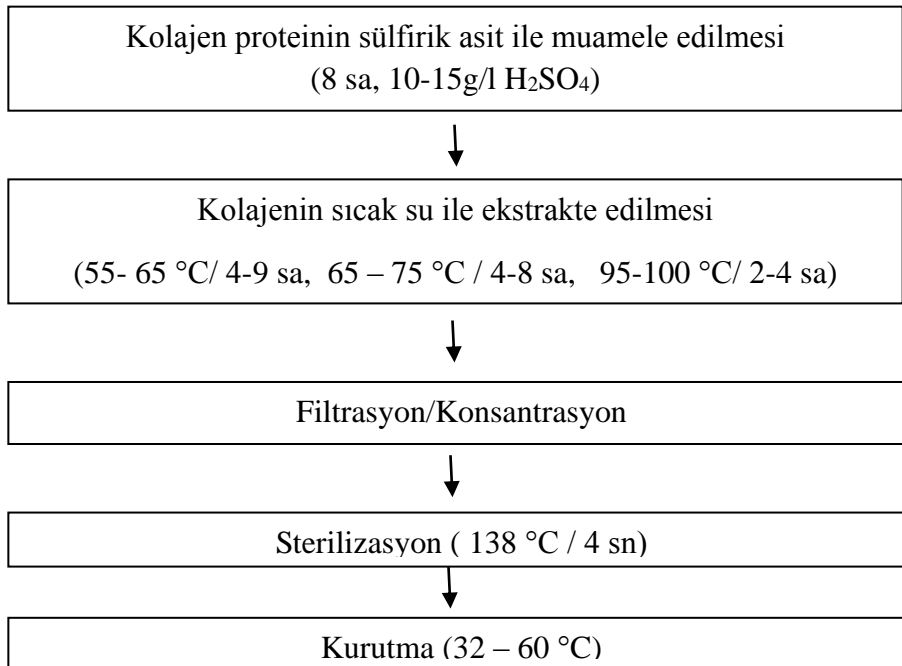
Şekil 2.1 Kolajenin Amino Asit Dağılımı.

Kolajen vücutta kolajenaz enzimi tarafından amino asitlere parçalanmaktadır. Bu durum, kolajenin cilt ve bağ doku üzerinde olumlu etkilerinin olmasını engeller. Antioksidanlar (özellikle C vitamini) kolajenaz enzimini inhibe ederek bu olumsuz etkiyi önlemektedir. Kolajen hidrolizati antioksidanlarca zengin ürün grupları ile zenginleştirildiğinde etkinliği artmaktadır (Betty et al.,2001).

2.3.Kolajen Hidrolizati

Kolajen hidrolizati, hayvan deri ve kemiklerinden elde edilen kolajen proteininin enzimatik veya asidik hidroliz yolla parçalanması sonucu oluşan suda çözünür formdaki protein hidrolizatıdır (Hunter, 2011). Bu üretim yöntemi ile elde edilen kolajenin molekül ağırlığı ortalama olarak 2000 - 5000 Da aralığındadır. Bu nedenle sindirimi ve biyoyararlılığı oldukça yüksektir (Asghar and Henrickson, 1982).

Kolajen peptit olarak da bilinen kolajen hidrolizati, sığır, domuz ve balığın kemik, tendon, deri ve ligamentlerden tip I kolajeni üretilmektedir.Kolajen hidrolizatının moleküler ağırlığı asit ve enzim hidrolizi ile yıkıma uğratılmakta ve nutrasötik gıdalar ve kozmetik uygulamalarında bir protein katkısı olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır.Kolajen hidrolizatının üretim akış şeması Şekil 2.2'de gösterilmiştir (Rousselot, 2011).



Şekil 2.2. Kolajen Hidrolizati Üretim Akış Şeması.

Kolajen hidrolizatın bir başka önemli özelliği de glisin ve prolin gibi önemli amino asitlerin diğer proteinlere göre çok yüksek oranda bulunmasıdır. Örneğin 2.8 litre sütte bulunan miktarda glisin veya 110 g ette bulunan miktarda prolinalabilmek için sadece 10 g kolajen hidrolizat tüketmek yeterlidir.

Kolajen hidrolizatı balık, sığır ve domuz olmak üzere üç farklı kaynaktan elde edilmektedir. Gıda ve kozmetik sanayinde kullanılan jelatinin ve kolajen hidrolizatın büyük çoğunluğu domuz ve sığır kaynaklıdır. Balık kaynaklı kolajen hidrolizatının kullanımı sığır ve domuz kaynaklı kolajen hidrolizatına göre kullanımı daha yaygındır. Bunun sebebi; BSE (deli dana) hastalığı nedeniyle sığır kaynaklı, müslüman ülkelerde kullanılamamasından dolayı da domuz kaynaklı kolajen hidrolizatının kullanılmamasıdır. Balık kaynaklı kolajen hidrolizatının biyoyararlılığı domuz ve sığır kaynaklı kolajen hidrolizatından daha yüksek olması sebebiyle fonksiyonel içeceklerde balık kaynaklı kolajen hidrolizatı kullanımı daha fazla tercih edilmektedir (Yetim, 2011).

2.4. Kolajen Hidrolizatı İle Daha Önce Yapılmış Çalışmalar

Kolajen hidrolizatının besin yoluyla alınmasının cilt kusurları ile bağ doku ve eklem rahatsızlıkları üzerinde olumlu etkilerinin olup olmadığı ile ilgili gerçekleştirilen pek çok çalışma bulunmaktadır.

Tanaka et al., (2009) günlük kolajen hidrolizat alımı sonrasında ultraviyole (UV) ışınlarından zarar görmüş olan deri üzerindeki etkisini araştırmıştır. Araştırma süresi boyunca in vivo metot ile biyoyararlılık ve su tutma kapasitesi ölçüm değerlerinin incelendiği çalışmada kolajen hidrolizatının beslenme açısından yararlı ve UV-B ışınlarından derinin zarar görmesini engellediği belirlenmiştir. Ayrıca fotoyaşlanmaya bağlı olarak oluşan cilt kusurlarında iyileşme sağladığı ve derinin su tutma kapasitesinin arttığı ortaya koyulmuştur. Benzer diğer bir çalışmada kolajen hidrolizat üreticisi bir firma tarafından Japonya'da gerçekleştirilen bir çalışmada, kontrol grubuna nazaran, kolajen hidrolizat alan kadınların cildinin nem düzeyinin % 28 daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca besin yoluyla kolajen hidrolizat alan kadınların % 91'i 8 haftalık ürün kullanımından sonra ciltlerinin nem seviyesinin yükseldiğini beyan etmişlerdir. Aynı firma tarafından Fransa'da yapılan bir çalışmada ise, 12 haftalık kullanım ile kadınların ciltlerindeki küçük kırışıklıkların % 26 oranında azaldığı, cildin esnekliğinin ise %19 arttığı ortaya koyulmuştur. Yapılan görüntüleme

analizleri ile ise deri kırışıklıkların derinliğinin % 23, hacminin % 40 azaldığı görülmüştür (Anon., 2010).

Ohara et al. (2009), Japonya'da gerçekleştirdiği bir çalışmada besin yoluyla kolajen hidrolizatı alan kadınların ciltlerinin su tutma kapasitesini incelemiştir. Araştırma sonucunda su tutma kapasitesi değerlerinin kolajen hidrolizatı tüketen kadınların kolajen hidrolizatı tüketmeyenlere oranla arttığı kanıtlanmıştır.

Wu et al. (2004), Japonya'da 4 hafta boyunca günlük alım dozu 0,166g/kg vücut ağırlığı, 1,66 g/kg vücut ağırlığı, 16,6 g/kg vücut ağırlığı olmak üzere üç farklı dozda sığanlara verilen domuz kaynaklı kolajen hidrolizatının kemik gelişimi ve kalsiyum eksikliği üzerine etkisini incelemiştir. 16,6g/kg vücut ağırlığı baz alınarak günlük alım dozu belirlenen grubun toplam vücut ağırlığı ve mineral kemik yoğunluğunda artış gözlenmiştir. Ağız yoluyla alınan domuz kaynaklı kolajen hidrolizatının yaşlı sığanların kemik metabolizmalarında olumlu gelişmeler gösterdiği ortaya koyulmuştur. Başka bir çalışmada Walrand et al., (2008) tarafından Fransa'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 100 ml süt ürününe ve 100 ml suya ayrı ayrı 10 gram domuz kaynaklı kolajen hidrolizat eklenmiştir. Kolajen hidrolizatta baskın olarak bulunan dört amino asitin (glisin, prolin, hidroksiprolin ve hidroksilizin) kan plazmasındaki konsantrasyonlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Kolajen hidrolizatı içeren ürünü kullanan kişilerin kan plazmalarında kolajen hidrolizatıyla ilişkili amino asit konsantrasyonunun arttığı tespit edilmiştir. Bu nedenle eklem rahatsızlıklarının giderilmesinde kullanılması önerilmiştir (Anon, 2010). Moskowitz, (2009) yapmış olduğu çalışmada ise in vitro metot uygulayarak kolajen hidrolizatının osteoartrit ve osteoporoz üzerine etkisini incelemiştir. 60 gün boyunca günde 10 gram kolajen hidrolizat alımı sonucu osteoartrit ve osteoporoz tedavisinde yarar sağladığı görülmüştür.

Kolajen hidrolizatın, kıkırdak doku üzerindeki anabolik etkiyi ortaya çıkarması söz konusu olduğundan, eklem ağrısını azaltma yolunda olan atletlerde eklem yapısını ve bütünlüğünü güçlendirdiğine dair oldukça güçlü gerekçeler vardır. 2006 yılında Almanya'da German Olympic Center'da yetişkin atletler ile yapılan yeni bir çalışmada, 12 haftalık çalışma süresinde, deney katılımcılarının %79'u, CH-Alpha™ küründen sonra eklem oynaklığı ve esnekliği üzerinde önemli gelişmeler göstermiştir (Denver, 2006).

Avrupalılar uzun yıllardır, hidrolize kolajeni, artrit olarak bilinen ve eklemlerde vücut tarafından üretilen bir iltihap olan hastalığın tedavisinde takviye

olarak kullanılmaktadır. Wei (2001), tarafından yapılan bir çalışmada, bir ay gibi kısa bir sürede, günde 7 ile 10 g takviyenin, artrit hastalarında ağrıyı ve eklemlerdeki katılığı giderdiğini göstermiştir. Wei (2001), 24 hafta süren bu çalışmada, tavuk kolajen ile metotreksatı, romatoid artrit hastası 236 kişi üzerinde yaptığı denemelerde iki grupta da hastalarda, ağrı, sabah tutukluğu, şiş eklemlerin sayısında azalma; sağlıkla ilgili yaşam kalitelerinde ise çoğalma olduğunu belirlemiştir. Çalışmanın sonunda tavuk kolajeni ile tedavi edilen hastaların % 41'i ve metotreksat ile tedavi edilen hastaların % 58'inde iyileşme olduğu bulgulanmıştır.

Chai et al. (2010), tarafından Tayvan'da gerçekleştirilen bir başka çalışmada 62 kadına balıktan elde edilmiş kolajen hidrolizatının besinyoluyla alınması sonucunda fibroblast hücrelerinin gelişimi incelenmiştir. Kolajen hidrolizat alımı sonrasında fibroblast hücrelerindeki aktivitenin arttığı ve vücudun doğal kolajen sentezini hızlandırdığı kanıtlanmıştır.

Yapılan klinik çalışmalara göre kolajen hidrolizatının eklemleri hasarlardan koruduğu, eklemleri güçlendirdiği, osteoarthritis gibi rahatsızlıklarda oluşan ağrıları azalttığı ve kemik yoğunluğunu önemli düzeyde arttırdığı, cilt kusurlarında iyileşme sağladığı, derinin su tutma kapasitesinin artırdığını, fibroblast hücrelerinin gelişimini hızlandırdığı gözlenmiştir. Yapılan klinik çalışmalarda çıkan başka bir sonuç ise osteoartrit ile savaşmada kolajen hidrolizatın etkisi, kırıldak matriks sentesinde, hidrolize kolajenin zengin aminoasit içeriğinin oynadığı önemli role bağlıdır.

Yukarıda belirtilen bilimsel çalışmaların bir kısmında da kolajen hidrolizatın C vitamini ile birlikte sunulduğu ve böylelikle etkinliğinin arttığı görülmektedir.

2.5 Kolajenin Vücuttaki Etki Mekanizması

Bilimsel çalışmalara göre kolajen hidrolizatının emilimi sonrası vurgulanmış olan ilk etkisinin antioksidan oluşu, ikinci etkisi ise biyolojik aktiviteleri olduğu belirtilmiştir (Tanaka et al.,2009).

Kolajen hidrolizat epidermis nem içeriğinin gelişimi, derinin yaşlanmasını önleyici, eklem ve bağ dokuları yenileyici etkisi olan biyoaktif bileşenleri bütünüyle karakterize etmektedir (Asghar et al.,1982).

Kolajen kollajenaz enzimi tarafından sindirilmektedir (Postlethwaite et al., 1978). Oral sindirim sonrası kolajen hidrolizatının % 90'dan fazlası

sindirilmekte ve kolaylıkla absorbe olmaktadır (Asghar and Henrickson, 1982, Rousselot, 2007). Gıda bileşeni olarak kolajen hidrolizatının sindiriminin güvenilir olduğu araştırmalar sonucu rapor edilmiştir (Wu et al.,2004).

2.6 Kolajen Hidrolizatının İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Yapılan klinik çalışmalar sonucunda araştırmacılar, hidrolize kolajenin güvenli ve insan sağlığına olumlu etkileri olduğunu kanıtlamışlardır. Kolajen hidrolizatının klinik çalışmalar sonucunda kanıtlanan insan sağlığı üzerindeki etkileri aşağıda listelenmiştir.

- Yüksek protein içeriğinden dolayı beslenmeyi destekleyici etki
- Gıdalarda düşük glisemik indeks etkisi
- Saçları kuvvetlendirici ve uzatıcı etki
- Antioksidan etki
- Epidermis hücrelerinde artış meydana getirici etki
- Deride genç görünümü ve esnekliği artırıcı etki
- Derinin su tutma kapasitesini ayarlayıcı etki
- Derideki pürüzsüzlüğü artırıcı etki
- Deride meydana gelebilecek kırışıklıkları önleyici etki
- Kolun ön kısmı ve ensede nem içeriğini önemli derecede artırıcı etki
- Eklem iltihabını engelleyici etki
- Eklem ağrılarını azaltıcı etki
- Kemik erimesini engelleyici etki

2.7 Kolajen Hidrolizatının Gıdalarda Kullanımı

Farklı moleköl ağırlıklarına sahip kolajen hidrolizatı ticari olarak üretilmekte olup genellikle bu değer 2000-5000 Da aralığında değişmektedir. Gıdalarda uygulanması önerilen 2000 Da moleköl ağırlığıdır (Moskowitz, 2000). 2000 Da moleköl ağırlığının önerilmesinin sebebi partiköl boyunun daha küçük olması sebebiyle emiliminin ve biyoyararlılığının 5000 Da moleköl ağırlığına göre daha yüksek olmasıdır.

Yapılan klinik çalışmalara göre kolajen hidrolizatın olumlu etkilerinden faydalanmak için düzenli ve günlük önerilen kullanım dozu miktarında (g/gün) tüketmek gerekmektedir. Günlük 10 gram kolajen hidrolizat alımı eklem, kemik

ve cilt sağlığı üzerinde yararlı etkileri olduğu, kanda hidrokspirolin konsantrasyonunu artırma etkileri yapılmış klinik çalışmalar sonucunda deneysel verilerle tespit edildiğinden dolayı bu maddenin günlük alım dozu miktarı 10 gram olarak Moskowitz (2000) tarafından önerilmektedir (Adam et al.,1995).

Genellikle yapılan araştırmalar sonucunda ürün formülasyonlarında C vitamini kullanıldığı görülmüştür. rn formülasyonlarında C vitamini kullanılmasının sebebi C vitaminin kolajen sentezini desteklemesidir. Özellikle C vitamini ve benzeri antioksidanlar kolajenaz enzimini inhibe ederek kolajen hidrolizatının parçalanmasını önlemektedir. Bu nedenle kolajen hidrolizatı C vitamini ile birlikte kullanıldığında vücudun pek çok dokusuna sağamlık veren kolajenin üretiminde etkili olan kolejenaz enzimini etkinliğinin azaldığı grlmektedir (Betty et al., 2001). C vitamininin antioksidan etkisi dışında yara iyileşmesi ve vücudun çoğu dokusuna sağamlığını veren kolajen oluşumu açısından yaşamsal olduğu ve ayrıca gıdalardan demir absorpsiyonunu arttırdığı bilinmektedir (Ekşi ve zen, 2012). Belirtilen olumlu etkileşimler nedeniyle kolajen hidrolizatı içeren formülasyonlara C vitaminin yer alması geliştirilecek fonksiyon ürünler için olumlu katkı sağlamaktadır.

Kolajen hidrolizatının gıdalarda kullanımına ilişkin etkili faktörler ortamdaki C vitamini miktarı, antosiyanin ve antioksidan içeriğidir. Buna göre hava, işik, su oranı, üretim sırasında uygulanan ısıl işlem sıcaklığı gibi dış etkenler ortamdaki C vitamini, antosiyanin ve antioksidan aktivite kapasitesini etkilemektedir.

Kolajen hidrolizatı genel olarak yüksek çözünürlüğe sahiptir (Rousselot, 2011). Ancak antisiyonince yüksek meyve sularında (Nar, vişne vs.) kullanıldığı takdirde kolajen hidrolizatı çökelti oluşurmakta ve üretimde probleme neden olmaktadır.

Kolajen hidrolizatı yüksek sıcaklığa dayanıklı bir yapıya sahiptir. Bu sebeple zenginleştirme yapıldığı gıda ürünleri pastörize edilebilmektedir (Rousselot, 2011). Kolajen hidrolizatı gıdada çözündüğünde genellikle tat ve koku vermez. Ancak balıktan elde edilen kolajen hidrolizatı gıdalara eklenmesi durumunda konsantrasyona bağlı olarak koku problemleri görülebilmektedir (Allard et al., 2003).

Dolayısıyla tüm bu faktörler göz önünde bulundurularak kolajen hidrolizatı içeren yeni ürünlerin geliştirilmesi, ürün kalitesinin duyuusal ve besin içeriği açısından yüksek olması için işlem koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir.

2.8. Meyveli İçeceklerde Hammadde Olarak Kullanılacak Meyve Suları

Antioksidan değeri yüksek olan dünya turunçgil meyveleri üretimi 2010 yılı itibarı ile yaklaşık 123.755.750 ton olup % 56'sını portakal oluşturmaktadır. 2010 yılı Türkiye verilerine göre 1.710,500 ton portakal üretimi 53.236 hektar alanda yapılmıştır (FAO, 2010). C ve A vitaminin öncül maddeleri olan karotenoidlerce zengin olan turunçgiller ve ürünleri (portakal, limon vs.), günlük beslenmemizde yer alması gerekli önemli gruplardır. Turunçgillerin bileşiminde bulunan C vitamini ve betakaroten antioksidan özellikle bileşikler olup, bu özellikleriyle vücutta önemli işlevleri bulunmaktadır.

Turunçgil meyve sularının C vitaminince zengin kaynaklar olduğu ve 240 ml taze greyfurt ya da portakal suyu tüketiminin günlük alınması tavsiye edilen C vitamini miktarını sağladığı bilinmektedir (Nagy and Attaway 1994). Hidrofilik bir antioksidan olan C vitamininin, midedeki nitrozo bileşiklerin oluşumunu önleyerek antikanserojenik ve bağışıklık sistemini uyarıcı etki gösterdiği ileri sürülmektedir. Turunçgillerin bünyesinde bulunan C vitamininin kolajen oluşumu, bağışıklık sisteminin düzgün işlemesi ve yaraların iyileşmesi gibi çeşitli vücut süreçlerinde önemli rol oynamaktadır (Byers and Perry 1992). Hertog et al., (1993) portakal suyundaki antioksidan aktivitenin hesperidin ve narirutinden kaynaklandığını belirtmektedir. Turunçgil meyveleri, ayrıca triterpen türevi olan limonoidler gibi bileşikleri, sinensetin ve nobiletin gibi bazı flavonları ve yüksek antioksidan potansiyele ve sağlığı teşvik edici kapasiteye sahip hidroksisiamik asitler gibi fenilpropanoidleri de içermektedir (Kaur and Kapoor, 2001). Portakal ve greyfurt en fazla belirlenen hidroksisiamik asidin ferulik asit olduğu; bunu sinapik, kumarik ve kafeik asitlerin izlediği belirlenmiştir (Peleg et al.,1991).

Turunçgil sularının yanı sıra flavonoidler ve diğer fenolikler bakımından zengin bir kaynak olan üzüm suyunun da sağlık üzerine olumlu etkilerinin bulunduğu bildirilmektedir. Meyveler arasında en fazla fenolik madde içeriğine sahip olduğu bilinen üzüm; flavan-3-oller (kateşinler ve prosiyanidinler), antosiyaninler ve flavonoller gibi flavonoidleri (Macheix and ark., 1990), hidroksisiamik (kaftarik asit, kutarik asit) ve hidroksibenzoik (protokateşuik asit) asitler gibi fenolik asitleri içermektedir (Karadeniz vd., 2000). Üzüm suyu tüketimi, serbest radikal düzeylerinde bir azalma sağlayarak ve plazma antioksidan kapasitesini artırarak lenfositlerdeki DNA zararlanmasını azaltabilmektedir. Beyaz ve kırmızı üzüm sularının antioksidan aktiviteleri arasındaki farkın başlıca fenolik içerikleri ile diğer antioksidan bileşiklerden kaynaklandığı belirtilmektedir (Dajvalos et al.,2004). Kırmızı üzümlerde en fazla

bulunan fenolik bileşikler antosiyaninler iken; beyaz üzümlerde flavonollerdir (Robards et al., 1999).

Turunçgil sularına ve üzüm suyuna benzer olarak elma suyundaki başlıca antioksidan bileşiklerin de polifenoller ve askorbik asit olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, taze elmada zaten çok az miktarda bulunan C vitamininin meyve suyu prosesi sırasında hızla kaybolduğu bilinmektedir (Miller et al., 1995). Hammadde ve işleme koşullarına bağlı olarak elma suyunda çeşitli miktarlarda polifenolik bileşik bulunmaktadır (Karadeniz 1994, Bitsch et al., 2001). Polifenolik maddelerce zengin elma sularının, tüketiminden 2 saat sonra plazma antioksidan kapasitesinin arttığı saptanmıştır (Bitsch et al.,2001). Fenolik bileşiklerin; serbest radikal yok edici, antikanserojenik, bağışıklık sistemini düzenleyici, tümör oluşumuna neden olan enzimleri inhibe edici birçok biyokimyasal ve farmakolojik özelliğe sahip olduğu bildirilmektedir (Zhishen et al., 1999).

Limon suyu, askorbik asit içeriği nedeniyle vitamin kaynağı olarak turunçgiller içinde önemli yeri olan ve lezzet verici olarak tüketilen bir meyve suyudur (Asefi ve Artık., 1992). Kış mevsiminin vazgeçilmez meyveleri olan turunçgiller bir C vitamini kaynağı olarak insan beslenmesinde önemli yer almaktadır. Türkiye'nin dış satım ürünleri içinde çok önemli bir yere sahiptir. İç tüketimde limon; salata ve benzeri yiyeceklerde lezzet verici olarak ve limonata şeklinde tüketilmektedir. Bu özelliği nedeniyle limon beslenmede çok önemli yeri olan bir askorbik asit kaynağıdır (Altan ve Fenercioğlu, 1989).

Yukarıda belirtilen antioksidanca zengin olan portakal üzüm, elma ve limon suyunun vücuda alımı sonrasında meydana gelen etkileri belirtilmiştir. Belirtilen etkilerinin yanı sıra antioksidanca zengin turunçgiller kollejenaz enzimini inhibe etmesidir. Kolajen vücutta kollajenaz enzimi tarafından aminoasitlere parçalanmaktadır. Bu durum kolajenin cilt ve bağ doku üzerinde olumlu etkilerinin olmasına engel olmaktadır. Antioksidanlar kollejenaz enzimini inhibe ederek bu etkileşimi önlemektedir (Betty et al.,2001). Bu nedenle kolajen hidrolizati, antioksidanca yüksek meyve suları ile birlikte tüketildiğinde kolajen hidrolizatının vücuda olumlu etkisi artmaktadır

2.9 Meyveli İçecek Üretimi

Meyve suyu ve meyve suyu içeren diğer içeceklerin birbirinden kesin tanımlarla ayrılması çok önemlidir. Bu ayırım esas olarak, doğal meyve suyunun

sulandırılma oranına dayanmaktadır. Meyve suyu, sulandırılmamış, herhangi bir katkı içermeyen ve %100 meyve kaynaklı bir içecek olarak tanımlanmaktadır. Meyve nektarı, doğal meyve suyu veya pulpunun su ile belli bir sınıra kadar seyreltilmesi ile hazırlanan içeceklerdir. Meyve nektarları belli oranlarda meyve kaynaklıdır. Bu oran, meyveye göre değişmek üzere % 25–50 arasında değişmektedir. Meyveli içecek ve aromalı içecek ise meyveye daha uzak olan ürün gruplarıdır. Meyveli içecek en az % 10, aromalı içecek ise % 0-9 arasında meyve içermektedir (Anon, 2012d).

Meyveli içecek; meyve suyu, meyve püresi gibi direkt meyve bileşenlerinden bir veya birkaçını içeren karışıma, su, şeker ve diğer katı bileşenlerin (sitrik asit, askorbik asit vb.) karıştırılması ile üretilen içeceklerdir (Ashurst, 2005). Meyve suyuna işlenen başlıca meyveler; elma, vişne, portakal, şeftali, üzüm, nar ve kayısıdır (Ekşi, 2005).

Meyveli içecek yapımında asit düzenleyici olarak kullanılan diğer bir bileşen sitrik asittir. Türk Gıda Kodeksinin renklendiriciler ve tatlandırıcılar dışındaki gıda katkı maddeleri tebliğine göre gıda maddelerinde genel olarak kullanımına izin verilen gıda katkı maddeleri tablosuna göre E330 kodlu sitrik asit maksimum meyve sularında 3 g/l, nektarlarda ise 5 g/l kullanılabilir (Anon, 2012d).

Fonksiyonel meyveli içecek üretiminde mineral, vitamin, protein gibi maddeler ile zenginleştirme yapıldığı takdirde zenginleştirme yapılan maddenin yetişkin bir bireyin günlük tüketmesi gereken miktar esas alınarak yapılmalıdır. Yetişkin bir bireyin günlük tüketmesi gereken miktar 60 mg olması sebebiyle C vitamini ile zenginleştirme yapıldığı takdirde meyveli içeceklerin raf ömrü süresi bitiminde en az 100 ml'sinde 6 mg C vitamini içerecek şekilde olmalıdır (Anon, 2012d). Ayrıca Türk Gıda Kodeksine göre askorbik asit takviyesi kullanılması durumunda ürünlerdeki C vitamini değeri ürünün raf ömrü bitimine kadar en az günlük C vitamini gereksiniminin % 10'nunu karşılamadır. C vitamininin depolama kayıplarını da dikkate alarak zenginleştirme yapılmalıdır. CSB (Chemical Safety Board)'a göre C vitamini takviyesi ile zenginleştirme yapıldığı takdirde C vitamini miktarı 40 mg/100 g oranını aşmayacak şekilde eklenebilecek askorbik asit miktarı ayarlanmalıdır. Türk Gıda Kodeksinin renklendiriciler ve tatlandırıcılar dışındaki gıda katkı maddeleri tebliğine göre ise gıda maddelerinde E 300 kodlu L-Askorbik asit meyve ve sebze bazlı içecekler, meyve, sebze suları

ve tahıl bazlı olmayan ek gıdalar için en yüksek değer olarak 0,3g/kg askorbik asit cinsinden tek başına veya birlikte kullanımına izin verilmiştir (Anon, 1997).

2.10. Meyveli İçecek Üretimin Uygulanan Pastörizasyon İşlemi

Besinlerin kaliteleri mikrobiyolojik, kimyasal, biyokimyasal ve fiziksel tepkimeler nedeniyle sınırlı bir sürede istenilen düzeyde kalabilmektedir. Dayanıklılık süresini uzatmak için uygulanan işlemlerden biri pastörizasyon işlemidir (Pala, 1987). Meyveli içecek üretiminde dikkate alınması gereken en önemli noktalardan biri meyveli içeceğin pastörizasyon işlemine tabi tutulması için pH değerinin 4.5 değerinin altında olması gerekmektedir. Pastörizasyon, gıda sanayiinde, besin maddelerini hastalık yapıcı mikroorganizmalardan arındırmak amacıyla $pH < 4,5$ düşük ürünlere uygulanan ısıtma yöntemi olarak ifade edilmektedir (Lewis and Heppel, 2000).

Isıl işlemin hedefleri:

- 1- Gıdalarda tüm patojen mikroorganizmaları öldürmek,
- 2- Patojen olmasa dahi, normal depolama koşullarında o gıdada bozulmaya neden olabilecek tüm mikroorganizmaları öldürmek,
- 3- Enzimleri inaktive etmek,
- 4- Bütün bu hedeflere ulaşırken, gıdanın kalitesinde ve beslenme değerinde en az olumsuzluğa neden olmaktır (Cemeroğlu, 2007).

Pastörizasyon işlemi uygulayarak bir taraftan asıl amaç olan mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek (Hersom and Hulland, 1980) diğer taraftan, bu gıdaların kalitelerinin korunabilmesi ve besin değerindeki kayıpların minimum düzeyde tutulabilmesi, teknolojik ve fiziksel sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

Dayanıklı hale getirilen materyal bir gıda olarak kullanılacağından, duyuşal özellikleri ve besin değerlerinin korunması, en az mikrobiyolojik yolla bozulmasının önlenmesi kadar önemli bulunmaktadır. Bu nedenle ısıl yolla muhafazada, ortamdaki mikroorganizmaların tümünün yok edilmesi yoluna gidilmemektedir. Gıda teknolojisinde bu uygulamaya "ticari sterilizasyon", böyle işlem görmüş ürünlere de "ticari steril ürün" denilmektedir (Robertson and Miller, 1984; Cemeroğlu ve Artık, 1990).

Isıl işlem sonucunda ulaşılan letaliteyi yani ölüm değerini belirlemek için ölçüt P_0 değeridir. Bu değerin belirlenmesi iki şekilde yapılabilir.

1. Gıdanın soğuk noktasında bulunan mikroorganizma konsantrasyonuna bağlı olarak belirlenen toplam letalite.
2. Gıda içinde bulunan mikroorganizmanın ortalama ağırlıktaki konsantrasyona bağlı olarak belirlenen toplam letalite (Robertson and Miller, 1984).

Ulaşılması hedeflenen P_0 değeri üç faktör tarafından belirlenir.

- Konserveden beklenen dayanıklılık
- Referans mikroorganizmanın sıcaklığa dayanıklılığı
- Besinin sterilizasyonundan önce içerdiği mikroorganizma sayısı (Pala, 1978).

Meyve suları ve konsantreleri düşük pH değerine sahip olmalarından ötürü sadece pastörizasyon işlemi ile dayanıklı hale getirilmektedir. Isıya dayanıklı pek çok mikroorganizma bulunmaktadır ve buldukları ortamın pH'ı yüksek ise bunların ısı yolla öldürülmesi zordur. Mikroorganizma ölümü yapılarındaki proteinin geri dönüşümsüz olarak bozulması olgusuna dayandığı ve proteinlerin de düşük pH değerinde daha kolay denatüre oldukları bilinmektedir (Şahbaz vd., 1996).

Son yıllarda yapılan araştırmalara göre meyve suyu üretiminde ticari pastörizasyon uygulanması yapılmasına rağmen bozulan meyve sularında ve konsantrelerinde; termoasidofilik, patojen olmayan ve sporlu bir bakteri olan *Alicyclobacillus acidoterrestris* saptanmıştır. *Alicyclobacillus acidoterrestris* toprak orijinli bir bakteridir ve çoğunlukla hasat sırasında topraktan yüzeyine organizma bulaşmış meyvelerin meyve suyu üretiminde kullanılması sonucu veya meyve suyu içerisine ilave edilen sudan ürünlere bulaşmaktadır (Palop et al., 2000).

Bu mikroorganizmalardan *Alicyclobacillus acidoterrestris* termoasidofilik, patojen olmayan, sporlu bir bakteri olup 25-60 °C arasında ve pH 2,5-6,0 aralığında gelişmektedir. Asidik içeceklerden başta elma ve portakal suyunda olmak üzere tat ve koku bozukluğuna neden olan guaiacol, 2,6-dibromophenol, 2-metoksyphenol gibi kötü kokulu bileşikler üretmektedir. Bu nedenle yüksek asitli meyveli içeceklerin pastörizasyonunda önemli bir hedef mikroorganizma olarak değerlendirilmektedir (Doğan, 2000; Silva and Gibbs, 2001; Murakami et al., 1998). *Alicyclobacillus* türleri özellikle meyve suları gibi asidik gıdalarda bozulmalara neden olabilmektedir (Murakami et al., 1998).

Meyve suları ve konsantreleri düşük pH değerine sahip olmalarından ötürü sadece pastörizasyon işlemi ile dayanıklı hale getirildiğini, son yıllarda ticari pastörizasyon uygulanmasına rağmen bozulan meyve sularında ve konsantrelerinde; termoasidofilik, patojen olmayan ve sporlu bir bakteri olan *Alicyclobacillus acidoterrestris* saptandığını bildirmişlerdir. *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporları yapılan pastörizasyon işleminde zarar görmemekte ve daha sonra gelişerek meyve sularında bozulmaya neden olduğunu saptamıştır (Karagözlü, 2003).

Yapılan bir çalışmada ticari sterilizasyon uygulanmış çeşitli meyve sularında canlı asidurik bakteri varlığını saptamak amacıyla marketlerden toplanan 8'i elma, 7'si üzüm, 3'ü kıvılcığa benzer bir meyve (cranberry), 3'ü vişne ve 12'si karışık olmak üzere toplam 33 meyve suyu örneğinden 3 tanesinde *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarına rastlanmıştır. Bir elma örneğinde 25 koloni/300 ml, bir üzüm örneğinde 1 koloni/100 ml ve bir vişne aromalı meyve suyu örneğinde 3 koloni/245 ml miktarında spor bulunmuştur (Splittstoesser et al., 1994).

Askorbik asit, *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının gelişimi üzerinde etkili olduğu kanıtlanmıştır. Miller et al. (2001), yaptığı bir çalışmada elma, üzüm ve portakal sularında yaptıkları araştırmada *Alicyclobacillus acidoterrestris*'in gelişiminde meyve cinsinin yanında oksijen içeriğinin de etkili olduğunu; oksijen bağlayıcı olarak askorbik asit ilavesinin bu organizma tarafından meyve suyunun bozulmasını sınırladığını saptamışlardır.

Silva and Gibbs'in (2010) yaptıkları çalışmada yüksek asitli meyve bazlı gıdaların (nektar, meyve suyu, meyveli içecek, konsantre, reçel, jel vs.) raf ömrü süresi boyunca kalite, duyu ve mikrobiyolojik özellikleri açısından stabil kalması için farklı sıcaklık ve süreler de pastörizasyon işlemi uygulamışlardır. Isı uygulaması ile pektin esteraaz, peroksidaz ve polifenoloksidaz enzim aktivitelerinin azaldığını belirlemişlerdir. Mikroorganizmalar, sporlar ve enzimin inaktif olması için yüksek asitli meyve bazlı gıdalarda düşük sıcaklık uygulaması yeterli olurken, meyve bazlı gıdalarda bozulmaya sebep olan *Alicyclobacillus acidoterrestris*'in düşük sıcaklık uygulandığı takdirde meyve suyu sanayisinde problemler yarattığını bildirilmişlerdir. 80 ile 100 °C derece arasında uygulanan pastörizasyon sıcaklıklarında gıdaların pH ve briks değerlerini baz alarak D ve z değerlerini belirlemişlerdir. Suda çözünür katı madde miktarı mikroorganizmaların ısısal direncine etki eden önemli bir parametredir. Nitekim meyve suyundaki şeker miktarı da sporların ısısal direncine etki etmekte ve şeker

miktarı arttıkça ısısal direnç de artmaktadır (Splittstoesser et al.,1998). *Alicyclobacillus acidoterrestis* sporlarının ısısal dirençleri Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Sıcaklık D değerine etki eden en temel faktördür. D değeri özellikle düşük sıcaklık derecelerinde artan SÇKM ve pH ile önemsiz derecede ve lineer olarak artar. Fakat 97 °C’ye yakın derecelerde SÇKM ve pH’ın etkisi önemli düzeyde değildir. Cevap yüzey yöntemi kullanılarak tahmin edilen D değeri, çoğu kez meyve ürünlerinde saptanandan daha düşük olmaktadır. D değerine pH’nın etkisi ile ilgili olarak değişik fikirler mevcuttur. Bunlardan bir kısmı pH 2.5-6.9 arasındaki değerlerin etkili olmadığı şeklindedir (Yamazaki et al.,1996). Diğer taraftan Pontius et al.,(1998) ise düşük sıcaklık uygulamalarında 2.8-4.0 arasındaki pH değerlerinin D değerine önemli etkisi olduğunu saptamışlardır. Palop et al.,(2000) ise *Alicyclobacillus acidoterrestis*’in D değerinin diğer termofilik mikroorganizmalarla karşılaştırıldığında daha düşük olduğunu, Ddeğerinin 90 °C’de 10 ile 54 dakika arasında, z değerinin ise 6 ile 11 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Pettipher et al., (1997) 44 °C’de 24 saat depolanan portakal suyunda 10^6 koloni/ml düzeyinde *Alicyclobacillus acidoterrestis* sporlarını tespit etmiş; ayrıca elma ve portakal suyundaki 10^5 - 10^6 koloni/ml sayısının duyuşal olarak bozukluğa neden olacak miktarda (ppb) guaiacol üretimi için yeterli olduğunu bildirmişlerdir. Komitopoulou et al., (1999) ise elma, portakal ve greyfurt suyunda 30 °C’de 4 gün depolanan organizma sayısının 10^2 koloni/ml’den 10^5 koloni/ml’ye yükselmesi sonucu kötü kokunun oluştuğunu ve bunun da subjektif olarak saptanabildiğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar ayrıca nisin kullanımının *Alicyclobacillus acidoterrestis* sporlarının D değerinde yaklaşık % 40 azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan araştırmalar konserve üretiminde mikroorganizmaların inaktif olması için 2D ve 3D desimal azalma desteklemektedir (Silva and Gibbs, 2001). Bazı makalalarda ise 6D desimal azalma önerilmektedir (Gaze and Betts, 1992). Po hesabı pastörize edilecek üründe ısıya en dayanıklı mikroorganizmayı hedef olarak hesaplanmaktadır (Silva and Gibbs, 2001). Meyve suyunda ısıya en dirençli mikroorganizma *Alicyclobacillus acidoterrestis* olduğundan dolayı P_0 değeri bu mikroorganizmayı hedef olarak belirlenmiştir.

Çizelge 2.1. *Alicyclobacillus acidoterrestris* Sporlarının D ve z Değerleri.

Ortam	Spor Suşu	pH	SÇKM (Briks)	T (°C)	D± sd (dakika)	z değeri (°C)
Elma Suyu	VF	3,5	11,4	85	56±14	7,7
				90	23±7,5	
				95	2,8±0,7	
				85	57±13	
Üzüm Suyu	AC	3,3	15,8	90	16±4,1	7,2
				95	2,4±0,9	
				88	11	
Portakal Suyu	NR	4,1	5,3	95	5,3	9,5
Meyveli İçecek	NR	3,5	4,8	95	5,2	10,8
Meyve Nektarı	NR	3,5	6,1	95	5,1	9,6
				80	41,2±0,2	
Elma Suyu	Z (CRA 7182)	3,5	NR	90	7,38±0,85	12,2
				95	2,30±0,03	
				80	54,3±0,4	
Greyfurt Suyu	Z	3,4	NR	90	5,95±0,32	11,6
				95	1,85±0,05	
Portakal Suyu	Z	3,9	NR	90	10,3±0,3	12,9
				95	3,59±0,04	
				80	37,9±0,2	
Portakal Suyu	Type	3,5	11,7	85	65,6±5,5	7,8
				91	11,9±0,6	

ÇKM: Çözünür katı madde, T: Sıcaklık, NR: Belirtilmemiş, SD: Standart sapma,

SE: Standart hata, z: Sterilizasyon Normu (Silva and Gibbs, 2001).

P_0 , belirli bir pastörizasyon değerine (belirli bir desimal azalma sayısına) ulaşmak için, belirli bir (T) sıcaklığında ısıtma süresini ifade eder. P_0 değeri D ve SN değerlerinin çarpımı ile ifade edilmiştir. Belirli bir mikroorganizmanın sabit bir sıcaklık derecesinde % 90'nın ölmesi için geçen süreye o mikroorganizmanın D değeri denir. (Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001; Şahbaz et al.,1996). SN değeri ise hedef alınan desimal azalma sayısı veya diğer ifadeyle ‘sterilizasyon normu’ olarak tanımlanabilmektedir.

Pastörizasyon değerinin hesaplanması

Belli bir ortamda, belli bir sayıdaki bir mikroorganizmanın belli bir sıcaklıkta ölmesi için geçen süreyi ifade eden pastörizasyon etkinliğini P değeri ifade eder (Cemeroğlu ve Acar, 1986). P değeri hesaplaması ile mikrobiyal aktiviteyi inaktive etmek için gerekli olan minimum pastörizasyon sıcaklık değeri saptanır. Bu uygulama ile depolama süresi boyunca pastörize edilmiş ürünlerde kalite kaybı minimize edilir. P değeri hesaplaması için *Alicyclobacillus acidoterrestis* sporları hedef alınarak z ve referans sıcaklık değeri belirlenmelidir. z değeri termal ölüm süresi eğrisinin bir logaritmik çevrimi aşması için gerekli sıcaklık değişimini (Xezones and Hutchings, 1965), T değeri ise kavanoz içi soğuk nokta (°C) sıcaklığını ifade etmektedir.

Pastörizasyon etkinliğini belirlemek için P değeri Eşitlik 3.1'deki gibidir.

Eşitlik 3.1. P Değerinin Hesaplanması

$$P = \int_0^t 10^{\frac{T - T_{ref}}{Z}} dt$$

Pastörizasyon işlemi sırasında belirlenen pastörizasyon parametrelerinin (sıcaklık, süre) saptanması için pastörizasyon sonrası meyveli içeceklerde inkübasyon testi uygulanmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriter 2009/06 nolu tebliğine göre asitli gıdalar 30 °C'de 10 gün süre ile inkübasyona tabi tutulmalıdır. İnkübasyon sonrası; sızıntı ve bombaj görülmeyen, renkte ve kokuda orijinale göre değişiklik göstermeyen ve inkübasyon öncesi ve sonrasında ölçülen pH değerleri arasındaki farkın 0,5'ten fazla olmaması gerekmektedir.

Isıl işlem süresi üzerinde ise kavanoz boyutları, kutu için başlangıç sıcaklığı, ürünün ağırlığı ve kutu içine gıdanın yerleştirilme şekli etkili faktörler olarak sayılabilir. Isıl işlem uygulaması ile ürünün vitamin içeriğinde (B vitamini

kompleksi, folik ve askorbik asit vb.) kayıplar meydana gelmektedir (O'Brien and Robertson, 1993).

Gıda sektöründe, doğal içerikli ürünlere olan eğilim büyük bir artış göstermektedir. Artan taleple birlikte tüketimleri hızla artan meyveli içeceklerin kararlılıklarının doğal ekstratlar ile sağlanması, hem sağlık açısından yapay bileşenlerin yaratabileceği riskleri ortadan kaldırmakta hem de bu bileşikler doğal fenolik maddelerin kaybına neden olan oksidasyona karşı dayanıklı olduğundan ürünün raf ömrünün artmasını sağlayıcı etki göstermektedir. Ürünün raf ömrünün artması pastörizasyon işlemi ile sağlanabilmektedir. Pastörizasyon sırasında uygulanan ısı işlem parametreleri meyveli içeceğin kalitesini etkileyen duyu faktörleri (renk, görünüş, tat, lezzet, koku, kıvam ve tekstür) minimize edecek şekilde olmalıdır. (Ashurst, 2005).

2.11. Meyveli içeceklerin zenginleştirme amaçlı kullanımı

Gıdalarda besin değerinin artırılması uygulamaları zenginleştirme, güçlendirme ve yerine koymak olmak üzere üç yolla yapılabilmektedir. Zenginleştirme gıdanın yapısında doğal olarak bulunan veya bulunmayan, bir veya birden fazla elzem besin ögesinin, toplumda veya özel bir risk grubunda bir veya birkaç besin ögesinin yetersizliğinin düzeltilmesi veya önlenmesi amacıyla yapılmaktadır (Karagözlü vd., 2000). Zenginleştirme işleminin başlıca amacı bireyin beslenmesine katkıda bulunması ve sağlığının korunması ve daha iyi duruma getirilmesine yardımcı olmasıdır. Meyveli içeceklerin diğer ürün gruplarına göre renk, görünüş, tat, lezzet, koku, kıvam ve dokugibi özellikleri dengelemek için uygun bir ürün grubu olması ve yıllık tüketim miktarının da diğer gruplara göre oldukça yüksek olması meyveli içeceğin zenginleştirme amaçlı kullanılması sebeplerindedir (Scrinis, 2008). Ayrıca zenginleştirme amaçlı kullanılan vitamin, mineral gibi bileşenlerin uygun şekilde ürünle karıştırılabilmesi, teknolojik olarak üretim kolaylığı, meyve suyu içerisinde doğal olarak bulunan bileşenlerin zenginleştirme sırasında kullanılan maddelerin biyoyararlılığını artıracak etkilere sahip olabilmesi de meyve suyu içerikli fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde önemli birer etken olarak karşımıza çıkmaktadır.

İçecek sektöründe zenginleştirme amaçlı çoğunlukla mikro besin maddeleri, vitaminler, diyet lifleri, mineraller, fonksiyonel bileşenler ve karotenoid dediğimiz

pigmentler kullanılmaktadır. Bu bileşenler tek tek veya kombine şekilde kullanılabilir (Scrinis, 2008).

Meyve suyu ve meyveli içecek sekt6r6nde mevcut olan fonksiyonel gıdalar; kemiklerin gelişimini desteklemek amacıyla kalsiyum katkılı meyve suları, yüksek performans sağlamak, sıvı ve elektrolit kaybını kompanse edebilen enerji ve spor içecekleri (G6ke ve 6zel, 2006), antioksidan etkiyi artıran ve folik asit ihtiyacını karşılayan karışık meyve suları, vitamince zenginleştirilmiş alkolsüz içecekler, prebiyotik lifler içeren elma/kayısı/havuç/ananas meyvelerinin karışımından oluşan meyveli içecek, bağışıklık sistemini güçlendirmesi amacıyla C vitamini ile zenginleştirilmiş meyveli içecek, kolesterol ve kan basıncını düşürmek için bitki sterolleri, potasyum ve diyet lifi (keten tohumu) ile zenginleştirilmiş içeceklerdir (Vaskonen, 2002).

3.MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Meyve suları

Ürün formülasyonu oluşturulmasında portakal ve elma suyu (Dimes Anonim Şirketi), üzüm suyu (Kavaklıdere Anonim Şirketi) ve limon suyu (Doğanay Gıda Limited Şirketi) kullanılmıştır. Meyve suları kutular açılmadan 25 ± 1 °C’de ortam sıcaklığında depolanmıştır.

3.1.2. Kolajen hidrolizat

Peptan marka 2000 Da molekül ağırlıklı balık kaynaklı kolajen hidrolizatı, Rousselot Gelatin Limited Şirketi (Belçika, Ghent) tarafından tedarik edilmiştir.

3.1.3. Askorbik asit

Meyveli içecek üretiminde kullanılan % 99 saflıkta askorbik asit, Applichem firmasından temin edilmiştir.

3. 1.4. Sitrik asit

Meyveli içeceklerde asit düzenleyici olarak sitrik asit Merck firmasından temin edilmiştir.

3.1.5. Doğal nane aroması

Doğal nane aroması, Gebze’de üretim yapan Aromsa Anonim Şirketinden tedarik edilmiştir.

3.1.6. Toz şeker

Yerel bir marketten toz şeker tedarik edilmiştir.

3.1.7. Cam kavanoz ve kavanoz kapağı

Ambalaj malzemesi olarak kullanılan cam kavanoz Miraç Cam Pazarlama Ltd. Şti.’den temin edilmiştir. Kavanoz boyutları 90,7 mm yükseklik, $60,5\pm 0,5$ mm ağız iç çapı, 100 ± 1 gram ağırlık ve 190 ± 5 cm³ dolun hacmi olarak ölçülmüştür.

3.2. Kimyasal maddeler

Çalışmada, sülfürik asit (Merck 100731), trans 4 hidroksprolin (Sigma-Aldrich 32318), 4-dimetilaminobenzaldehit (Merck 803057), % 65’lik perklorik

asit (Merck 100518), kloramin T (Sigma-Aldrich 857319), sitrik asit monohidrat (Merck, 100244), sodyum hidroksit (Merck 106462), sodyum asetat trihidrat (Sigma-Aldrich 32318), 1- propanol (Sigma 402893), metafosforik asit (Merck 100546), asetik asit (Merck 100056), askorbik asit (Sigma A5660), 2,6 dichloroindophenol (Merck103028), sodyum bikarbonat (Sigma S6014), ABTS radikali (Sigma 11557), troloks (Sigma 238813), dipotasyum hidrojen fosfat (Merck 105104), potasyum dihidrojen fosfat (Merck 104873), potasyum persülfat (Sigma-Aldrich 379824), metanol (Carlo Erba20583-U)ethanol (Merck 100983), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazine (Fluka D9132), pankreatin (Sigma P1750), safra ekstraktı (Sigma B8631),sodyum bikarbonat (Sigma S6014), pepsin (Sigma P7000), hidroklorik asit (Merck 100317), folin ciocalteu's fenol ayıracağı (Sigma F9252), gallik asit (Sigma 398225), sodyum karbonat (Carlo Erba CE 367707), Çinko asetat dihidrat (Carlo Erba 5970-45-6), potasyum ferrosiyaniür trihidrat (Merck 104982), bakır 2 sülfat (Merck 102787), potasyum sodyum tartarat (Merck 108087), metilen mavisi (Merck 159270), sakkaroz (Merck 107651), Coomassie mavisi (Merck 112583), % 85'lik fosforik asit (Merck 100573), Bovine serum albümin (Sigma A-7906-98-99) kullanılmıştır.

3.3. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Analizlerde Kern marka 0,0001 gram hassasiyette terazi, Termal marka çalkalamalı su banyosu, Pop Optizen marka spektrofotometre, Ertich marka etüv, Hanna (HI991001N) marka pH metre, Hanna marka dijital refraktometre, Dragon marka manyetik karıştırıcı, Lac Colorflex renk ölçüm cihazı, Sigma marka diyaliz tüpü (Sigma D9777) ve meyveli içeceklerin karıştırılması sırasında ise IKA T 18 model ultra-turrax parçalayıcı kullanılmıştır.

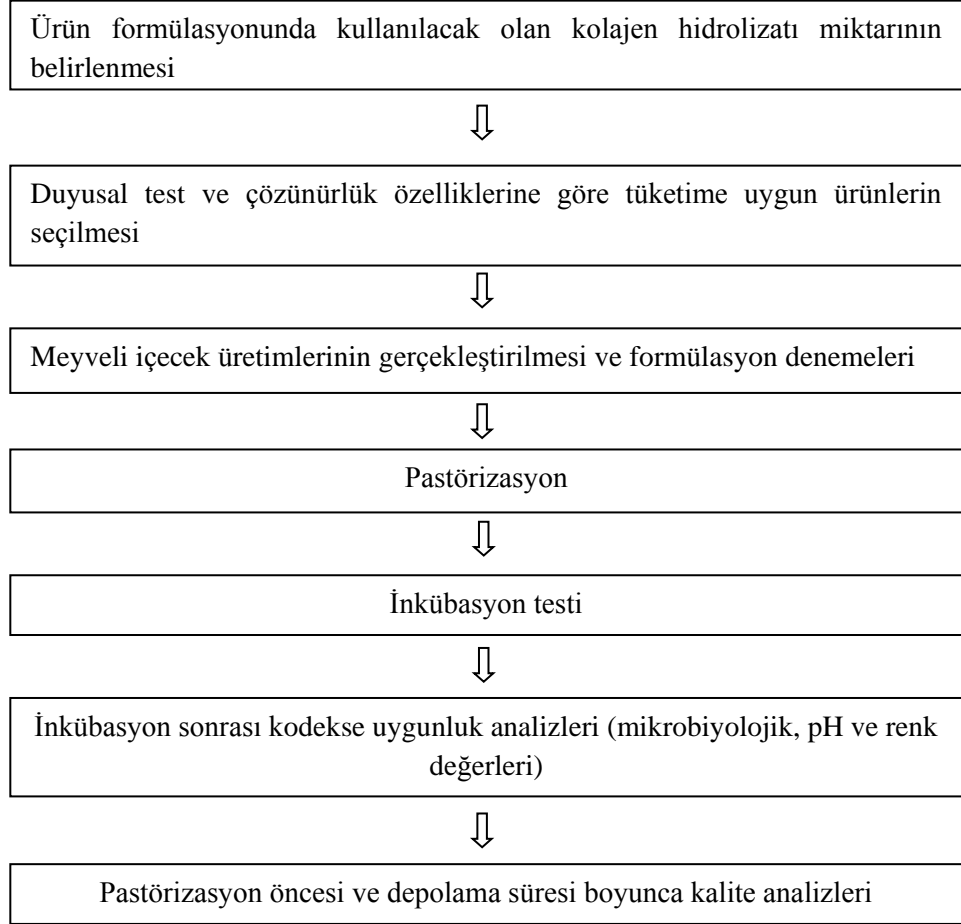
3.4. Metot

Tez çalışmasında her bir ürün formülasyonunun üretimi 2 tekrar, analizler ise 4 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. Araştırma planı

Meyveli içecek ürün formülasyonlarının geliştirilmesi, meyveli içeceklerin üretimi ve pastörizasyonu Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü pilot tesisinde gerçekleştirilmiştir. Duyusal ve kimyasal analizler sonucunda elde edilen formülasyonların oluşturulması sonrasında meyveli içecekler cam kavanozlara dolun yapılarak pastörize edilmiştir. Pastörizasyon öncesi ve sonrasında ise meyveli içeceklere mikrobiyolojik ve kalite analizleri uygulanmıştır. Ürünler pastörizasyon işlemi sonrasında

25±1 °C’de 10 hafta süresince depolanmıştır. Bu süre içerisinde 2 haftalık periyotlar halinde ürünlere kalite analizleri uygulanmıştır. Formülasyon geliştirme aşaması, pastörizasyon işlemi öncesi ve sonrasında uygulanan analizler Ek. 11’de, projeye ait araştırma planı Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırma Planı

3.4.2. Formülasyon geliştirme

Tez çalışmasında protein hidrolizatlarınca zengin, doğal aroma, C vitamini ve doğal meyve suyu içeren, meyveli bir içecek geliştirilmesi amacıyla, % 100 meyve sularından portakal, üzüm, limon ve elma suyu ile çalışılmıştır. Bu meyve sularından, şeker eklenmiş portakallı içecek, şekersiz portakallı içecek, portakal üzümlü içecek, limonlu içecek, limon üzümlü içecek, elmalı içecek ve elma üzümlü meyveli içecek olmak üzere 7 farklı ürün formülasyonu geliştirilmiştir.

3.4.2.1 Bileşenler için konsantrasyon aralığının belirlenmesi

Üretimde kullanılacak olan kolajen hidrolizat konsantrasyonu %1-10 aralığında olacak şekilde farklı formülasyonlar hazırlanmıştır. Kolajen

hidrolizatının konsantrasyon aralığı duyuusal analiz sonuçları ve çözünürlük değerlerine göre belirlenmiştir.

3.4.2.2 Kolajen hidrolizatının molekül ağırlığı ve orjininin seçimi

Kolajen hidrolizatının molekül ağırlığı 2000-5000 Da aralığında değişmektedir. Molekül ağırlıklarına göre gıda ürünlerindeki kullanım alanları değişmektedir. İçecekler için kullanımı önerilen kolajen hidrolizati, 2000 Da molekül ağırlığına sahiptir (Moskowitz, 2000). Bu nedenle ürün formülasyonu geliştirme aşamasında balıktan elde edilmiş (2000 Da molekül ağırlıklı) kolajen hidrolizati kullanılmıştır.

3.4.2.3 pH değerinin ayarlanması ve sitrik asit ilavesi

Türk Gıda Kodeksinin meyve suyu ve benzeri ürünler tebliğine göre belirlenmiş olan standartlar doğrultusunda meyveli içeceklere belirlenen yüzde oranında sitrik asit ilave edilmiştir. Sitrik asit ilavesi sonucunda meyveli içeceklerin pH değerleri ölçülerek, meyveli içecek formülasyonlarının sitrik asit konsantrasyonları belirlenmiştir. Meyveli içecekler pastörizasyon işlemine tabi tutulacağından dolayı sitrik asit ilavesi ile meyveli içeceklerin pH değerleri pH 4,5 değerinin altına düşürülmüştür.

3.4.2.4 Briks değerinin ayarlanması

Meyvelerde brik değerine göre hasat dönemi belirlenmektedir. Tadın dengeli olması durumu briks/asit oranı ile ifade edildiğinden (Altan, 1995) dolayı literatürlerden alınan verilere göre her bir meyveli içecek formülasyonu için nihai briks değeri belirlenmiştir. Meyveli içeceklere ilave edilecek olan şeker, su ve meyve bileşim oranları nihai briks değerleri esas alınarak kuru madde denklikleri kurularak belirlenmiştir.

3.4.2.5. Askorbik asit miktarı

Türk Gıda Kodeksinin renklendiriciler ve tatlandırıcılar dışındaki gıda katkı maddeleri tebliğine göre belirlenmiş olan limit, yetişkin bir bireyin günlük tüketmesi gereken miktar (60 mg) ve depolama süresi boyunca meydana gelecek kayıplar göz önünde bulundurularak her bir ürün için başlangıç olarak % 0,1 askorbik asit ilavesi yapılmıştır.

Depolama süresi boyunca pastörizasyon sonrası elde edilen meyveli içeceklerin askorbik asit kayıpları incelenmiştir.

3.4.2.6 Doğal nane aroması kullanımı

Meyveli içecek üretiminde kullanılan balık kaynaklı üretilmiş olan kolajen hidrolizattan kaynaklı balık kokusunu maskeleymesi ve lezzet arttırıcı özelliğinden dolayı doğal nane aroması kullanılmıştır. Fonksiyonel içeceklerde önerilen doğal nane aroması miktarı 0,3-0,5 g/kg arasında değişmektedir (Aromsa, 2012). Balık kokusunu maskeleyecek oranda kullanılacak olan meyveli içeceklerin doğal nane aroması miktarı belirlenmiştir. Elma ve elma üzümlü içeceklerde doğal nane aroması kullanılmıştır.

3.4.3. Meyveli içecek formülasyonları ve üretimlerin gerçekleştirilmesi

Kütle denkliği hesaplamalarına göre ticari marketlerden temin edilen % 100 doğal meyve sularından uygun koşullarda meyveli içecek üretimi elde etmek için gerekli olan yüzde bileşimler (su, meyve suyu konsantresi, şeker, sitrik asit vs.) hesaplanmıştır. Hesaplanan yüzde bileşimlerine göre briks, pH, briks/asit, çözünürlük ile fiziksel yapı, koku, tat, kıvam gibi duyuşal özellikler değerlendirilerek meyveli içecek formülasyonları belirlenmiştir. Belirlenen formülasyonlara ilişkin bileşenler ultra-turrax kullanılarak 1800 rpm'de 10 dakika süre ile karıştırılmış ve homojen bir dağılım sağlanmıştır. Homojenize edilen meyveli içecekler 60 °C'ye ulaştıktan sonra 190 cc hacme sahip cam kavanozlara dolumu yapılmıştır. Dolumu gerçekleştirilmiş meyveli içecekler pastörizasyona tabi tutulmuştur.

3.4.4. Sıcaklık ölçümleri ve pastörizasyon kriteri olarak toplam Po değerinin hesaplanması

Meyve suyu ürünlerinde hedef mikroorganizma olan *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının ısısız direnç verileri baz alınarak pastörizasyon değeri hesaplanmıştır. Literatürde Meyve suyu bozulma etmeni olan *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporları için hedef alınan desimal azalma sayısı (sterilizasyon normu) 2D veya 3D olarak önerilmektedir (Silva and Gibbs, 2001). Tez çalışmasında ise P₀ değeri için 3 desimallık azalma hedef alınarak, belirlenmiştir. P₀ değeri Eşitlik 3.1'deki gibi hesaplanmıştır (Silva and Gibbs, 2001).

Eşitlik 3.1. P_0 değerinin hesaplanması.

$$P_0 = D \times SN$$

P_0 : Belirli bir pastörizasyon değerine (belirli bir desimal azalma sayısına) ulaşmak için, belirli bir (T) sıcaklığında ısıtma süresini ifade eder.

D: Belirli bir mikroorganizmanın sabit bir sıcaklık derecesinde % 90'nın ölmesi için geçen süreye o mikroorganizmanın D değeri denir.

SN: Hedef alınan desimal azalma sayısı veya diğer ifadeyle 'sterilizasyon normu' olarak tanımlanabilmektedir (Cemeroğlu ve Karadeniz, 1985; Şahbaz ve ark., 1996).

Çizelge 2.1'de belirtilen çeşitli meyve ürünlerindeki Alicyclobacillus acidoterrestris sporlarının ısıl direnç değerleri baz alınarak her bir ürün grubu için P_0 değeri hesaplanmıştır. Belirlenen P_0 değerine göre ön üretim denemeleri yapılarak her bir ürün grubu için pastörizasyon sıcaklık ve süreleri belirlenmiştir. Uygulanan pastörizasyon işleminin etkinliği inkübasyon testi ile doğrulanmıştır. Pastörizasyon değeri (P_0) hesaplamalarında esas alınan T_{ref} , D ve z değerleri Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Pastörizasyon Değeri (P_0) ve P Denemelerinde Kullanılan Parametreler.

Meyve Suyu Türü	Tref (°C)	D Değeri	z Değeri	Ulaşılması Hedeflenen P_0 Değeri	Referans
Portakal Suyu	80	54,3	9,5	<u>162,9</u>	Komitopoulou et al., (1999)
Portakal-Üzüm Suyu	80	54,3	9,5	<u>162,9</u>	Komitopoulou et al., (1999)
Elma Suyu	80	41,15	12,2	<u>123,450</u>	Komitopoulou et al., (1999)
Elma-Üzüm Suyu	90	11,10	8,50	<u>33,30</u>	Bahçeci ve Acar. (2007)
Limon Suyu	86	11,23	7,2	<u>33,69</u>	Maldonado et al., (2008)
Limon-Üzüm Suyu	86	11,23	7,2	<u>33,69</u>	Maldonado et al., (2008)

Denemeler sırasında kavanoz ve ortam sıcaklıkları, bakır konstantan (Cu-CuNi) ısıleşleri ile ölçülerek, sıcaklığa bağlı olarak P değeri 1 dakikalık zaman aralığında ‘‘Ellab CTF 84 Model Digital Thermometer’’ marka sıcaklık ölçer ile kaydedilmiştir.

Gıdanın en geç ısınan noktası soğuk nokta olarak adlandırılmaktadır (Cemeroğlu ve Acar, 1986). Bu sebeple ısıleşler kavanoza dolumu yapılmış meyveli içecek örneklerinin soğuk noktalarına gelecek şekilde adaptörler yardımıyla kapağa yerleştirmiştir. Isıleşler yardımıyla süreye bağlı olarak sıcaklık değerleri kaydedilmiştir. Meyveli içecek örneklerinde soğuk noktanın yeri, kavanozun tepe noktasından tabana doğru 5; 5,5; 6 cm uzunluğundaki ısıleşler kullanılarak deneysel olarak belirlenmiş, 5,5 cm’lik ısıleş ile ölçülen sıcaklığın diğerlerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Daha sonra gerçekleştirilen üretimlerde, ısıleşler belirlenen soğuk noktaya yerleştirilerek meyveli içecek örneklerinin sıcaklık değişimleri kaydedilmiştir. Meyveli içecek örneklerine ait ısınma ve soğuma eğrileri soğuk nokta sıcaklıklarına göre çizilmiştir.

Duyusal testler sonucunda belirlenen 4 meyveli içecek için 2 ayrı üretim yapılmış olup toplamda 8 adet üretim gerçekleşmiştir. Ege niversitesi, pilot tesisinde hazırlanan meyveli içecekler her bir üretim için 26 adet kavanoz (190 cc) retilecek şekilde hazırlanmıştır. Sıcak dolum yapılmış olan meyveli içecekler, açık kazanda buhar kullanılarak ısıl işleme tabi tutulup belirlenen sıcaklık ve sürede pastörize edilmiştir. Pastörizasyon işlemi sırasında meyveli içecekler açık kazana yerleştirilerek 60 C'ye kadar ön ısıtma yapılmıştır. retimler sırasında kazanın her noktasında sıcaklık dağılımı olduğu deneysel olarak belirlenmiştir. 60 C sıcaklığa erişmiş meyveli içecekler kavanozların tepe boşluğuna kadar dolum yapılarak kapatılmıştır. Pastörizasyon işlemi sırasında meyveli içeceklerin soğuk nokta sıcaklığını ölçmek için ısıleşler 2 ayrı kavanoz içine yerleştirilmiştir. Üretim sırasında ürün sıcaklığı ısıleşlere bağlı kavanozlardan, ortam sıcaklığı ise ısıleş bağlı kavanozların bulunduğu yerden ölçmüştür. ısıleşe bağlı olan kavanozlardan her dakikada bir llen sıcaklık değerine bağlı olarak P değeri hesaplanmıştır. Sıcaklık artışları ile hesaplanan P değeri, P₀ değerine ulaştıktan sonra soğutma işlemine geçilmiştir. Meyveli içeceklerin soğuk nokta sıcaklıkları 40 C'nin altına düştüğü anda pastörizasyon işlemi bitirilmiştir. Pastörize edilmiş meyveli içeceklerin depolama süresi boyunca askorbik asit kayıplarını minimize etmek amacıyla cam kavanozlar alüminyum folyo ile sarılmıştır. Pastörizasyon ncesi ve sonrası 10 haftalık depolama süresi boyunca mikrobiyal yük, kimyasal değişimler ve besinsel kayıplar incelenmiştir.

3.4.5. Pastörize edilmiş meyveli içeceklerde uygulanan analiz metotları

Araştırmada retimi yapılan meyveli içeceklerin pastörizasyon öncesi ve pastörizasyon sonrası 10 haftalık depolama süresi boyunca meyveli içeceklerde kolajen miktarı, askorbik asit miktarı, antioksidan (ABTS, DPPH) kapasitesi ölümü, in vitro biyoyararlılık, fenolik bileşik miktarı, şeker miktarı, protein miktarı, renk tayini, suda çözünür katı madde miktarı ve pH değerleri llerek değişim olup olmadığı belirlenmiştir.

3.4.5.1 Kolajen tayini

Homojen olarak karıştırılmış meyveli içeceklerde kolajen tayini AOAC metot 990.26'ya göre yapılmıştır (AOAC, 2006). Meyveli içecek örneklerinden 4 g tartılmıştır. Tartılan numunelerin üzerine 30 ml 3,5 M'lık sülfürik asit (H₂SO₄) ilave edilmiş, 105 C'de 12 saat boyunca etüvde yakma işlemi yapılmıştır. Yakma işlemi uygulanan numuneler 500 ml'lik balon jojeye aktarılıp, saf su ile hacmi tamamlanmıştır. 110 mm'lik beyaz filtre kağıdı ile süzme işlemi yapılmıştır. Elde edilen filtrat 15 gün süre ile 4 C'de buzdolabında saklanmıştır.

Kolajen konsantrasyonunun belirlenmesi için trans-4-hidroksiprolin standartının kalibrasyon grafiği çizilmiştir. 60 µg/ml konsantrasyonda trans 4 hidroksiprolin çözeltisi hazırlanmıştır. Renk ayıracı 10 g dimetilaminobenzaldehit 35 ml % 65'lik perklorik asit için çözündürülerek günlük hazırlanmıştır. 1,41 g kloramin T tartılıp, 100 ml'ye buffer çözeltisiyle tamamlanarak oksidant çözeltisi olarak kullanılmıştır. Oksidant çözeltisi 4 °C'de iki hafta süre ile koyu renkli bir şişede saklanmıştır. Buffer çözeltisi 30 g sitrik asit monohidrat, 15 g sodyum hidroksit ve 90 g sodyum asetat trihidrat 500 ml saf su da çözündürülüp, 290 ml 1- propanol ilave edilerek hazırlanmıştır. Elde edilen buffer çözeltisinin pH değeri 6'ya ayarlanıp, 1 lt'ye tamamlanmıştır.

Hazırlanan hidroksiprolin standart çözeltisinden 10, 20, 30 ve 40 ml berrak filtrelerden % 6'lık çözeltiler hazırlanmıştır. Standart konsantrasyonlardan ve berrak filtratlardan 2 ml tüpe konulmuştur. Tüplerin her birine 1 ml oksidant çözeltisinden ilave edilmiş, 30 dakika süre ile çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Çalkalayıcıdan alınan tüplerin her birine 2 ml renk ayıracı ilave edilip, 60 °C sıcaklık değerine ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda 15 dakika süre ile çalkalanmıştır. Çalkalamalı su banyosundan alınan tüpler musluk suyu altında oda sıcaklığına gelene kadar soğutulmuştur. Standart ve filtratlar 558 nm'ye karşı Pop Optizen marka spektrofotometre cihazı ile absorbans değerleri okunmuştur. µg/2 ml konsantrasyona karşı absorbans değerleri esas alınarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Meyveli içeceklerde kolajen miktarı Eşitlik 3.2'deki gibi hesaplanmıştır (AOAC, 2006).

Eşitlik 3.2. Kolajen Miktarının Hesaplaması.

$$\% \text{Hidroksiprolin} = \frac{Y * 2,5}{W * V}$$

Y: Kalibrasyon grafiğinde elde edilen µg/2 ml'deki hidroksiprolin konsantrasyonu

W: Örnek ağırlığı

V: 100 ml'de seyreltme yapılan hacim (ml)

Kolajen miktarı (mg/100 ml)= % Hidroksiprolin x 8

3.4.5.2 Askorbik asit tayini

Homojen olarak karıştırılmış meyveli içeceklerde askorbik asit tayini kolajen tayini AOAC Metot 967.21'e göre titrimetrik yöntem uygulanarak

belirlenmiştir (AOAC, 2006). Bu yöntemin uygulanmasında; ekstraksiyon çözeltisi olarak metafosforik-asetik asit çözeltisi, standardizasyon için askorbik asit çözeltisi, renk çözeltisi olarak indofenol standart çözeltisi kullanılmıştır. 15 g metafosforik asit ve 40 ml asetik asit 500 ml'ye saf su ile tamamlanarak metafosforik-asetik asit çözeltisi hazırlanmıştır. 50 mg askorbik asit 50 ml'ye metafosforik asetik asit çözeltisi ile tamamlanarak standart askorbik asit çözeltisi elde edilmiştir. Renk çözeltisi hazırlama aşamasında 50 mg 2,6 dikloroindofenol ve 42 mg sodyum bikarbonat saf suda eriterek 200 ml'ye tamamlanmıştır.

Erlene koyulan 5 ml metafosforik asetik asit çözeltisi ve 2 ml asetik asit çözeltisi, renk çözeltisi ile titre edilmiştir. Açık pembe renk dönüşümü görüldüğü anda titrasyon işlemi sonlandırılmıştır. Titrasyon işlemi ile askorbik asit standardının sayfiyat değeri hesaplanmıştır. Elde edilen sayfiyat hacmi 14-16 ml arasında olmalı, paraleller arası sayfiyat hacimleri arasındaki fark 0,1 ml olmalıdır. Ortalaması alınan sayfiyat değeri kadar saf su ve 7 ml metafosforik-asetik asit çözeltisi, renk çözeltisi ile titre edilerek kör değeri hesaplanmıştır. Meyveli içecek örneklerinden 2 ml ve 5 ml metafosforik asetik asit çözeltisi, renk çözeltisi ile titre edilmiştir. Her aşamada titrasyon işlemi 3 defa tekrarlanmıştır. Askorbik asit miktarı değeri Eşitlik 3.3'deki gibi hesaplanmıştır.

Eşitlik 3.3. Askorbik asit miktarının hesaplanması.

$$\text{Askorbikasit} \left(\frac{mg}{ml} \right) = (X - B) \times \left(\frac{F}{E} \right) \times \left(\frac{V}{Y} \right)$$

X= Titre edilmiş örneklerin ortalaması (ml)

B= Boya çözeltisinin standartının sayfiyatı

A= Askorbik asit standartının sayfiyatı

F= 1ml indofenol standart çözeltisinin mg askorbik asit eş değeri

E= Titrasyonda kullanılan örnek hacmi (2 ml)

V= Analiz edilecek çözeltinin toplam hacmi (7 ml)

Y= Örneklerin titrasyon işleminde kullanılan toplam hacim (7 ml)

Faktör değeri aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir.

$$F = \frac{\text{Titrasyonda kullanılan askorbik asit standart çözeltisinin hacmi}}{A - B}$$

3.4.5.3 Antioksidan kapasitesi ölçümü

3.4.5.3.1. ABTS yöntemi

Mavi/Yeşil renkli ABTS radikali, 600-750 nm dalga boyunda kuvvetli bir absorpsiyon vermekte ve spektrofotometrede kolaylıkla belirlenebilmektedir. ABTS radikali, antioksidant bir bileşikle reaksiyona girdiğinde radikal, ABTS'nin renksiz formuna çevrilmektedir. Reaksiyon sonucu harcanan ABTS miktarı ise troloks (sentetik bir antioksidant) eşdeğeri olarak hesaplanmakta ve sonuç "TEAC değeri" (Trolox equivalent antioxidant capacity) olarak ifade edilmektedir.

7,14 g dipotasyum hidrojen fosfat (K_2PO_4) ile 1,23 g potasyum dihidrojen fosfat saf suda çözündürülerek 1lt'ye tamamlanarak PBS çözeltisi (tuzlu fosfat tamponu) hazırlanmıştır. Potasyum persülfat çözeltisi, 0,378 g potasyum persülfatın PBS çözeltisi ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. 96,25 mg ABTS damıtık su içinde çözündürülerek 10 ml'lik bir ölçü balona aktarılıp, 2,5 ml PBS çözeltisi eklenerek saf su ile tamamlanarak 2.45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM'lık ABTS radikal çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda en az 12-16 saat bekletilerek ABTS radikal çözeltisinin oluşması sağlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan radikal çözeltisi 2-3 gün stabil kalmaktadır. Standart eğri troloks çözeltisi ile oluşturulmuştur. 32 mg troloks tartılıp, az miktarda (2 ml) metanol ilave edilmiş ve PBS çözeltisi ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Troloks stok çözeltisinin konsantrasyon aralığı 0,05 mM, 0,1 mM, 0,15 mM, 0,2 mM, 0,25 mM, 0,3 mM, 0,35 Mm olacak şekilde PBS ile seyreltilmiştir. Burada son konsantrasyondan kasıt, mikro küvet içerisinde bulunan 2 ml radikal çözeltisi içerisine 100 µl troloks standardı eklendiğinde mikro küvet içerisinde oluşan troloks konsantrasyonudur.

Analize başlamadan önce radikal çözeltisi, PBS çözeltisi ile 734 nm'de $0,700 \pm 0,02$ absorbans verecek şekilde seyreltilmiştir. Troloks standart çözeltilerinin her birinden 100 µl alınıp, 2 ml absorbans değeri ayarlı ABTS stok çözeltisi üzerine eklenmiştir. Elde edilen karışım 734 nm'de Pop Optizen marka spektrofometre kullanılarak 6 dakika boyunca 1'er dakika arayla absorbans değerleri kaydedilmiştir. 7 farklı konsantrasyona ait inhibisyon değerleri hesaplanıp, standart eğri çizilmiştir.

Örnek hacmi değiştirilerek (25, 50, 75 µl), 2 ml ABTS stok çözeltisine eklenip, aynı işlemler tekrarlanmıştır. Eğer örnekte, antioksidant aktiviteye sahip bileşikler varsa, radikal çözeltisinin rengi gittikçe açılacak ve okunan absorbans değeri zamana bağlı olarak gittikçe düşecektir. 6 dakika süre sonunda saptanmış ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek hacimlerine karşı bir grafiğe aktarılıp linear regrasyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır.

Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, standart eğrinin eğimine oranlanıp, seyreltme oranı ile çarpılarak örneğin TEAC değeri hesaplanmıştır.

3.4.5.3.2. DPPH yöntemi

Mor renkli stabil bir bileşik olan DPPH radikalinin, test bileşiği ile reaksiyonundan sonra indirgenmesi sonucu, renkte meydana gelen azalmanın spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda ölçülmesine dayanmaktadır.

1 mM DPPH radikal çözeltisi hazırlanmıştır. 100 ml'lik bir çözelti hazırlamak için 0,03943 g DPPH bir miktar metanol içinde çözündürülerek kayıpsız şekilde 100 ml'lik bir ölçü balonuna aktarılıp metanol ile balon hacmine tamamlanmıştır. Bu çözelti, her gün taze olarak hazırlanmış ve gün içinde ölçüm yapılmadığı anlarda alüminyum folyoya sarılı bir şekilde, karanlık bir ortamda ve +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Meyveli içecek örneklerini 1/5 oranında metanol ile seyreltme yapıldıktan sonra analiz edilmiştir. Test tüplerinin her birine DPPH radikal çözeltisinden 600 µl alınmıştır. Örnek veya örnek ekstraktlarından, farklı hacimlerde alınarak (25, 50, 75 µl) içlerinde DPPH radikal çözeltisi bulunan tüpler üzerine ilave edilmiştir. Bu işlemten sonra, her bir tüp içerisindeki toplam hacim metanol ile 6 ml'ye tamamlanmıştır. Şahit olarak kullanmak üzere, bir tüpe 600 µl DPPH radikal çözeltisi alınmış ve üzerine 5,4 ml metanol ilave edilmiştir. Tüpler oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 90 dakika süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda 517 nm'ye karşı Pop Optizen marka spektrofotometre kullanılarak tüp içeriklerinin absorbans değerleri okunmuştur. Eşitlik 3.4'de verilen eşitliğe göre en az 3 farklı örnek hacmine karşılık gelen yüzde inhibisyon değeri hesaplanmıştır.

Eşitlik 3.4. DPPH Hesaplaması.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left(\frac{\text{ADPPH} - \text{Aekstrakt}}{\text{ADPPH}} \times 100 \right)$$

A_{DPPH} = DPPH şahit örneğinin absorbans değeri

A_{ekstrakt} = Örnek ekstraktının absorbans değeri

Yukarıdaki eşitliğe göre belirlenen inhibisyon değerleri, örnek hacimlerine karşı bir grafiğe aktarılıp linear regresyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Bu eşitlik kullanılarak da, örneğe ilişkin EC_{50} değeri (radikalin %50'sinin inhibisyonu sağlayan konsantrasyon) seyreltme faktörü dikkate alınarak hesaplanmıştır.

3.4.5.4. İn vitro biyoyararlılık analizi

İn vitro biyoyararlılık analizi Miller et al.,(2000)'e göre yapılmıştır. Yöntemin prensibi, gıdanın sindiriminin midedeki enzim, sıcaklık, süre ve peristaltik hareketlerin modellendiği bir sistem ile izlenmesi ve sindirim sonunda ince bağırsağa geçebilen kısmın veya diyalizatın elde edilmesidir.

Çözeltilerin hazırlanması

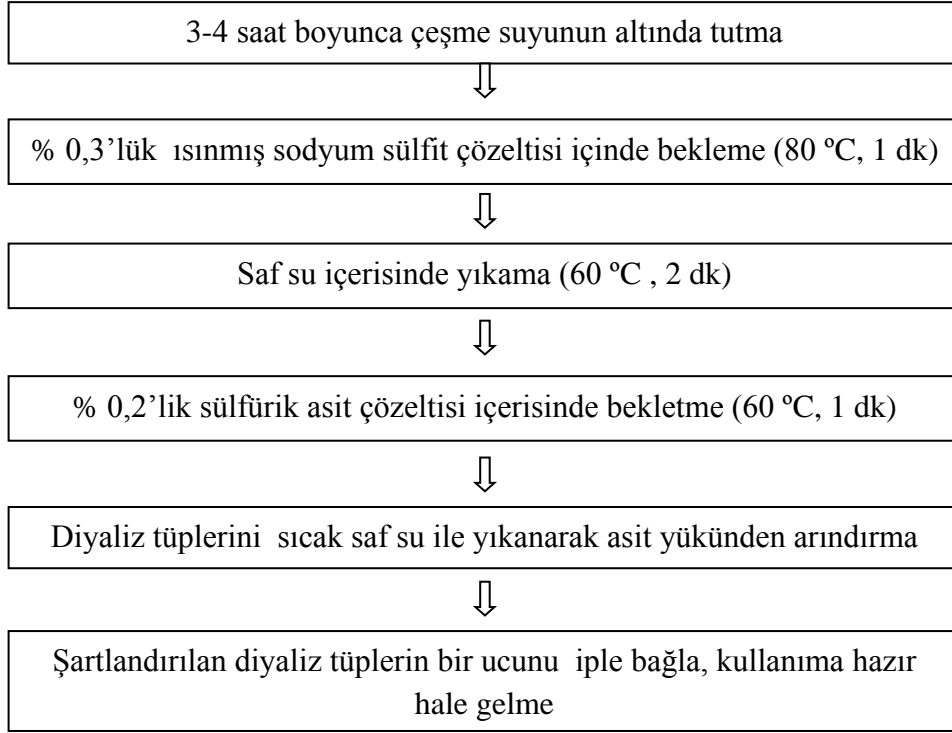
Pankreatin- Safra asidi çözeltisi: 4 g pankreatin ve 25 g safra asidi 0,1 M NaHCO_3 'de çözündürülmüş ve 0,1 N NaHCO_3 ile 250 ml'ye seyreltilmiştir.

0,1 M NaHCO_3 çözeltisi: 4,2 g NaHCO_3 tartılıp, 100 ml'ye seyreltilmiştir.

0,5 N NaHCO_3 çözeltisi: 0,84 g NaHCO_3 tartılıp, 100 ml'ye seyreltilmiştir.

Diyaliz tüplerinin hazırlanması

Kullanılan diyaliz tüpünün genişliği 25 mm, iç çapı 16 mm, gözenek çapı 12000Da'dır. Diyaliz tüpleri Şekil 3.1'deki yöntem ile şartlandırılmıştır.



Şekil 3.2. Diyaliz Tüpünün Şartlanması.

Diyaliz tüpü birkaç kez kullanılabilir. Tekrar kullanımı için deiyonize su ile yıkandıktan sonra kurutulmuş, kullanılacağı zaman sıcak suda bekletilmiştir. Uzun süre saklamalar için % 20'lik etanol çözeltisine yerleştirilerek buzdolabı koşullarında (4 °C) muhafaza edilmiş, kullanımdan hemen önce deiyonize su ile birkaç kez çalkalanmıştır.

Analizin yapılışı

50 g meyveli içecekler 15,750 birim pepsin ile homojenize edilmiştir. Behere alınan karışımın pH'ı derişik HCl ile 2'ye ayarlanıp 37 °C'de çalkalamalı su banyosunda 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Pepsin ile homojenize edilmiş örnekten 20 ml, pankreatin safra asidi çözeltisi karışımından 5 ml alınarak karıştırılıp 0,5 N NaHCO₃ ile pH 7,5 değerine ulaşınca kadar titre edilmiştir. Bu işlem 3 defa tekrarlanıp, ortalamaları alınmıştır. Bir ucu bağlı şartlandırılmış diyaliz tüpüne 25 ml saf su ve 0,5 N NaHCO₃ ile titrasyon sonucu elde edilen ortalama sayfiyat hacmi kadar 0,5 N NaHCO₃ konup, diyaliz tüpün diğer ucu da bağlanmıştır. Diyaliz tüpü 250 ml'lik erlene yerleştirilmiştir. Pepsin ile homojenize edilmiş örnekten 20 ml alınarak diyaliz tüpü yerleştirilmiş behere aktarılıp, 37 °C'de çalkalamalı su banyosuna yerleştirilmiştir. 250 ml'lik erlendeki pepsin ile homojenize edilmiş örneğin pH değeri 5'e ulaşınca örneğin

üzerine 5 ml pankreatin safra asiti çözeltisi ilave edilip, 37 °C’de çalkalamalı su banyosunda 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda diyaliz tüpü beherden alınarak deiyonize su ile durulanıp, kesilerek içerisindeki “diyalizat” alınmıştır (Gill-Izquierdet al., 2001) .

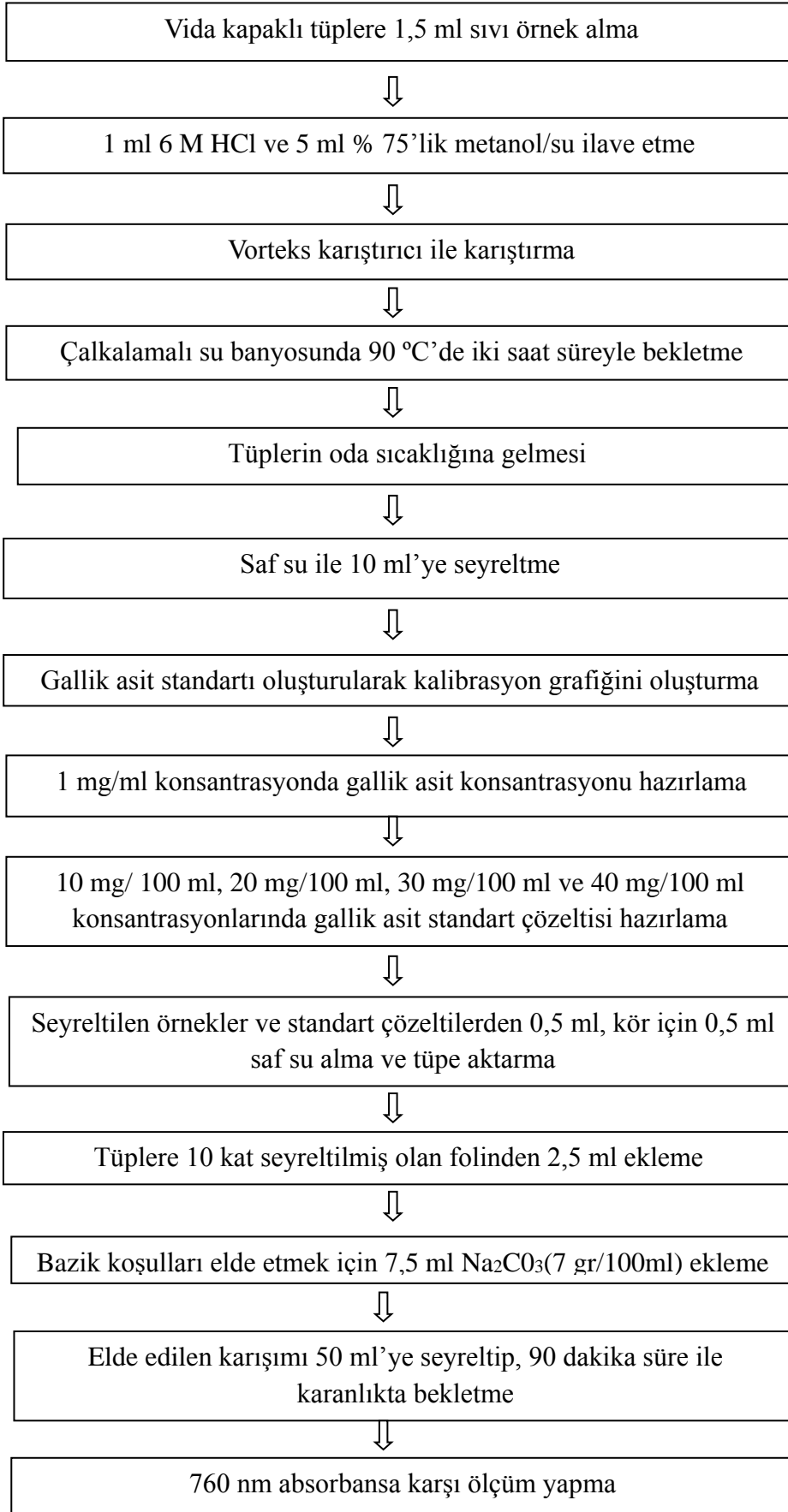
In vitro sindirilirlik sonucu elde edilen diyalizatta kolajen tayini yöntemi uygulanarak kolajen içeriği saptanır. Elde edilen verilere göre biyoyararlılık Eşitlik 3.5’e göre hesaplanır.

Eşitlik 3.5. Biyoyararlılık Hesaplaması.

$$\% \text{Biyoyararlılık} = \frac{\text{Diyalizattaki Kolajen Miktarı}}{\text{Örnekteki Toplam Kolajen Miktarı}}$$

3.4.5.5. Fenolik bileşik tayini

Folin yöntemi ile fenolik bileşik tayini elde edilmiştir. Şekil 3.2’deki yöntem ile analiz gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşik tayini mg cinsinden gallik asit miktarı (GAE/100 ml) olarak meyveli içeceğe göre hesaplanmıştır (Singleton and Rossi, 1965).



Şekil 3.3. Fenolik Bileşik Tayini Akış Şeması.

3.4.5.6 Şeker analizi

Homojen olarak karıştırılmış meyveli içecek örneklerinde şeker tayini Lane-Eynon yöntemine göre kimyasal olarak invert, toplam şeker ve sakkaroz olarak belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2007).

3.4.5.7 Protein tayini

Bradford yöntemi ile toplam protein içeriği belirlenmiştir.

Cözeltilerin hazırlanması:

Boya çözeltisi: 100 mg Coomassie mavisi 50 ml metanolde çözüldürülmüştür. Bulanık bir çözelti elde edildiği takdirde filtre kağıdı yardımıyla çözelti süzümüştür. Çözelti üzerine 100 ml %85'lik fosforik asit (H_3PO_4) çözeltisi ilave edilip, 200 ml saf su içerisinde çözüldürülmüştür. Elde edilen çözeltinin pH değeri 0,01, rengi ise koyu kırmızı renkte olmalıdır. Elde edilen çözeltinin konsantrasyonu 0,5 mg/ml'dir. Elde edilen renk çözeltisi 4 °C'de koyu renkli bir şişede saklanmıştır.

Renk ayıracı: Boya çözeltisi 1/5 oranında saf su ile seyreltilmesiyle elde edilmiştir. Elde edilen çözeltinin pH değeri 1,1, rengi ise kahverengi renkte olmalıdır. Elde edilen renk çözeltisi 4 °C'de koyu renkli bir şişede saklanmıştır.

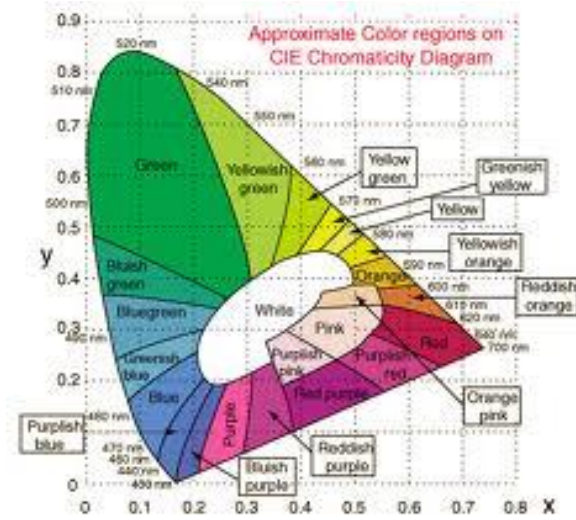
Protein standardı: Kalibrasyon grafiği Bovine serum albümin (BSA) konsantrasyonuna göre oluşturulmuştur. Analiz edilecek örneklerin toplam protein içeriğine göre konsantrasyon aralığı 200-2000 µg/ml veya <50 µg/ml olarak belirlenmiştir. Meyveli içecek örnekleri kolajen hidrolizat ile zenginleştirilmiş olması sebebiyle konsantrasyon aralığı 200-2000 µg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. BSA konsantrasyonları 0, 250, 500, 1000, 1500, 2000 µg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır.

Seyreltilen meyveli içecek örnekleri ve standart BSA konsantrasyonları 595 nm absorbansa karşı ölçüm yapılmıştır. Sıfırlama işlemi saf su ile yapılmıştır. 2 ml boya çözeltisi üzerine seyreltilmiş örneklerden ve en düşük konsantrasyondan başlayarak standart BSA konsantrasyonlarından 0,04 ml ilave edilerek POP OPTIZEN marka spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır. Boya çözeltisine örnek ve standart çözeltiler ilave edilir edilmez hızlıca karıştırıldıktan

sonra ölçüm yapılmıştır. Kalibrasyon grafiği çizilerek meyveli içeceklerin konsantrasyon değerleri seyreltilen oranda çarpılarak protein değeri g/100 ml olarak hesaplanmıştır.

3.4.5.8. Renk tayini

Homojen hale getirilmiş meyveli içecek örneklerinde renk tayini CIE tayini CIE Lab, ColorFlex kullanılarak yapılmış ve örneğin aydınlık – karanlık derecesini gösteren L^* (0-100), kırmızılık ($+a^*$) – yeşillik ($-a^*$) derecesini gösteren a^* ve sarılık ($+b^*$) – mavilik ($-b^*$) derecesini gösteren b^* değerleri belirlenmiştir. CIE Lab renk skalası diyagramı Şekil 3.3'deki gibidir (Cemeroğlu, 2007).



Şekil 3.4. CIE Lab Renk Skalası.

3.4.5.9. Briks değeri ölçümü

Homojenize edilmiş meyveli içecek örneklerinde pastör pipet yardımıyla belli bir miktar sıvı alınmıştır. Elde edilen sıvı doğrudan suda çözünür kuru madde tayini için Hanna marka dijital refraktometre kullanılarak sabit sıcaklıkta okuma yapılmıştır (Cemeroğlu, 2007).

3.4.5.10. pH tayini

Homojen hale getirilmiş meyveli içecek örneklerinin pH değeri Hanna 99131 marka ile ölçülmüştür. pH elektrodu, direkt olarak homojen örneğe daldırılarak, ürünün pH değeri ölçülmüştür (Cemeroğlu, 2007).

3.4.6. İnkübasyon testi

Pastörizasyon işlemi sırasında belirlenen pastörizasyon sıcaklığının etkinliğinin saptanması için pastörizasyon sonrası meyveli içeceklere inkübasyon testi uygulanmıştır. Meyveli içecekler Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriter 2009/06 nolu tebliği doğrultusunda 30 °C'de 10 gün süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrası; sızıntı, bombaj, renk, kokuda orijinale göre değişiklik kontrolleri yapılmıştır. Ayrıca inkübasyon öncesi ve sonrasında ölçülen pH değerlerinde değişim olup olmadığı belirlenmiştir. İnkübasyon sonrası ürünlerde toplam canlı, maya-küf ve *E.coli* sayımı yapılmıştır.

3.4.7. Mikrobiyolojik analiz

Düşük asitli konserve örneklerinde, ısıl işlem öncesi başlangıç ve ısıl işlem sonrası mikroorganizma yükünün belirlenmesi amacıyla meyveli içecek örneklerine toplam bakteri sayımı, maya-küf ve *E.coli* O157:H7 mikrobiyolojik analizleri, her bir meyveli içecek ürün grubundan iki örnek alınarak belirlenmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine (Tebliğ no: 2009/6) göre pastörize meyve ve sebze suları, bunların karışımları (nektarlar, püreler, konsantreler vb. ürünler dâhil) ve aromalı, meyveli vb. içecekler (gazlı olanlar hariç) ve şuruplartıca steril olarak tanımlanan inkübasyon testine tabi tutulmalıdır. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde (tebliğ no: 2010/16) yapılan değişikliğine göre; Gıda takviyeleri ürün grubunda *E.coli* O157:H7 limiti $<10^1$ olmalıdır.

Düşük asitli gıdalar kapsamına giren meyveli içecek örnekleri pastörizasyon işleminden sonra, her üretimden ikişer adet kavanoz 37 °C'de 10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Karapınar, 1995). İnkübasyon sonunda, kavanoz kapaklarında bombaj olmamış ise kavanozlar, ısıl işlem öncesi belirlenen mikroorganizma sayılarındaki azalmayı tespiti amacıyla ekim yapılmak üzere analize alınmışlardır.

3.4.8. Duyusal analiz

Duyusal özelliklerin değerlendirilmesi için meyveli içeceklere sıralama testi uygulanmıştır. Sıralama testi uygulanarak meyveli içecek ürün formülasyonlarının kolajen hidrolizat konsantrasyon aralığı 4 puan üzerinden değerlendirme yapılmıştır. İstatistiksel hesaplama sonuç değerlerine meyveli içecek

konsantrasyon aralığı belirlenmiştir. Farklı ürün formülasyonlarındaki meyveli içecek örneklerinin görünüş, doku (ağız hissi) ve lezzet özellikleri bakımından 4 puan üzerinden değerlendirilme yapılmıştır.

7 ayrı ürün formülasyonu geliştirilmiş olup, geliştirilen meyveli içecek formülasyonlarındaki kolajen hidrolizat konsantrasyon aralığı (% 1, % 2, % 2,5, % 3) ve panelistler tarafından tercih edilen 4 ürün formülasyonu sıralama testi ile belirlenmiştir (Altuğ ve Elmacı, 2011).

Duyusal analizler sonuçları istatistiksel olarak % 5 önem düzeyinde gerekli sıralama toplamları ($p < 0.05$) tablosuna göre % 5 güven eşiğinde, 4 işlem ve 20 tekrara karşı istatistiksel olarak hesaplanmıştır. Sıralama testi için panelistlere uygulanan form Ek.9'da, % 5 önem düzeyinde gerekli sıralama toplamları tablosu Ek.10'da verilmiştir.

3.4.9. İstatistiksel analiz

Kolajen hidrolizat içeren meyveli içecek örnekleri 2 ayrı günde 8 ayrı proses işlemi uygulanarak üretilmiş, P_0 hesaplamasına bağlı olarak 85-95 °C sıcaklık aralığında 7-14 dakika süreyle pastörize edilmiştir. Depolama süresi boyunca her bir meyveli içecekten iki hafta süre ile kimyasal analizler uygulanmıştır. Her analiz için 2 adet kavanoz örneğinden üç paralel ile çalışılarak analizler uygulanıp, standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Kolajen hidrolizat içeren meyveli içecek üretiminin gerçekleşmesi ve kalite kriterlerinin belirlenmesi için veriler SPSS 16 for Windows yazılımında varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve önemli olan farklılıklar için Duncan çoklu testi kullanılarak $\alpha = 0,05$ önem düzeyinde incelenmiştir.

Duyusal analizlerde uygulanan, sıralama testi sonucunda elde edilen puanlar istatistiksel olarak % 5 önem düzeyinde gerekli sıralama toplamları ($p < 0.05$) tablosuna göre % 5 güven eşiğinde, 4 işlem ve 20 tekrara karşı istatistiksel olarak hesaplanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Meyveli içecek formülasyonları

Kolajen vücudtakollajenaz enzimi tarafından aminoasitlere parçalanmaktadır. Bu durum kolajenin cilt ve bağ doku üzerinde olumlu etkilerinin olmasını engellemektedir. Antioksidanlar kolajenaz enzimini inhibe ederek bu faydayı önlemektedir (Betty et al.,2001). Bu nedenle ürün formülasyonu geliştirme aşamasında ürün bileşimlerini antioksidanca yüksek meyve sularından olan portakal, limon, üzüm ve nar suyu olarak belirlenmiştir. Ön denemeler sonrasında nar suyu kullanıldığı durumda kolajen hidrolizatı çökelti oluşturduğundan bu ürün deneme kapsamından çıkarılmıştır.

Belirlenen meyve suyu çeşitlerine göre geliştirilecek olan 7 adet ürün formülasyonuna karar verilip, literatür taramaları ve denemeler sonucunda her bir ürün grubu için son briks değerleri belirlenmiştir. Meyveli içecek ürün grupları için son ürün briks değerleri; Portakallı içecek için 10,1, Portakal Üzümlü için 13,1, Elma Üzümlü için 12,5 ve Elmalı içecek için 11,7'dir. Bu değerleri temel alınarak kütle denkliği yardımıyla % 100 doğal meyve sularından (portakal, üzüm, limon, elma) uygun koşullarda meyveli içecek üretimi elde etmek için gerekli olan yüzde bileşimler (su, % 100 doğal meyve suları, şeker, sitrik asit vs.) hesaplanmıştır. Kütle denkliği hesaplamaları, çözünürlük ile fiziksel yapı, koku, tat, kıvam gibi duyuşal özellikler değerlendirilerek meyveli içecek üretimine uygun formülasyonları belirlenmiştir.

Standartlarda (Türk Gıda Kodeksi ve FDA) izin verilen değerleri ve duyuşal kabul edilebilirlik kriterleri göz önüne alınarak belirlenen bileşen miktarları briks değerlerine uygun olacak şekilde hesaplanmış ve meyveli içeceklere ait formülasyonları Çizelge 4.1-4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Şekersiz Portakallı İçecek Ürün Formülasyonu.

Bileşenler	%
Kolajen hidrolizat	2,5
Sitrik asit	0,2
Askorbik asit	0,1
Portakal suyu	50
Su	50

Çizelge 4.2. Şeker İçerikli Portakallı İçecek Ürün Formülasyonu.

Bileşenler	%
Kolajen hidrolizat	2,5
Sitrik asit	0,2
Askorbik asit	0,1
Portakal suyu	50
Su	50
Şeker	2

Çizelge 4.3. Portakal Üzümlü İçecek Ürün Formülasyonu.

Bileşenler	%
Kolajenhidrolizat	2,5
Sitrik asit	0,2
Askorbik asit	0,1
Portakal suyu	50
Su	20
Üzüm suyu	30

Çizelge 4.4. Elmalı İçecek Ürün Formülasyonu.

Bileşenler	%
Kolajen hidrolizat	2,5
Sitrik asit	0,1
Askorbik asit	0,1
Elma suyu	70
Su	30
Üzüm suyu	25
Doğal nane aroması	%0,03

Çizelge 4.5. Elma Üzümlü İçecek Ürün Formülasyonu.

Bileşenler	%
Kolajenhidrolizat	2,5
Sitrik asit	0,1
Askorbik asit	0,1
Elma suyu	50
Su	24
Üzüm suyu	26
Doğal nane aroması	0,02

Çizelge 4.6. Limonlu İçecek Ürün Formülasyonu.

Bileşenler	%
Kolajenhidrolizat	2,5
Sitrik asit	0,1
Askorbik asit	0,1
Limon suyu	27
Su	73
Şeker	6

Çizelge 4.7. Limon Üzümlü İçecek Ürün Formülasyonu.

Bileşenler	%
Kolajenhidrolizat	2,5
Sitrik asit	0,1
Askorbik asit	0,1
Limon suyu	12
Su	33
Üzüm suyu	55
Şeker	6

Meyveli İçecek formülasyonlarına uygulanan sıralama testi sonucunda 7 adet ürün formülasyonundan 4 adet meyveli içecek formülasyonunun üretiminin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

4.1.2. Duyusal analiz sonuçları

Kolajen hidrolizatı konsantrasyon aralığı duyusal analiz sonuçları ve çözünürlük oranına göre belirlenmiştir. % 1, % 2, % 2,5 ve % 3 kolajen hidrolizat konsantrasyonuna sahip şekerli ve şekerli portakallı içecek ürün formülasyonları panelistlere uygulanmıştır. Meyveli içeceklerin duyusal analizlerinden elde edilen lezzet tayini sıralama testi sonucunda elde edilmiş olan toplam puanı Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Meyveli İçeceklerin Lezzet Değerlendirmesine ait Sıralama Testi Puanları.

Ürün Adı	Kolajen Hidrolizat Konsantrasyonu			
	% 1	% 2	% 2,5	% 3
Şekerli Portakal Suyu	50	48	43	59
Şeker Eklenmiş Portakal Suyu	61	41	47	51

Kırmızı renk: Panelistler tarafından % 5 güven aralığına girmeyen değerler, Sarı renk: Panelistler tarafından % 5 güven aralığına giren değerler

Şekerli ve şekerli portakal suyu meyveli içecek örnek gruplarından konsantrasyon değerine göre 4 ayrı ürün formülasyonu olmak üzere 20 adet panelistin her birine 8 adet ürünün lezzet unsuru bakımından sıralamasının yapılması istenilmiştir. Sıralama sonuçları istatistiksel olarak % 5 önem düzeyinde gerekli sıralama toplamları ($p < 0.05$) tablosuna göre % 5 güven eşliğinde, 4 işlem ve 20 tekrara karşı istatistiksel olarak hesaplanmıştır. % 5 önem düzeyinde gerekli sıralama tablosuna göre üst sınır 39-61, alt sınır 42-58 olarak belirlenmiştir. Bu değerlere göre % 3 kolajen hidrolizat konsantrasyonuna sahip şekerli portakal suyu örneğinin 59 değeri üst sınır olan 61 değerine çok yakın bir değer olduğundan kabul edilemezken, 43 değeri alt sınır olan 42 değerine çok yakın bir değer olduğundan 2,5 değeri % 1 ve % 2’ye göre daha fazla beğenilmiştir. % 1 kolajen hidrolizat konsantrasyonuna sahip şekerli portakal suyu örneğinin 61 değeri üst sınır olan 61 ile eşdeğer olduğundan kabul edilemezken, 41 değeri alt sınır olan 42 değerine çok yakın bir değer olduğundan % 2 değeri % 2,5 ve % 3 değerine göre daha fazla beğenilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler sonucunda meyveli içecek ürün formülasyonlarında kolajen hidrolizat konsantrasyon değeri % 2,5 olarak belirlenmiştir.

Farklı ürün formülasyonlarındaki meyveli içecek örneklerinin görünüş, doku (ağız hissi) ve lezzet (koku + tat) özellikleri bakımından 4 puan üzerinden

değerlendirilme yapılmıştır. Geliştirilmiş olan 7 ayrı ürün formülasyonu sıralama testi uygulanarak tercih edilen 4 ürün formülasyonu belirlenmiştir. Belirlenen 4 ürün formülasyonunun üretimi gerçekleştirilmiş ve depolama kayıplar incelenmiştir. Meyveli içeceklerin duyu analizlerinden elde edilen lezzet tayini sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Meyveli İçeceklerin Lezzet Değerlendirmesine ait Sıralama Testi Puanları

Ürün Adı	Sıralama Testi Sonucu
Şeker Eklenmiş Portakallı Suyu	68
Şekersiz Portakal Suyu	70
Portakal Üzümlü İçecek	53
Limonlu İçecek	93
Limon Üzümlü İçecek	102
Elmalı İçecek	76
Elma Üzümlü İçecek	70

8 adet meyveli içecek ürün formülasyonu, 20 adet panelistin her birine lezzet unsuru bakımından sıralamasının yapılması istenilmiştir. Sıralama sonuçları istatistiksel olarak % 5 önem düzeyinde gerekli sıralama toplamları ($p < 0.05$) tablosuna göre % 5 güven eşiğinde, 8 işlem ve 20 tekrara karşı istatistiksel olarak hesaplanmıştır. % 5 önem düzeyinde gerekli sıralama tablosuna göre üst sınır 55-97, alt sınır 62-90 olarak belirlenmiştir. Bu değerlere göre, üst sınır değerinin üstünde olan limonlu ve limon üzümlü içeceğin kabul kalitesinin düşük olduğu belirlenmiştir. Şeker eklenmiş portakal suyu, şekersiz portakal suyu, portakal üzümlü, elmalı ve elma üzümlü içeceğin tüketici tarafından kabul edilebilir olduğu saptanmıştır. Alt sınır olan 62 değerine en yakın olan şeker eklenmiş portakal suyu ürün formülasyonu panelistler tarafından lezzet ve görünüş bakımından en çok beğenilen ürün olmuştur. Sıralama testi sonuçlarına göre üretimine karar verilen meyveli içecek ürün formülasyonları şeker eklenmiş portakallı suyu, portakal üzümlü, elmalı ve elma üzümlü içecektir.

4.2. Meyveli İçeceklerin Üretimlerin Gerçekleştirilmesi

4.2.1. Pastörizasyon işleminde sıcaklık ölçümleri

Meyveli içecek ürünlerinde hedef mikroorganizma olan *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının ısısal direnç verileri baz alınarak pastörizasyon değeri

hesaplanmıştır. P_o değeri için 3 desimallık bir azalma hedef alınarak, belirlenmiştir. Meyveli içeceklerin depolama kayıplarını incelemek amacıyla yapılan üretim öncesinde her bir meyveli içecek için ön üretim yapılarak pastörizasyon parametreleri belirlendi. Uygulanan pastörizasyon işlemi öncesi ve sonrasında mikrobiyolojik analiz ve inkübasyon testi yapılarak belirlenen pastörizasyon parametrelerin doğrulanması yapıldı.

Denemelerde kullanılan, cam kavanozda üretilen meyveli içecekler üretimi sırasında uygulanan ısı işlem sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Isıl işlem süresince kaydedilen sıcaklık ve hesaplanan P_o değerine ait veriler Ek.1, Ek.3, Ek.5, ve Ek.7'deki mevcut çizelgelerinde verilmiş, bu veriler Ek.2, Ek.4, Ek.6 ve Ek.8'de grafik üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Meyveli İçecek Örneklerine Ait Isıl İşlem Verileri.

Ürün Adı	T (°C)	Tekrar	T_o (°C)	T_c (dk)	T_i (dk)	T_s (dk)	Ulaşılmaması Hedeflenen P_o Değeri	P_o Değeri
Portakallı İçecek	95°C	1	59,5-62,8	13	21	6	162,9	239,99
		2	63,2-66	12	22	8		252,67
Elmalı İçecek	95°C	1	60,7-62,2	9	23	6	123,45	125,05
		2	64-65	9	20	6		140,32
Elma Üzümlü İçecek	95°C	1	58,9-59,3	9	23	6	33,3	41,40
		2	61-62	19	32	7		38,05
Portakal Üzüm	92°C	1	60,8-63,2	8	24	7	162,9	195,771
		2	61-62	7	18	4		184,95

T: Pastörizasyon Sıcaklığı; T_o : Kutu İçi Başlangıç Sıcaklığı; T_c :Çıkış Süresi, T_i : İşlem Süresi; T_s : Soğutma Süresi

P_o değeri olan 162,9 değerine ulaşmak için gerekli 95 °C sıcaklıkta pastörize edilen portakallı içeceğinin başlangıç kavanoz içi sıcaklıkları, 59,5-66 °C arasında ölçülmüştür. Isıl işlem sırasında çıkış süresi 12-13 dk bulunurken, hedeflenen ısı işlem süresinin 21-22 dk olduğu belirlenmiştir. İki farklı üretimde ulaşılan P_o değerlerinin 239,99 ve 252,67 olduğu bulunmuştur.

95 °C sıcaklıkta pastörize edilen elmalı ieeğinin başlangıç kavanoz içi sıcaklıkları, 60,7-65 °C arasında bulunmuştur. Isıl işlem sırasında çıkış süresi 9 dk olarak bulunurken, hedeflenen ısıl işlem süresinin 20-23 dk olduğu belirlenmiştir. İki farklı üretimde ulaşılan P_o değerlerinin ise 125,05 ve 140,32 değerleri olduğu bulunmuştur.

95 °C sıcaklıkta pastörize edilen elma zml ieeğinin başlangıç kavanoz içi sıcaklıkları, 58,9-62 °C arasında ölçülmüştür. Isıl işlem sırasında çıkış süresi 9-19 dk olarak bulunurken hedeflenen ısıl işlem süresinin 23-32 dk arasında olduğu bulunmuştur. İki farklı üretimde ulaşılan P_o değerleri 41,40 ve 38,05 değerleri olarak ulaşılmıştır.

90 °C sıcaklıkta pastörize edilen portakal zml ieeğinin başlangıç kavanoz içi sıcaklıkları, 60,8-63,2 °C arasında bulunmuştur. Isıl işlem sırasında çıkış süresi 7-8 dk olarak ölçülürken hedeflenen ısıl işlem süresinin ise 18-24 dk arasında olduğu bulunmuştur. İki farklı üretimde ulaşılan P_o değerleri 195,771 ve 184,95 değerleridir.

Silva and Gibbs (2010) yaptıkları çalışmada portakal suyu, beyaz üzüm suyu, elma suyu ve limon suyunda uyguladıkları pastörizasyon işleminde mikrobiyolojik stabiliteyi sağlamak için 2D ve 3D desimallık azalma hedeflemiştir. 2D ve 3D azalma hedeflenerek gerçekleşen pastörizasyon işlemi sonrasında *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının inaktif olduğunu belirtilmiştir. Gaze and Betts'in (1992) yapmış olduğu başka bir çalışmada ise pastörizasyon işlemi için 6 desimallık azalma hedeflenmiş ve bu uygulama sonrasında *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarında üreme olmadığı belirtilmiştir.

Tez alışması kapsamında ise meyveli içecek üretimi sırasında 3 desimallık azalma hedeflenmiş bu işlem sonrasında herhangi bir mikrobiyal üreme olmadığı belirlenmiştir.

Con et al., (2009) yaptığı bir çalışmada *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarını hedef alarak farklı sıcaklık (85, 90, 95 ve 100°C) ve sürelerde (25-30 dakika) pastörizasyon işlemi uygulamışlardır. Portakal sularının farklı pH (3,5; 4) ve briks değerlerine (10°; 20 °Bx) göre D ve z değerlerini belirlemişlerdir. 3,5 pH ve 10 °Bx değerine sahip portakal suyu için D_{85°C}'de 93,5±5,37 dakika, D_{90 °C}'de 36,5±2,47 dakika, D_{95 °C}'de 20,8±3,11 dakika ve D_{100 °C}'de 3,3±0,57 dakika; z değeri 10,9±0,44°C, 4 pH ve 10 °Bx değeri için ise D_{85 °C}'de 120,5±11,46 dakika, D_{90 °C}'da 30,9±3,61 dakika, D_{95 °C}'de 20,8±1,27 dakika ve D_{100 °C}'de 2,3±0,14 dakika; z değeri ise 9,4±0,32 °C olarak belirtmiştir. Başka bir çalışmada ise Eiroa

et al., (1999) *Alicyclobacillus acidoterrestris* suşunun ısısal direncini saptamayı amaçlamıştır. $D_{85}^{\circ C}$ 'de 60.8-94.5 dakika, $D_{90}^{\circ C}$ 'de 10.0-20.6 dakika ve $D_{95}^{\circ C}$ 'de 2.5-8.7 dakika arasında; z değerine ise 7.2–11.3°C arasında elde etmişlerdir. D ve z değerlerinin yüksek ısısal dirence sahip olan *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının konsantre portakal suyuna uygulanan normal ısısal işlem sırasında öldürmek için yeterli geldiğini vurgulamıştır. Bu tez çalışması kapsamında ise 3,96 pH, 11,07 °Bx değerine sahip portakallı içeceğin pastörizasyon işlemi için literatürden bulunan verilere göre referans olarak $D_{80}^{\circ C}$ 'de 54,3 dakika, z değeri ise 9,5 °C değerleri alınmıştır.

Işık (2008), taze sıkılmış portakal sularına farklı sıcaklık ve sürelerde uygulanan ısısal işlemin mikrobiyal aktivite üzerine etkisini araştırmıştır. 75 °C'de 90 saniye, 80 °C'de 40 saniye ve 85 °C'de 5 saniye süreyle taze sıkılmış portakal sularına ısısal işlem uygulanmıştır. Isısal işlem sonrası gerçekleştirilen mikrobiyolojik analizler sonucunda mikrobiyal üremenin engellendiği belirtilmiştir. Bu çalışma kapsamında, portakallı içecek üretiminde mikrobiyolojik stabiliteyi sağlamak 95 °C sıcaklıkta 3-4 dakikalık pastörizasyon işlemi uygulanmıştır.

Splittstoesser et al., (1998) yaptıkları çalışmada *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının suyunadaki ısısal direncini saptamayı amaçlamışlardır. $D_{85}^{\circ C}$ 'de 53 dakika, $D_{90}^{\circ C}$ 'de 11 dakika ve $D_{95}^{\circ C}$ 'de 1.9 dakika; z değerini ise 6,9 °C olarak elde etmiştir. Benzer bir çalışma yapan Silva and Gibbs'in (2010) ise $D_{85}^{\circ C}$ 'de 57±13 dakika, $D_{90}^{\circ C}$ 'de 16±4,1 dakika ve $D_{95}^{\circ C}$ 'de 2,4±0,9 dakika ; z değeri ise 7,2 °C olarak belirtmiştir. Portakal üzümlü ve elma üzümlü içeceklerde *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının mikrobiyal stabilitesi sağlamak için pastörizasyon normu olarak portakal üzümlü içeceklerde $D_{80}^{\circ C}$ 'de 54,3, z değeri 9,59 °C, elma üzümlü içeceklerde ise $D_{90}^{\circ C}$ 'de 11,1 dakika, z değeri ise 8,5 °C değerleri yapılan literatür çalışmaları referans alınarak hedef alınmış olup P_o değeri belirlenmiştir.

Splittstoesser et al., (1998) yaptığı bir çalışmada ise *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarını hedef olarak elma suyunadaki ısısal direnci saptamışlardır. $D_{85}^{\circ C}$ 'de 56±14 dakika, $D_{90}^{\circ C}$ 'de 23±7,5 dakika ve $D_{95}^{\circ C}$ 'de 2,8±0,7 dakika; z değerini ise 7,7 °C olarak belirlemişlerdir. Çalışmada sporların daha yüksek pH ve briks'e sahip ortamlarda ısısal işlem gördüğünde daha fazla direnç kazandığını belirtmiştir. Con et al., (2009) yaptığı bir çalışmada *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarını hedef olarak farklı sıcaklık (85, 90, 95 ve 100°C) ve sürelerde (25-30 dakika) pastörizasyon işlemi uygulamıştır. Elma

sularının farklı pH (3,5; 4) ve briks değerlerine (10°; 20°Bx) göre % 90 desimal azalma sağlanabildiği takdirde ihtiyaç duyulan D ve z değerlerini elde etmiştir. 4 pH ve 10 °Bx değerine sahip elma sularının D₈₅ °C'de 105,3±5,52 dakika, D₉₀ °C'de 36,1±4,53 dakika, D₉₅ °C'de 27,8±1,70 dakika ve D₁₀₀ °C'de 11,1±2,55 dakika; z değerini ise 16,4±0,81 °C olarak bulunmuştur. Pontius et al., (1998) yaptıkları benzer bir çalışmada meyve sularında bozulma etkeni olan *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporları üzerinde pH ve organik asitin etkisini araştırmıştır. pH 3.1 ve 3.7'de bulunan D₉₁ °C'deki değerleri sırasıyla 31.3 ve 54.3 dakika iken aynı pH değerlerinde D₉₇ °C'deki değerleri yine sırasıyla 7.9 ve 8.8 dakika olarak saptanılmıştır. Bununla beraber model sistemdeki organik asit türünün (sitrik, malik veya tartarik) sonuçlar üzerine önemli bir etkisi olmadığı belirtilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında üretilen elmalı içecekte *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının mikrobiyal stabilitesi saptamak için pastörizasyon normu olarak D₈₀ °C'deki değeri 41,15 dakika z değeri 12,1 °C değerleri yapılan literatür çalışmaları referans alınarak hedef alınmış olup P₀ değeri belirlenmiştir.

4.2.2. İnkübasyon testi

Pastörizasyon sonrasında meyveli içecek formülasyonları 30 °C'de 10 gün süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrası; pH, sızıntı, bombaj, renk, kokuda orijinale göre değişiklik kontrolleri yapılmıştır. İnkübasyon öncesi ve sonrasında ölçülen pH değerleri Çizelge 4.11'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.11. İnkübasyon öncesi ve sonrası pH değişimleri.

Ürün Adı	İnkübasyon Öncesi pH	İnkübasyon sonrası pH
Portakallı İçecek	3,96±0,04	3,95±0,02
Portakal Üzümlü İçecek	4,02±0,05	4,04±0,03
Elmalı İçecek	4,04±0,01	4,07±0,01
Elma Üzümlü İçecek	3,97±0,01	3,99±0,01

Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi pH değeri 3,96 iken pastörizasyon sonrası ölçülen pH değeri 3,95 değeri olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$). Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi pH değeri 4,02 iken pastörizasyon sonrası ölçülen 4,04 değeri olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$). Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi pH değeri 4,07 iken pastörizasyon

sonrası ölçülen 4,04 değeri olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$). Elma üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi pH değeri 3,97 iken pastörizasyon sonrası ölçülen 3,99 değeri olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

Meyveli içecekler için Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriter 2009/06 nolu tebliği doğrultusunda 30 °C'de 10 gün süre ile inkübasyona tabi tutulan ürünlerin pH değişimleri arasındaki fark 0,05 değerinden fazla olmamalıdır ibaresi yer almaktadır. Bu kapsamda üretilen meyveli içeceklerin pH değerleri arasındaki fark 0,05 değerinden fazla bulunmamıştır. Meyveli içecek ürünlerinin inkübasyon sonrasında herhangi bir sızıntı, bombaj ve kokuda orijinale göre değişiklik rastlanmamıştır. Dolayısı ile ürünler için bu kapsamda Türk Gıda Kodeksine uygun sağlanmıştır.

İnkübasyon öncesi ve sonrasında elde edilen renk tayini değeri olan L* sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeler Çizelge 4.12'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.12 İnkübasyon Öncesi ve Sonrası Meyveli İçeceklere Ait Renk Değerleri (L*,a*,b*).

Ürün Adı	Portakallı İçecek	Portakal Üzümlü İçecek	Elmalı İçecek	Elma Üzümlü İçecek
İnkübasyon Öncesi Renk (L*)	56,19±1,65	52,74±2,41	34,29±1,19	11,69±1,1
İnkübasyon sonrası Renk (L*)	52,06±0,6	51,85±3,44	37,05±0,05	15,16±3,52
İnkübasyon Öncesi Renk (a*)	5,03±0,44	9,47±0,27	20±1,02	2,75±0,14
İnkübasyon sonrası Renk (a*)	8,04±0,95	5,24±0,74	19,75±0,13	2,47±1,47
İnkübasyon Öncesi Renk (b*)	40,07±1,41	38,53±1,9	54,41±1,60	14,78±1,1
İnkübasyon sonrası Renk (b*)	40,08±1,73	40,88±1,12	56,79±0,13	16,61±1,05

10 gün süre ile 37 °C sıcaklıkta bekletilen portakallı içeceklerin pastörizasyon işlemi öncesi renginin açıklığını ve aydınlığını ifade eden L* 56,19 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 52,06 renk değerine azalmıştır. Bu

değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$). Renk tayini değeri olan a^* 5,03 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 8,04 renk değerine artmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($P < 0,05$). Renk tayini değeri olan b^* 40,07 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 40,08 renk değerine artmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

10 gün süre ile 37 °C sıcaklıkta bekletilen portakal üzümlü içeceklerin pastörizasyon işlemi öncesi renginin açıklığını ve aydınlığını ifade eden L^* 52,74 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 51,85 renk değerine azalmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$). Renk tayini değeri olan a^* 9,47 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 51,85 renk değerine artmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($P < 0,05$). Renk tayini değeri olan b^* 38,53 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 40,88 renk değerine artmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

10 gün süre ile 37 °C sıcaklıkta bekletilen elmalı pastörizasyon işlemi öncesi L^* 34,29 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 37,05 renk değerine artmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$). Renk tayini değeri olan a^* 20 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 19,75 renk değerine azalmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$). Renk tayini değeri olan b^* 54,41 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 56,79 renk değerine artmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

10 gün süre ile 37 °C sıcaklıkta bekletilen portakal üzümlü içeceklerin pastörizasyon işlemi öncesi renginin açıklığını ve aydınlığını ifade eden L^* 2,75 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 2,47 renk değerine azalmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$). Renk tayini değeri olan b^* 14,78 renk değerinde iken inkübasyon sonrası 16,61 renk değerine artmıştır. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

4.2.3. Mikrobiyolojik analiz bulguları

Pastörizasyon işlemi ile mikrobiyal yükteki log düzeyindeki azalma miktarını ve belirlenen pastörizasyon parametrelerinin doğrulamasının yapılması amacıyla 2 tekrarlı olarak üretilen meyveli içecek ür örneklerine ısıl işlem öncesi ve sonrası inkübasyon testi sonucunda yapılan *E. coli* O157:H7 (kob/g), toplam bakteri sayımı (kob/g), maya-küf (kob/g) mikrobiyolojik ekimleri sonuçları

Çizelge 4.13, inkübasyon testi sonucunda elde edilen mikrobiyolojik ekim sonuçları ise Çizelge 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Isıl İşlem Öncesi Meyveli içeceklerle Uygulanan Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.

Örnek	Toplam Bakteri Sayımı (kob/g)	Maya-Küf Sayımı (kob/g)	E.coli Sayımı (kob/g)
Portakallı İçecek I	4,8x10 ¹	4,0x10 ¹	Saptanmadı
Portakallı İçecek II	2,4x10 ¹	9	Saptanmadı
Portakal Üzümlü İçecek I	8,0x10 ¹	1,5x10 ¹	Saptanmadı
Portakal Üzümlü İçecek II	3,0x10 ¹	1,0x10 ¹	Saptanmadı
Elmalı İçecek I	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı
Elmalı İçecek II	2,5x10 ¹	6	Saptanmadı
Elma Üzümlü İçecek I	6,2x10 ¹	Saptanmadı	Saptanmadı
Elma Üzümlü İçecek II	2,3x10 ¹	2	Saptanmadı

Çizelge 4.13’de görüldüğü gibi meyveli içeceklerde sterilizasyon öncesi mikrobiyal yükünü belirlemek amacı ile 2 ayrı üretim için mikrobiyolojik analizler tekrarlanmış, portakallı içekte 1. üretimde toplam bakteri sayımı 4,8x10¹ kob/g, maya-küf sayımı 4x10¹ kob/g ve *E.coli* yükü saptanmamış bulunurken 2. üretimde toplam bakteri sayımı 2,4x10¹ kob/g, maya-küf sayımı 9 kob/g ve *E.coli* yükü saptanmamış olarak bulunmuştur.

Portakal üzümlü içekte 1. üretimde toplam bakteri sayımı 8,0x10¹ kob/g, maya-küf sayımı 1,5x10¹ kob/g ve *E.coli* yükü saptanmamış bulunurken 2. üretimde toplam bakteri sayımı 3,0x10¹ kob/g , maya-küf sayımı 1,0*10¹ kob/g ve *E.coli* yükü saptanmamış olarak bulunmuştur.

Elmalı içekte 1. üretimde toplam bakteri yükü saptanmamış, maya-küf yükü saptanmamış ve *E.coli* yükü saptanmamış bulunurken 2. üretimde toplam bakteri sayımı 2,5x10¹ kob/g , maya-küf sayımı 6, ve *E.coli* yükü saptanmamış olarak bulunmuştur.

Elma üzümlü içecekte 1. üretimde toplam bakteri sayımı $6,2 \times 10^1$ kob/g, maya-küf yükü saptanmamış ve *E.coli* yükü saptanmamış bulunurken 2. üretimde toplam bakteri sayımı $2,3 \times 10^1$ kob/g , maya-küf sayımı 2, ve *E.coli* yükü saptanmamış olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.14. İnkübasyon Testine Tabi Tutulan Meyveli İçeceklere Uygulanan Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.

Örnek	Toplam Bakteri Sayımı (kob/g)	Maya-Küf Sayımı (kob/g)	<i>E.coli</i> Sayımı (kob/g)
Portakallı İçecek I-II	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı
Portakal Üzümlü İçecek I-II	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı
Elmalı İçecek I-II	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı
Elma Üzümlü İçecek I-II	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı

Çizelge 4.14’de görüldüğü gibi pastörizasyon işlemi sonrasında $37\text{ }^\circ\text{C}$ ’de 10 gün süre ile inkübasyona tabi tutulan 1. ve 2. üretim portakallı, portakal üzümlü, elmalı ve elma üzümlü içeceklere uygulanan toplam bakteri sayısı, maya-küf, *E.coli* mikrobiyolojik analizleri sonucunda mikrobiyal yük saptanmamıştır.

Belirlenen pastörizasyon sıcaklıkları ve P_0 değerlerine göre uygulanan pastörizasyon işleminden sonra inkübasyon testi uygulanmış meyveli içeceklerde bombaj oluşmamış, yapılan ekimler sonucunda mikrobiyal üreme görülmemiştir.

4.3. pH Değerleri ve Sitrik Asit İlavesi

Meyveli içeceklerin dayanıklı hale getirilmesi amacıyla pastörizasyon işlemi uygulanmıştır. Oluşturulan formülasyonlarda pH değeri 4,5’un altına düşmesi için gereken asit düzenleyici olan sitrik asit ilavesi yapılmıştır. Bu amaçla portakallı ve portakal üzümlü içecekte % 0,2 sitrik asit ilave edilerek pastörizasyon öncesi pH değerleri sırasıyla 3,96 ve 4,02 elma ve elma üzümlü içecekte % 0,1 sitrik asit ilave edildiğinde pastörizasyon öncesi pH değerleri sırasıyla 4,04 ve 3,97 olarak ayarlanmıştır. Meyveli içecek formülasyonlarına sitrik asit ilavesi yapılmadan önceki pH değerleri Portakallı İçecek için 4,11, Portakal Üzümlü İçecek için 4,08, Elmalı İçecek için 4,12, Elma Üzümlü İçecek için 4,11’dir.

Çizelge 4.15. Depolama Süreci Boyunca Meyveli İçeceklerle Ait pH Değerleri.

Ürün Adı	Portakal İçecek	Portakal Üzümlü İçecek	Elmalı İçecek	Elmalı Üzümlü İçecek
Pastörizasyon Öncesi	3,96±0,04 ^a	4,02±0,05 ^a	4,04±0,01 ^a	3,97±0,008 ^{ab}
0.Hafta	3,95±0,04 ^a	4,01±0,02 ^a	4,04±0,02 ^a	4,01±0,06 ^b
2. Hafta	3,93±0,07 ^a	3,98±0,03 ^a	4,02±0,02 ^a	3,93±0,02 ^a
4. Hafta	3,92±0,07 ^a	4±,03 ^a	4±0,02 ^a	3,94±0,04 ^a
6. Hafta	3,93±0,01 ^a	3,99±0,02 ^a	4,01±0,0 ^a	3,95±0,01 ^{ab}
8.Hafta	3,94±0,07 ^a	4,03±0,05 ^a	4±0,01 ^a	3,98±0,01 ^{ab}
10. Hafta	3,94±0,03 ^a	4,02±0,04 ^a	4,±0,01 ^a	3,98±0,01 ^{ab}

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir ($p<0,05$).

Çizelge 4.15’de verilen meyveli içecek formülasyonlarının üretim öncesi ve sonrası 0.günden itibaren iki haftalık periyotlarda ölçülen pH değerlerinin değişimleri verilmiştir. Meyveli içeceklerin üretimi sırasında uygulanan pastörizasyon prosesi öncesi ve sonrasında ölçülen pH değerlerinin depolama süresi boyunca değişmediği görülmüştür.

Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama pH değerleri 3,92 ile 3,96 değerleri arasında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$).

Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama pH değerleri 3,98 ile 4,03 değerleri arasında değişmekte ve bu değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$).

Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama pH değerleri 4 ile 4,06 değerleri arasında değişmekte olup, bu değerler arasında istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P<0,05$).

Elmalı üzümlü içeceğin ise pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama pH değerleri 3,97 ile 4,01 aralığında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

Fenercioğlu ve Tüfekçinin (2010) yaptıkları çalışmada piyasada satışı sunulan elma, portakal ve üzüm sularının Türk Gıda Kodeksi ve meyve suyu standardına uygunluğunu araştırmıştır. Toplamda 16 örnek üzerinde çalışmalarını yürütmüşlerdir. Portakal suyu örneklerinde pH değeri 3,81-4,01, üzüm suyu örneklerinde pH değeri 3,72-4,03, elma suyu örneklerinde ise pH değeri 3,49-4,03 arasında bulunmuş olup standart hükmüne uygunluk sağladığı tespit etmiştir. Silva and Gibbs (2004), portakal sularına 95 °C'de 5 dakika süre ile pastörize işlemi uygulamıştır. Isıl işlem sonrası portakal sularının ortalama pH değerini 3,97 olduğunu belirtmiştir. 2 tekrarlı üretimi yapılan portakallı içecekler 95 °C'de 3-4 dakika süre aralığında ısıtılarak uygulanmıştır. Isıl işlem öncesi ve 10 haftalık depolama süresi boyunca pH değerleri 3,94 ile 3,96 aralığında değişmiştir. Elde edilen pH değerleri daha önceki yapılan benzer çalışmalarda elde edilen verilere benzer olduğu görülmüştür.

Kelebek vd. (2009), ısıtılarak işlem sonrası portakal suyunun antioksidan, fenolik madde, askorbik asit ve şeker miktarları üzerinde çalışmıştır. Portakal suyunun pH değerini $3,35 \pm 0,01$ olarak tespit edilmiştir.

Dani et al., (2007), yapmış olduğu çalışmada üzüm suyunun ısıtılarak işlem sonrasındaki pH değişimlerini incelemiştir. Isıl işlem sonrası ölçülen pH değerlerinin 3,21 ile 3,70 aralığında değiştiğini tespit etmiştir. Başka bir çalışma da ise ısıtılarak işlem uygulanan üzüm sularını farklı sıcaklıklarda (20, 30 ve 40 °C) 3 ay süre ile depolanmıştır. Beyaz üzüm sularına 65 °C'de 30 dakika süre ile tünel pastörizasyon prosesi uygulanmıştır. 20 °C'de depolanan üzüm sularının Depolama süresince elde edilen pH değerleri arasında istatistiksel açıdan fark bulunmuştur. Elde edilen verilerle dayanılarak depolama sıcaklığının pH değeri üzerinde etkili olduğu sonucuna varmıştır (Mert, 2010).

Komitopoulou et al., (1999) tarafından yapılan başka bir araştırmada portakal, greyfurt ve elma sularında bozulmaya sebep olan *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının yaklaşık 10^4 - 10^5 CFU/ml düzeyinde bulunduğu kötü koku oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu durumun oluşması meyve sularının pH değerlerinin 4'ten 3'e düşmesi ile D değerinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Bu etki 80 °C'de uygulanan ısıtılarak işlem (pH 3'te 32 dakika, pH 4'te ise

52 dakika) 95 °C'ye (pH 3'te 1.5 dakika ve pH 4'te 1.7 dakika) göre daha belirgin şekilde görülmüştür.

4.4. Briks Değeri Sonuçları

Meyveli içecek formülasyonlarından elde edilen toplam kuru madde tayinlerinin sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16. Depolama Süreci Boyunca Meyveli İçeceklere Ait Briks Değerleri.

Ürün Adı	Portakal İçecek	Portakal Üzümlü İçecek	Elmalı İçecek	Elmalı Üzümlü İçecek
Depolama Süresi				
Pastörizasyon Öncesi	11,07±0,12 ^a	13,55±0,35 ^a	10,98±0,18 ^a	13,63±0,18 ^a
0.Hafta	10,43±0,31 ^{ab}	13,55±0,57 ^a	10,93±0,04 ^a	13,5±0,0 ^a
2. Hafta	10,35±0,28 ^{ab}	13,7±0,21 ^a	11,03±0,04 ^a	13,78±0,18 ^a
4. Hafta	10,57±0,3 ^{ab}	13,63±0,39 ^a	11,18±0,25 ^a	13,15±0,64 ^a
6. Hafta	10,42±0,23 ^{ab}	13,63±0,46 ^a	10,98±0,04 ^a	13,6±0,0 ^a
8.Hafta	9,84±0,62 ^c	13,3±0,14 ^a	11,5±0,92 ^a	13,28±0,04 ^a
10. Hafta	9,84±0,09 ^{bc}	13,4±0,28 ^a	10,95±0,07 ^a	13,6±0,0 ^a

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir (p<0,05).

Çizelge 4.16'da görüldüğü gibi meyveli içeceklerin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen briks değerleri kıyaslanmıştır. Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta, 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama briks değerleri 9,84 ile 11,07; arasında değişmekte ve bu değerler arasında istatistiksel açıdan farklılık olduğu bulunmuştur (P<0,05).

Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta, 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama briks değerleri 13,3 ile 13,7 aralığında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta, 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama briks değerleri 10,95 ile 11,18 aralığında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

Elmalı üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama briks değerleri ise 13,15 ile 13,78 aralığında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

Depolama süreci boyunca meyveli içeceklerin briks değişimleri ‘‘portakallı içecek’’ haricinde stabil kaldığı saptanmıştır. Portakallı içeceklerin pektin içeriğinin depolama süresi boyunca sıcaklık ve sürenin etkisi ile parçalanması sebebiyle briks değerlerinde azalma meydana geldiği düşünülmektedir.

Suda çözünür kuru madde değerlerine bakıldığında, portakallı içekte depolama süresi boyunca az da olsa bir azalma meydana gelirken diğer meyveli içecek türlerinde herhangi bir değişim görülmemiştir.

Bull et al., (2004) yaptıkları çalışma pastörize edilmiş portakal suyunun kuru madde değerlerini araştırmıştır. Portakal suyunun briks değeri 9,0 °Bx olarak ölçmüştür. Benzer bir çalışmada ise ısıtılmış, pastörize edilmiş ve yüksek voltajlı elektrik alan uygulanmış (HIPEF) portakal sularının suda çözünür kuru madde değerleri incelenmiştir. İşlem görmemiş portakal suyunda % 11,8±0,1 °Bx, ısıtılmış pastörize edilmiş % 11,4±0,2, HIPEF uygulanmış da ise % 12,0±0,1 °Bx olarak ölçmüştür. Elde ettikleri sonuçlara göre uygulamalar arasında istatistiksel fark belirlememiştir.

Bu tez çalışmasında uygulanan ısıtılmış işlem görmüş portakallı içeceklerin briks değerleri 1,07 ile 9,84 °Bx aralığında değişmiş olup daha önce gerçekleştirilmiş olan bilimsel çalışmalara benzer değerler ölçüldüğü görülmüştür.

4.5. Ürünlerin Depolama Süresince Askorbik Asit İçeriğindeki Değişimleri

Üretim, işleme ve depolama süresi boyunca askorbik asit içeriğinde meydana gelecek kayıplar göz önünde bulundurularak her bir ürüne başlangıçta % 0,1 askorbik asit ilavesi yapılmıştır. Meyveli içecek formülasyonlarına askorbik asit ilavesi yapılmadan önceki Askorbik asit miktarları portakallı içecek için 19,25 mg/100 ml, portakal üzümlü içecek için 19,65 mg/100 ml, elmalı içecek için 0,79 mg/100ml, elma üzümlü İçecek için 0,39 mg/100ml olarak ölçülmüştür. Oda sıcaklığında (25±1 °C) depolanan meyveli içeceklerin askorbik asit değerleri Çizelge 4.17’de verilmiştir. Depolama süresince meydana gelen askorbik asit kayıp yüzdeleri ise Şekil 4.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.17. Depolama Süresi Boyunca Meyveli İçeceklerle Ait Askorbik Asit Değerleri (mg/100ml).

Depolama Süresi	Portakallı İçecek	Portakal Üzümlü İçecek	Elmalı İçecek	Elma Üzümlü
0. Hafta	104,5±0,4 ^a	113,56±4,72 ^a	81,39±0,1 ^a	85,12±0,46 ^a
2. Hafta	93,97±1,52 ^b	95,19±2,48 ^b	72,1±0,78 ^b	65,22±0,62 ^{bc}
4. Hafta	86,75±4,11 ^c	89,03±0,58 ^{bc}	63,66±3,15 ^c	64,48±0,93 ^{bc}
6. Hafta	77,81±0,41 ^d	88,07±0,47 ^d	61,54±1,51 ^{cd}	66,6±0,96 ^d
8. Hafta	74,1±0,64 ^{ef}	86,38±2,18 ^e	60,66±0,76 ^e	56,98±5,69 ^{ef}
10. Hafta	72,11±1,11 ^f	83,4±0,28 ^e	59,09±0,21 ^f	55,5±6,39 ^f

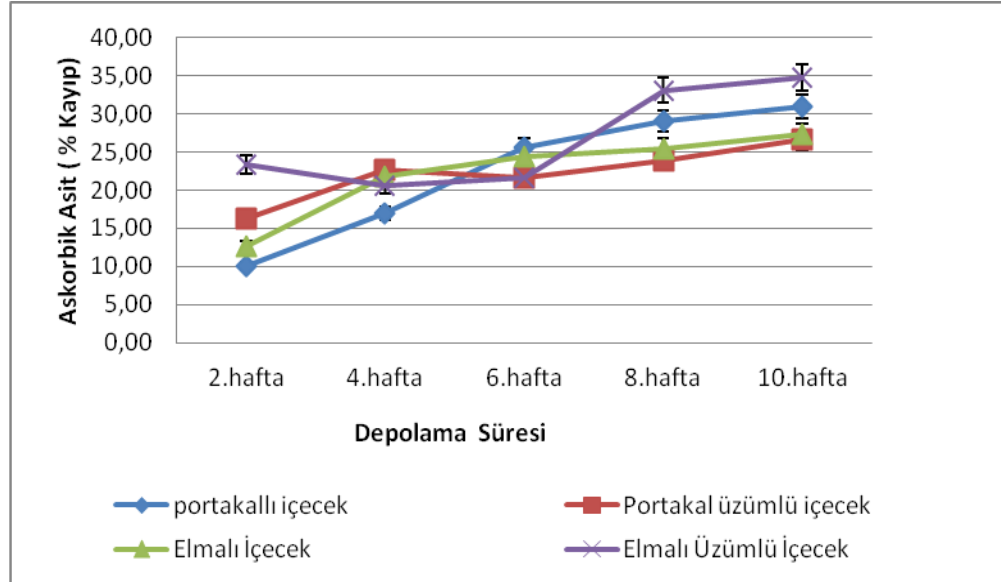
*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir (p<0,05).

Askorbik asit ilave edildikten sonra portakallı içeceğin askorbik asit içeriği 112,11 mg/100ml'dir. Isıl işlem sonrasında portakallı içeceğin askorbik asit içeriği 104,5 mg/100 ml olarak ölçülmüştür. 2. hafta, 4. hafta, 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta askorbik asit içerikleri 72,1 ile 93,97 mg/100 ml aralığında değişmiştir. Portakallı içeceğin askorbik asit değerlerindeki değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0,05).

Askorbik asit ilave edildikten sonra portakal üzümlü içeceğin askorbik asit içeriği 116,11 mg/100ml'dir. Isıl işlem sonrasında portakal üzümlü içeceğin askorbik asit içeriği 116,11 mg/100 ml olarak ölçülmüştür. 2. hafta, 4. hafta, 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta askorbik asit içerikleri 83,4 ile 95,19 mg/100 ml aralığında değiştiği belirlenmiştir. Portakal üzümlü içeceğin askorbik asit değerlerindeki değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0,05).

Askorbik asit ilave edildikten sonra elmalı içeceğin askorbik asit içeriği 84,06 mg/100ml'dir. Isıl işlem sonrasında elmalı içeceğin askorbik asit içeriği 81,39 mg/100 ml olarak ölçülmüştür. 2. hafta, 4. hafta, 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta askorbik asit içerikleri 59,09 ile 81,39 mg/100 ml arasında değişmiş olup askorbik asit değerlerindeki değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0,05).

Askorbik asit ilave edildikten sonra elma üzümlü içeceğin askorbik asit içeriği 85,5 mg/100ml'dir. Isıl işlem sonrasında elma üzümlü içeceğin askorbik asit içeriği 85,12 mg/100ml olarak ölçülmüştür. 2. hafta, 4. hafta, 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta askorbik asit içerikleri 55,5 ile 65,22 mg/100 ml olarak değişmiştir. Elma üzümlü içeceğin askorbik asit değerlerindeki değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$).



Şekil 4.1 Depolama Süresi Boyunca Askorbik Asit Kayıp Yüzdeleri.

Şekil 4.1'de görüldüğü gibi meyveli içecek formülasyonlarında pastörizasyon sonrası meydana gelen askorbik asit kayıpları gösterilmiştir. Portakallı içeceğin pastörizasyon işlemi öncesi askorbik asit miktarı 112,11 mg/100ml iken 95 °C'de 21-22 dakikalık pastörizasyon uygulaması sonrası bu değer 104,5 mg/100ml değerine düşmüş olup, yüzde askorbik asit kaybı % 6,79 olarak hesaplanmıştır. 0.haftada ölçülen askorbik asit değerine göre 2. hafta depolama süresi sonunda % 10,08, 4. hafta depolama süresi sonunda % 16,99, 6. hafta depolama süresi sonunda % 25,54, 8. hafta depolama süresi sonunda % 29,07, 10. hafta depolama süresi sonunda % 31 oranında askorbik asit kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon işlemi öncesi askorbik asit miktarı 116,11 mg/100ml 92 °C'de 18-24 dakikalık pastörizasyon uygulaması sonrası bu değer 113,56 değerine azalmış olup, yüzde askorbik asit kaybı % 2,20 olarak hesaplanmıştır. 0.haftada ölçülen askorbik asit değerine göre 2. hafta depolama süresi sonunda %16,18, 4. hafta depolama süresi sonunda %22,60, 6. hafta depolama süresi sonunda % 21,60, 8. hafta depolama süresi sonunda % 23,93, 10.

hafta depolama süresi sonunda % 26,56 oranında askorbik asit kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Elmalı içeceğin pastörizasyon işlemi öncesi askorbik asit değeri 84,06 iken 95 °C'de 20-23 dakikalık pastörizasyon uygulaması sonrası bu değer 81,39 değerine düşmüş olup, yüzde askorbik asit kaybı % 3,18 olarak hesaplanmıştır. 0.haftada ölçülen askorbik asit değerine göre 2. hafta depolama süresi sonunda % 12,64, 4. hafta depolama süresi sonunda % 21,78, 6. hafta depolama süresi sonunda % 24,39, 8. hafta depolama süresi sonunda % 25,47, 10. hafta depolama süresi sonunda % 27,40 oranında askorbik asit kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Elma üzümlü içeceğin pastörizasyon işlemi öncesi askorbik asit değeri 85,5 iken 95°C'de 23-32 dakikalık pastörizasyon uygulaması sonrası bu değer 85,12 değerine düşmüş olup, yüzde askorbik asit kaybı % 0,44 olarak hesaplanmıştır. 0.haftada ölçülen askorbik asit değerine göre 2. hafta depolama süresi sonunda % 23,38, 4. hafta depolama süresi sonunda % 20,62, 6. hafta depolama süresi sonunda % 21,69, 8. hafta depolama süresi sonunda % 33,06, 10. hafta depolama süresi sonunda % 34,80 oranında askorbik asit kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Klimczak et al. (2007), markette yer alan iki farklı firmaya ait portakal suyunun askorbik asit içeriğini 408.5 ± 0.9 ve 361.5 ± 1.8 mg/l olarak bulmuşlardır. DPPH denemesinde, portakal suyunun antioksidan aktivitesi % 49.2 ± 0.4 ve % 47.5 ± 0.3 olarak belirlenmiştir. Daha yüksek askorbik asit ve fenolik bileşik konsantrasyonları içeren portakal suyunun daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Askorbik asit ısı, ışık, oksijen gibi dış faktörlere karşı çok duyarlı olduğu bilinmektedir. Isıl işlemin portakal sularındaki askorbik asit içeriği üzerine etkinliği incelendiği bir çalışmada ısıl işlem sonrası kaybının % 0,83 olduğu bulunmuştur. Taze sıkılmış ve pastörize edilmiş portakal sularını 24 ay, -23 °C'de depolanmıştır. Askorbik asit değeri depolama başlangıcında 40,6 mg/100 ml iken 24 aylık depolama periyodu sonrasında 32,8 mg/100ml'ye azalmış olup % 19,2 oranında askorbik asit kaybı görülmüştür (Lee and Coates, 1999). Depolama sıcaklığı ve süresinin portakal sularının askorbik asit içerikleri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu kapsamda Plaza et et al., (2005), portakal sularını 70 °C'de 30 saniye süre ile uygulanan pastörizasyon işlemi uygulandıktan sonra 4 °C'de 40 güne kadar depolayıp farklı süre aralıklarında askorbik asit değerleri ölçülmüştür. 0.günden 40'ı güne kadar geçen zaman aralığında % 23,83 oranında askorbik asit kaybı olduğu görülmüştür. Burdurlu vd. (2005), yaptığı benzer bir çalışma ise portakal suyu konsantrasyonlarını farklı sıcaklıklarda (28, 37 ve 45°C) depolayarak

askorbik asit kayıplarını ölçülmüşlerdir. 8 haftalık depolama süresi boyunca her bir depolama sıcaklığı için Askorbik asit değişiminin birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiğini gösterdiği vurgulanmıştır. 28, 37 ve 45 °C’de depolanan portakal suyu konsantreleri depolama süresi sonunda meydana gelen azalış yaklaşık olarak % 54.5–83.7, % 23.6–27 ve % 15.1–20.0 olarak bulunmuştur.

Kelebek vd. (2009), ısıtma işlemi sonrası portakal suyunun antioksidan, fenolik madde, askorbik asit ve şeker miktarları üzerinde çalışmıştır. Portakal suyunun askorbik asit değeri $0,49 \pm 0,01$ g/l olarak tespit edilmiştir.

Polydera et al., (2005) yüksek basınç uygulamalarının ısıtma işlemiyle pastörize edilmiş portakal suyuyla karşılaştırıldığında daha üstün duyuşal karaktere sahip olduğu açıklamıştır. 5 °C sıcaklıkta 1 aylık depolama sonunda yüksek basınçta pastörize edilmiş portakal suyunda askorbik asit korunumu % 84 iken, geleneksel olarak pastörize edilmiş portakal suyundaki askorbik asit korunumunun % 72 olduğu ifade edilmiştir.

Özyurt (2013) yaptığı araştırmada 4 , 22 ve 30 °C’de depolanan karışık meyve nektarı örnekleri kullanmıştır. Bu örneklerde bulunan askorbik asidin sıcaklık ve süreye bağılı değişimini araştırılmıştır. Karışık meyve suyu ürününün başlangıç askorbik asit içeriğı 52,64 mg/100ml’dir. 4 °C’de depolanan örnekler 9 ay, diğere örnekler ise 11 ay depolanmıştır ve bu örneklerin askorbik asit içeriğı sırasıyla 16,09, 24,48, 1,43 mg/100 ml’ye azalmıştır. Kinetik veriler, karışık meyve nektarındaki askorbik asit değişiminin birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiğini, en düşük reaksiyon hızının 22 °C’de olduğunu saptanmıştır. Bu araştırma sonucunda, meyve konsantresindeki askorbik asit kayıplarını en aza indirmek için depolama sırasında sıcaklığın 22 °C olması gerektiğı tespit edilmiştir.

Sarıtaş (2009) yaptığı çalışmada meyve suyu işletmesinden sağlanan ticari ve 72 °Bx değerine sahip olan elma suyu konsantresi sulandırılarak kuru maddesi 11 °Bx olan berrak elma suyu hazırlamış ve şişelenip pastörize etmiştir. Pastörizasyon işlemi bu araştırmanın birinci bölümünde belirlenen termal ölüm sürelerinden yararlanılarak 96 °C için saptanan sürelerde gerçekleştirmiştir. Bu durumda berrak elma suyu 16 dakika, 250 mg/l askorbik asit içeren berrak elma suyu 11 dakika, 500 mg/L askorbik asit içeren berrak elma suyu 8 dakika süreyle pastörize edilmiştir. Bu örnekler 3’er paralel halinde 0, 5 ve 10 gün buzdolabı

sıcaklığında (+4 °C) ve 1, 2 ve 3 ay oda sıcaklığında (25±1 °C) depolanmıştır. Örneklerin hiçbirinde *Alicyclobasillus acidoterrestris* gelişimi gözlenmemiştir. Askorbik asit miktarının *Alicyclobasillus acidoterrestris* gelişimini engellediği belirtilmiştir.

4.6. Protein Tayini Sonuçları

Meyveli içecek formülasyonlarına kolajen hidrolizat ile zenginleştirme işlemi yapılmadan önceki protein miktarı portakallı içecek için 0,58±0,003g/100ml, portakal üzümlü içecek için 0,59±0,003g/100ml, elmalı içecek için 0,55±0,009g/100ml, elma üzümlü içecek için 0,56±0,01 g/100 ml'dir. Her bir meyveli içecek formülasyonuna % 2,5 oranında kolajen hidrolizat ile zenginleştirme yapılmıştır. 25±1 °C sıcaklıkta depolanan meyveli içeceklere ait protein tayini sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri Çizelge 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.18. Meyveli İçeceklerin Protein İçerikleri (g/100ml).

Depolama Süresi	Portakallı İçecek	Portakal Üzümlü İçecek	Elmalı İçecek	Elmalı Üzümlü İçecek
Pastörizasyon Öncesi	2,42±0,01 ^a	2,22±0,06 ^a	2,48±0,01 ^{ab}	2,39±0,04 ^a
0. hafta	2,42±0,05 ^a	2,39±0,15 ^b	2,44±0,13 ^a	2,39±0,06 ^a
2.hafta	2,45±0,02 ^a	2,40±0,02 ^b	2,54±0,06 ^b	2,42±0,01 ^b
4.hafta	2,44±0,01 ^a	2,42±0,01 ^b	2,47±0,04 ^a	2,45±0,02 ^b
6.hafta	2,43±0,01 ^a	2,41±0,01 ^b	2,45±0,01 ^a	2,45±0,01 ^b
8.hafta	2,45±0,01 ^a	2,42±0,04 ^a	2,46±0,01 ^a	2,45±0,01 ^b
10.hafta	2,44±0,01 ^a	2,39±0,06 ^b	2,51±0,01 ^{ab}	2,47±0,01 ^b

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir (p<0,05).

Meyveli içeceklerin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen protein içerikleri Çizelge 4.18'de verilmiştir. Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama protein değerleri 2,42 ile 2,45 aralığında değişmekte olup bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

Portakal üzümlü ieeğın pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama protein değerleri 2,22 ile 2,42 g/100ml değerleri arasında değişmiştir. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

Elmalı ieeğın pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama protein değerleri 2,44 ile 2,54 g/100ml aralığında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

Elma üzümlü ieeğın pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama protein değerleri 2,39 ile 2,47 g/100ml değerleri arasında değişmiştir. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$).

Genel olarak tüm ieeklere uygulanan ısıl işlemin ürünlerin protein içeriğinde herhangi bir değişime neden olmadığı görülmüştür. Meyveli ieeklere eklenmiş olan kolajen hidrolizatına bağlı olarak belirlenen protein içerikleri depolama süresi boyunca stabil kalmıştır. Rousselot (2007), firmasının yaptığı araştırma sonucuna göre kolajen hidrolizatının protein içeriğinin sıcaklıkla herhangi bir değişime uğramadığı belirlenmiş olup Peptan markalı bu ürünün en az % 97 oranında protein içeriğine ve yüksek çözünlüğüne sahip bir bioaktif bir bileşen olduğunu bulgulanmıştır.

4.7. Kolajen, İn Vitro Kolajen ve Biyoyararlılık Tayini Sonuçları

Meyveli ieeklere ait kolajen miktarı (%), in vivo kolajen miktarı (%) ve biyoyararlılık (%) sonuçları portakallı ieek için Çizelge 4.19'da, portakal üzümlü ieeğın Çizelge 4.20'de, elmalı ieeğın Çizelge 4.21'de ve elma üzümlü ieek için Çizelge 4.22'de verilmiştir.

% 2,5 kolajen hidrolizat konsantrasyonu ile zenginleştirilen meyveli ieeklere pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca uygulanan in vitro sindirilirlik sonucunda elde edilen diyalizatta bulunan kolajen miktarı değerleri in vitro kolajen miktarı olarak belirtilmiştir.

Meyveli ieeğe uygulanan in vitro sindirilirlik sonucunda elde edilen diyalizattaki kolajen miktarının toplam kolajen miktarına oranı kolajen hidrolizatının biyoyararlığı olarak hesaplanmış olup ‘‘% Biyoyararlılık’’ olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.19 Portakallı İçecekte Kolajen Miktarı, In Vitro Kolajen Miktarı ve Biyoyararlılık Analiz Sonuçları.

Depolama Süresi	Kolajen Miktarı (%)	İn Vitro Kolajen Miktarı %	Biyoyararlılık %
Pastörizasyon Öncesi	2,18±0,08 ^a	2,08±0,13 ^{ab}	95,37±2,13 ^a
0. hafta	2,27±0,08 ^a	2,08±0,1 ^{ab}	91,78±7,79 ^a
2.hafta	2,19±0,11 ^a	1,99±0,06 ^a	90,69±1,78 ^a
4.hafta	2,43±0,15 ^a	2,05±0,06 ^{ab}	84,62±2,85 ^a
6.hafta	2,41±0,07 ^a	2,22±0,19 ^b	92,2±5,64 ^a
8.hafta	2,29±0,02 ^a	1,99±0,022 ^a	86,88±1,73 ^a
10.hafta	2,43±0,2 ^a	2,15±0,01 ^{ab}	88,8±7,81 ^a

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir ($p<0,05$).

Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama kolajen miktarı değerleri % 2,18 ile 2,43 değerleri arasında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$).

Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen in vitro sindirilirlik sonrası ortalama kolajen miktarı değerleri % 1,99 ile 2,15 arasında değişmiştir. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$).

Portakallı içeceğin kolajen hidrolizat biyoyararlılığı pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca elde edilen kolajen hidrolizat biyoyararlılığı değerleri % 88,8 ile 95,97 aralığında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$).

Çizelge 4.20 Portakal Üzümlü İçeceklerde Kolajen Miktarı, In Vitro Kolajen Miktarı ve Biyoyararlılık Analiz Sonuçları.

Depolama Süresi	Kolajen miktarı (%)	İn vitro kolajen miktarı (%)	Biyoyararlılık (%)
Pastörizasyon Öncesi	2,16±0,07 ^{ab}	1,92±0,13 ^{ab}	89,03±8,81 ^a
0. hafta	2,07±0,07 ^a	1,86±0,04 ^a	83,38±0,57 ^a
2.hafta	2,47±0,02 ^c	2,09±0,07 ^{cd}	89,35±7,09 ^a
4.hafta	2,41±0,11 ^c	2,05±0,01 ^{bcd}	85,14±3,41 ^a
6.hafta	2,47±0,03 ^c	2,04±0,01 ^{bc}	84,47±2,28 ^a
8.hafta	2,41±0,06 ^c	2,15±0,03 ^{cd}	89,41±1,19 ^a
10.hafta	2,34±0,015 ^{bc}	2,2±0,05 ^d	94,02±2,97 ^a

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir (p<0,05).

Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama kolajen miktarı değerleri % 2,07 ile 2,47 aralığında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen in vitro sindirilirlik sonrası ortalama kolajen miktarı değerleri % 1,86 ile 2,2 değerleri arasında değişmiştir. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur (P<0,05).

Portakal üzümlü içeceğin kolajen hidrolizat biyoyararlılığı pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca elde edilen kolajen hidrolizat biyoyararlılığı değerleri % 83,38 ile 94,02 değerler aralığında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

Çizelge 4.21Elmalı İçecekte Kolajen Miktarı, In Vitro Kolajen Miktarı ve Biyoyararlılık Analiz Sonuçları.

Depolama Süresi	Kolajen miktarı (%)	İn vitro kolajen miktarı (%)	Biyoyararlılık (%)
Pastörizasyon Öncesi	1,9±0,07 ^a	1,79±0,04 ^a	94,49±,22 ^a
0. hafta	2,05±0,05 ^{ab}	1,86±0,05 ^{ab}	90,71±0,22 ^{ab}
2.hafta	2,43±0,05 ^{cd}	2,09±0,05 ^c	86,02±3,8 ^{bc}
4.hafta	2,51±0,03 ^d	2,03±0,01 ^c	80,87±0,78 ^c
6.hafta	2,4±0,1 ^{bc}	2,02±0,04 ^{bc}	90,24±1,85 ^{ad}
8.hafta	2,45±0,18 ^d	2,12±0,13 ^c	86,75±1,07 ^{cb}
10.hafta	2,43±0,13 ^{cd}	2,13±0,01 ^c	87,77±4,6 ^b

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir ($p<0,05$).

Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama kolajen miktarı değerleri % 1,9 ile 2,51 aralığında değişmiştir. Bu değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$).

Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen in vitro sindirilirlik sonrası ortalama kolajen miktarı değerleri sırasıyla % 1,79 ile 2,13 değerleri arasında değişmiş olup, bu değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$).

Elmalı içeceğin kolajen hidrolizat biyoyararlılığı pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca elde edilen kolajen hidrolizat biyoyararlılığı değerleri sırasıyla % 80,87 ile 94,49 değerleri aralığında değişmiştir. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$).

Meyveli içeceklerin kolajen miktarlarının depolama süresi boyunca değişmediği görülmüştür. Bu durum kolajen hidrolizatının ısı işlem, sıcaklık, ışık, oksidasyon gibi dış etkenler ile etkileşime girmediğinin göstergesidir.

Biyoyararlılık sonuçları incelendiğinde meyveli içecek gruplarının biyoyararlılık değerlerinin % 83,38 ile % 95,37 aralığında değiştiği görülmektedir. Rousselot (2007), firmasının yapmış olduğu çalışmada kolajen hidrolizat proteini üzerinde in vitro method kullanılarak kolajen hidrolizatın biyoyararlılık değeri

tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda biyoyararlılık değerinin en az %90 olduğunu belirtilmiştir.

Çizelge 4.22 Elma Üzümlü İçeceklerde Kolajen Miktarı, In Vitro Kolajen Miktarı ve Biyoyararlılık Analiz Sonuçları.

Depolama Süresi	Kolajen miktarı (%)	İn vitro kolajen miktarı (%)	Biyoyararlılık (%)
Pastörizasyon Öncesi	2,19±0,42 ^a	2,12±0,02 ^a	98,5±17,83 ^a
0. hafta	2,19±0,14 ^a	1,89±0,1 ^b	86,34±1,05 ^{ab}
2.hafta	2,56±0,04 ^a	2,04±0,16 ^{ab}	79,7±1,32 ^b
4.hafta	2,48±0,05 ^a	2,01±0,01 ^{ab}	81,21±0,66 ^{ab}
6.hafta	2,53±0,04 ^a	2,04±0,02 ^{ab}	80,78±1,11 ^b
8.hafta	2,36±0,03 ^a	2,08±0,02 ^{ab}	81,21±0,66 ^{ab}
10.hafta	2,48±0,01 ^a	2,02±0,07 ^{ab}	81,96±3,1 ^{ab}

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir (p<0,05).

Elma üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama kolajen miktarı değerleri % 2,19 ile 2,53 aralığında değişmiş olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

Elma üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen in vitro sindirilirlik sonrası ortalama kolajen miktarı değerleri % 1,89 ile 2,12 aralığında değişmiştir. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

Kolajen hidrolizat biyoyararlılığı pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca elde edilen kolajen hidrolizat biyoyararlılığı değerleri % 79,7 ile 98,5 değerleri arasında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

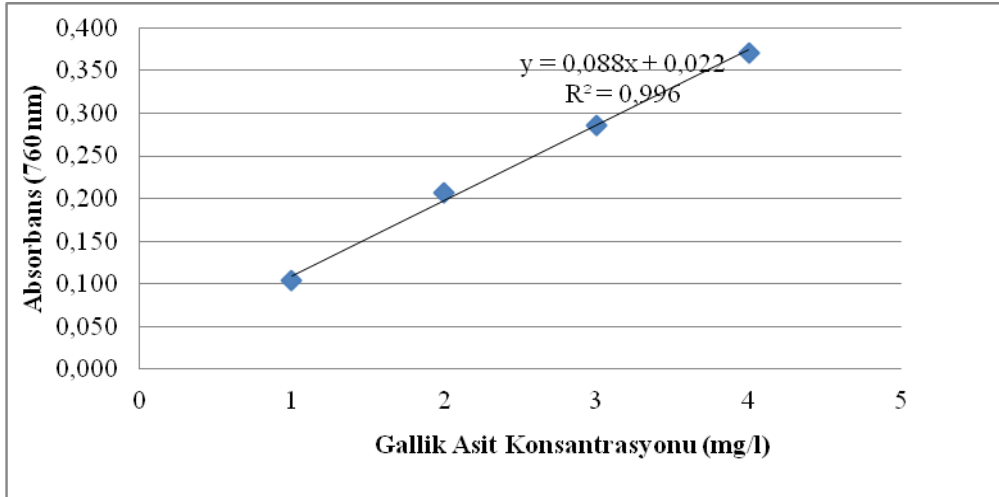
Nagler et al. (2000), askorbik asitin kolajen sentezi üzerinde etkilidir. Askorbik asit kolajen sentezi sırasında prolin ve lizin'in hidroksillenmesini sağlayarak hidroksprolin ve hidrokstilizine dönüşmesini sağladığını, kolajen molekülünün heliks şeklini alabilmesi için, yeni sentezlenen kolajenin prolin ve lizin artıklarının hidroksillenmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Çalışmanın amacı yüksek doz askorbik asitin uygulama süresine bağlı olarak sıçanlarda kornea, trakea, deri ve böbreküstü bezinde bulunan kolajen lif tabakalarına etkisini

morfolometrik incelemektir. Bu amaçla, sıçanlara 150 mg/gün aşırı 3, 10 ve 21 günler halinde askorbik asit, kontrol gruplarına ise aynı doz serum fizyolojik uygulanmıştır. 3.10 ve 21 günlük kontrol ve askorbik asit uygulanan sıçanlara ait deri, kornea, trakea ve böbreüstü bezi kesitlerinde organ kapsülüne ait morfolometrik ölçümler yapılmıştır. Yapılan testler sonucunda kontrol ve askorbik asit uygulanan gruplar ile uygulama süreleri arasında anlamlı fark olduğu askorbik asitin kolajen sentezini artırdığını saptanmıştır.

Literatürde kolajen hidrolizat ile zenginleştirilmiş meyveli içecekler ile ilgili benzer bir çalışma yapılmamıştır.

4.8. Fenolik Madde Miktarı

Meyveli içecek örneklerinin toplam fenolik madde miktarı, spektrofotometrik yöntem ile analiz edilmiş ve gallik asit kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisi Şekil 4.2’de belirtilmiştir.



Şekil 4.2. Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi.

Pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca elde edilen toplam fenolik madde miktarı sonuçları Çizelge 4.23’de verilmiştir.

Çizelge 4.23. Meyveli İçeceklere Ait Toplam Fenolik Madde İçerikleri (mg/100g).

Depolama Süresi	Portakallı İçecek	Portakal Üzümlü İçecek	Elmalı İçecek	Elma Üzümlü İçecek
Pastörizasyon Öncesi	86,03±0,74 ^a	114,9±0,54 ^a	87,56±0,27 ^a	117,43±1,07 ^a
0. hafta	82,29±0,27 ^{ab}	110,96±2,37 ^{ab}	87,06±0,23 ^a	112,69±3,21 ^{ab}
2.hafta	79,74±1,87 ^{abc}	106,06±1,07 ^{ab}	84,03±5,09 ^a	111,18±2,41 ^b
4.hafta	76,52±6,97 ^{bc}	100,63±4,82 ^{ab}	81,63±1,7 ^a	89,9±018 ^c
6.hafta	72,54±1,87 ^{ac}	100,82±17,76 ^{ab}	69,07±4,65 ^b	79,74±2,95 ^b
8.hafta	72,22±1,8 ^{ac}	99,73±1,05 ^{ab}	67,74±2,94 ^b	77,4±2,32 ^b
10.hafta	67,05±3,39 ^a	94,41±0,74 ^b	62,28±1,56 ^b	65,48±1,54 ^a

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir (p<0,05).

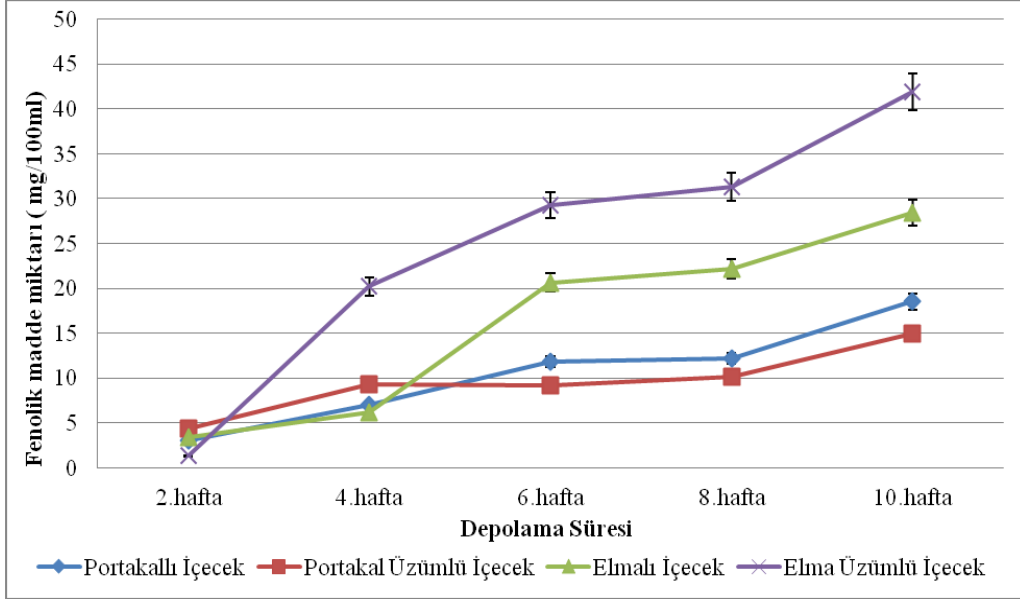
Meyveli içeceklerin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen toplam fenolik madde değerleri Çizelge 4.23'te verilmiştir. Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen fenolik madde miktarları 67,05 ile 86,03 mg/100 ml değerleri arasında değişmekte olup, bu değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0,05).

Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen toplam fenolik madde değerleri 94,41 ile 114,9 mg/100ml değerleri arasında değişmektedir. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen fenolik madde miktarları 62,28 ile 87,06 mg/100ml değerleri arasında olup, bu değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0,05).

Elma üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen toplam fenolik madde değerleri sırasıyla 65,48 ile 117,43 mg/100ml değerleri arasında değişmiştir. Bu değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge 4.23’de görüleceği gibi portakallı, elma ve elma üzümlü içeceklerde fenolik madde miktarı pastörizasyon ile değişim gösterirken portakal üzümlü içecekte böyle bir değişim görülmemiştir. Pastörizasyon işlemi sonrasında portakallı içecekte % 4,35, portakal üzümlü içecekte % 3,43, elmalı içecekte % 0,57, elma üzümlü içecekte % 4,04 oranında azalma meydana gelmiştir. Depolama süresince meydana gelen fenolik madde miktarı kayıp yüzdeleri Şekil 4.3’de belirtilmiştir.



Şekil 4.3. Depolama Süresi Boyunca Fenolik Madde Miktarı Kayıpları (%).

Şekil 4.3’de görüldüğü gibi meyveli içeceklerin pastörizasyon sonrası meydana gelen fenolik madde miktarı kayıpları gösterilmiştir. Portakallı içecekte depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 3,1, 4. hafta depolama süresi sonunda % 7,01, 6. hafta depolama süresi sonunda % 11,84, 8. hafta depolama süresi sonunda % 12,24, 10. hafta depolama süresi sonunda % 18,52 oranında fenolik madde kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Portakal üzümlü içecekte depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 4,42, 4. hafta depolama süresi sonunda % 9,31, 6. hafta depolama süresi sonunda % 9,14, 8. hafta depolama süresi sonunda % 10,12, 10. hafta depolama süresi sonunda % 14,92 oranında fenolik madde kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Elmalı içecekte depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 3,48, 4. hafta depolama süresi sonunda % 6,24, 6. hafta depolama süresi sonunda % 20,7, 8. hafta depolama süresi sonunda % 22,19, 10. hafta depolama süresi sonunda % 28,46 oranında fenolik madde kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Elma üzümlü içeceklerde depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 1,34 4. hafta depolama süresi sonunda % 20,22, 6. hafta depolama süresi sonunda % 29,24, 8. hafta depolama süresi sonunda % 31,32, 10. hafta depolama süresi sonunda % 41,89 oranında fenolik madde kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Pastörizasyon işleminin meyveli içeceklere üzerinde etkisi incelendiğinden tüm meyveli içecek örneklerinde fenolik madde miktarının azaldığı görülmüştür

Stealla vd, (2011) Brezilyada yaptığı bir çalışma ısı işlem sonrası portakal suyu ve portakal nektarlarının antioksidan kapasitelerini ölçmüşlerdir. Süpermarketlerden alınan 4 farklı ürün 3 tekrarlı olarak çalışılmış olup portakal sularında toplam antioksidan kapasite değerlerinin 52,52 ile 19,68 mg/100 arasında, portakal nektarında ise 6 farklı ürün 3 tekrarlı olarak çalışılmış olup 54,20 ile 26,34 mg/100 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Tokgöz (2010), yaptıkları çalışmada portakal suyu örneklerinin toplam fenolik madde içeriği üzerine depolama sıcaklığı, pH ayarlaması ve depolama süresinin önemli etkisi gözlemlenmiştir. Portakal suyunun pastörizasyonu plakalı ısı değiştiricide 90°C'de 90 saniye ısı işlem uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen meyve suyunun pH değeri 3, 3,25 ve 3,50 olmak üzere 3 farklı sitrik asit ile ayarlanmıştır. pH değeri 3, 3,25 ve 3,5 olarak ayarlanmış oda sıcaklığında depolanan portakal sularının 4 ay depolama sonunda pH değerleri sırasıyla 3,20, 3,41 ve 3,68, 6 °C'de 10 ay süre ile depolandığı takdirde pH değerindeki değişim sırasıyla 3,18, 3,38 ve 3,60'dır. Oda sıcaklığında depolanan 3,0 pH değerine sahip portakal sularının depolama başlangıcında 1187 mg/l olan toplam fenolik madde miktarı, 4 ay depolama periyodu sonunda ortalama 882 mg/l'ye 3,25 pH'da 1200 mg/l'den 867 mg/l'ye, 3,5 pH değerinde ise 1204 mg/l'den 845 mg/l değerine düşmüştür. 6 °C'de depolanan ürünlerde ise 3,0 pH'da depolama başlangıcında 1187 mg/l olan toplam fenolik madde miktarı, 10 ay depolama periyodu sonunda ortalama 843 mg/l'ye 3,25 pH'da 1200 mg/l'den 838 mg/l'ye, 3,5 pH değerinde ise 1204 mg/l'den 835 mg/l değerine azaldığı bulunmuştur.

Genova et al. (2011), depolama süresi ve sıcaklık faktörlerinin beyaz üzüm suyunun fenolik madde miktarı üzerinde etkisi konusunda çalışma yapmışlardır. Hasat edilen beyaz üzümler 4 °C'de depolandıktan sonra ekstrakte edilerek ev yapımı beyaz üzüm suyu elde edilmiştir. Elde edilen beyaz üzüm suyu 4 ve -20 °C'de depolanmıştır. 24 saat ve 2 hafta depolama sonrasında antioksidan kapasitesi ve fenolik madde miktarı ölçülmüştür. 24 saat depolama sonrasında 4 °C'de fenolik madde içeriği 323,3±92,7 mg GAE/l, -20 °C'de ise bu değer

358,3±63 mg GAE/l olarak ölçülmüştür. 2 haftalık depolama süresi sonunda 4 °C'de fenolik madde içeriği 287,1±63,5 mg GAE/l, -20 °C'de ise bu değer 349,9±69,6 mg GAE/l olarak tespit edilmiştir.

Xu et al.,(2008), Çin'in on beş turunçgil çeşidinden (yedi tane mandalin, dört tatlı portakal, bir limon, bir greyfurt ve iki pomelo) elde edilen meyve sularının başlıca kalite parametreleri, toplam karotenoidler, fenolik bileşikler (toplam fenolikler, flavanon glikozitler (FG) ve fenolik asitler) üzerinde araştırma yapmışlardır. Portakal suyunda Folin-Ciocalteu yöntemine göre elde ettikleri toplam fenolik madde içeriğini 1499.71±16.53 mgGAE/l olarak belirlenmiştir.

Kelebek vd. (2009), ısıl işlem sonrası portakal suyunun antioksidan, fenolik madde, askorbik asit ve şeker miktarları üzerinde çalışmışlardır. Portakal suyunun fenolik madde miktarını 317,36 mg/l olarak tespit edilmiştir.

Burin et al.,(2010) yaptıkları çalışmada ev yapımı ve ticari beyaz üzüm sularının toplam fenolik madde miktarlarını araştırmışlardır. Ev yapımı beyaz üzüm sularında 235,09±10,13 ile 2509,06±18,26 mg/l arasında, ticari beyaz üzüm sularında ise 1117,10±4,38 ile 3433,04±4,99 mg/l değerleri arasında değiştiğini belirtmiştir.

Klopotek et al. (2005) meyve suyu ve nektar üretimi işlemlerinin fenolik madde ve hidrofilik antioksidan kapasitesi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında işlem basamaklarından pastörizasyon, püre haline getirme, mayşeleme, nektar ve şarap üretimi sırasında toplam fenolik madde miktarında azalmalar olduğunu tespit etmişlerdir. Toplam fenolik madde içeriği için pastörizasyon işlemi sonrasında % 27, nektar, mayşeleme, püre haline getirme % 30 ve şarap yapımı % 47 azalmayla sonuçlanmıştır.

Karadeniz ve Ekşi (2001), klasik yöntemle hazırlanan elma sularından her bir proses aşamasından önce ve sonra fenolik bileşik kompozisyonu araştırılmıştır. Oda sıcaklığında depolanan elma suları 3 ve 10.ayında fenolik madde analizi yapılmış olup, 10 ay depolama sonrasında fenolik madde bileşiklerde en fazla kayıp % 33 olarak sonuçlanmıştır.

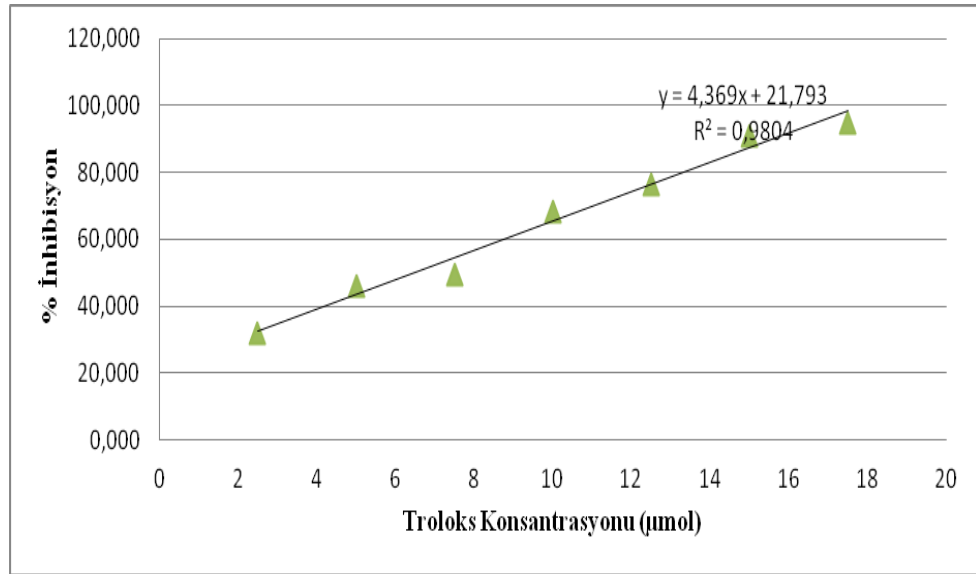
Çapanoğlu vd. (2012) üzüm meyvesinden konsantre işledikten sonra toplam fenolik madde miktarı % 60,2 düzeyinde artmış ve konsantrede 1736,1±204,5 mg GAE/100 g kuru madde düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir. Gollüche et al., (2009) yaptığı benzer bir çalışmada ise üzüm suyu konsantresinde toplam fenolik

madde miktarı iki farklı üzüm türü için 1428,9 ile 2587,6 mg GAE/L olarak belirlenmiştir.

4.9. Antioksidan Kapasitesi Değerleri

4.9.1. ABTS değerleri

Şekil 4.4’de meyveli içecek örneklerinde antioksidan kapasitesi tayininde kullanılmak üzere hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi verilmektedir. Meyveli içecek örneklerinin başlangıç antioksidan kapasite değerleri farklı olduğu için her bir ürün grubu kendi içinde değerlendirilmiştir.



Şekil 4.4. Troloks Kalibrasyon Eğrisi.

Pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca meyveli içecek örneklerinin Antioksidan kapasitesinin ifade eden ABTS (TEAC) değerleri Çizelge 4.24’de, depolama süresince meydana gelen antioksidan aktivitede kayıp yüzdeleri Şekil 4.5’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.24. Meyveli İçeceklerin Toplam Antioksidan Aktivitesi Sonuçları.

Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol TEAC /ml}$)				
Depolama Süresi	Portakallı İçecek	Portakal Üzümlü İçecek	Elmalı İçecek	Elma Üzümlü İçecek
Pastörizasyon Öncesi	1,14 \pm 0,23 ^a	1,04 \pm 0,15 ^{ab}	1,27 \pm 0,29 ^a	1,05 \pm 0,13 ^{ab}
0. hafta	1,12 \pm 0,11 ^b	1,03 \pm 0,22 ^b	0,99 \pm 0,01 ^{ab}	1,02 \pm 0,01 ^{ab}
2.hafta	1,08 \pm 0,03 ^a	0,97 \pm 0,02 ^{cd}	0,97 \pm 0,24 ^{ab}	1,01 \pm 0,12 ^b
4.hafta	0,78 \pm 0,1 ^b	0,90 \pm 0,02 ^{bc}	0,87 \pm 0,14 ^a	0,9 \pm 0,03 ^{da}
6.hafta	0,74 \pm 0,1 ^b	0,9 \pm 0,08 ^{bc}	0,84 \pm 0,19 ^a	0,82 \pm 0,03 ^d
8.hafta	0,72 \pm 0,02 ^b	0,82 \pm 0,02 ^{ab}	0,83 \pm 0,07 ^a	0,78 \pm 0,1 ^d
10.hafta	0,7 \pm 0,06 ^b	0,78 \pm 0,05 ^a	0,88 \pm 0,08 ^a	0,5 \pm 0,03 ^c

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir ($p<0,05$).

Meyveli içeceklerin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen antioksidan aktivite (ABTS) değerleri Çizelge 4.24'de verilmiştir. Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ABTS değerleri 0,7 ile 1,14 $\mu\text{mol TEAC/ml}$ değerleri arasında değişmiş olup, bu değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ABTS değerleri 0,78 ile 1,04 $\mu\text{mol TEAC/ml}$ değerleri arasında değişmiştir. Bu değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

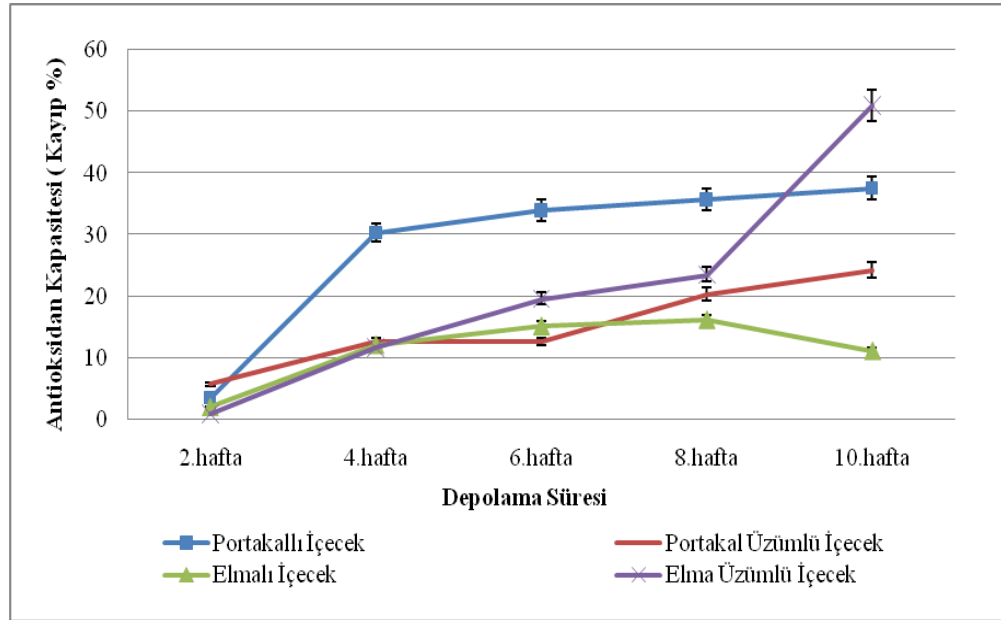
Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ABTS değerleri 0,83 ile 1,27 $\mu\text{mol TEAC/ml}$ değerleri arasında değişmekte olup, bu değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Elma üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ABTS değerleri 0,78

ile 1,05 $\mu\text{mol TEAC/ml}$ değer aralığında değişmekte olup, bu değişimler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Çizelge 4.24’de görüleceği gibi portakallı, portakal üzümlü ve elma üzümlü içeceklerde antioksidan aktivite pastörizasyon ile değişim gösterirken elmalı içekte böyle bir değişim görülmemiştir.

Pastörizasyon işleminin sonrasında meyveli içeceklerin antioksidan değerlerinde bir miktar azalma saptanmıştır. Portakallı içekte % 1,75, portakal üzümlü içekte % 0,96, elmalı içekte % 22,05, elma üzümlü içekte % 2,86 oranında azalma meydana gelmiştir. Depolama süresince meydana gelen antioksidan aktivitede kayıp yüzdeleri Şekil 4.5’de belirtilmiştir. Pastörizasyon işleminin sırasında bazı fenolik bileşiklerin miktarının azalmasının bu konuda etkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.5. Depolama Süresi Boyunca Antioksidan Aktivite (ABTS) Kayıp Yüzdeleri.

Şekil 4.5’de görüldüğü gibi meyveli içecek formülasyonlarının pastörizasyon sonrası meydana gelen antioksidan kapasitesi kayıpları gösterilmiştir. Portakallı içekte depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 3,57, 4. hafta depolama süresi sonunda % 30,36, 6. hafta depolama süresi sonunda % 33,93, 8. hafta depolama süresi sonunda % 35,71, 10. hafta depolama süresi sonunda % 37,5 oranında antioksidan kapasitesi (ABTS) kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Portakal üzümlü içekte depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 5,83, 4. hafta depolama süresi sonunda % 12,62, 6. hafta depolama

süresi sonunda % 12,62, 8. hafta depolama süresi sonunda % 20,39, 10. hafta depolama süresi sonunda % 24,27 oranında antioksidan kapasitesinde (ABTS) azalma olduğu hesaplanmıştır.

Elmalı içeceklerde depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 2,02, 4. hafta depolama süresi sonunda % 12,12, 6. hafta depolama süresi sonunda % 15,15, 8. hafta depolama süresi sonunda % 16,16, 10. hafta depolama süresi sonunda % 11,11 oranında antioksidan kapasitesi (ABTS) kaybı olduğu bulunmuştur.

Elma üzümlü içeceklerde depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 0,98, 4. hafta depolama süresi sonunda % 11,76, 6. hafta depolama süresi sonunda % 19,61, 8. hafta depolama süresi sonunda % 23,53, 10. hafta depolama süresi sonunda % 50,98 oranında antioksidan kapasitesi (ABTS) kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Görüldüğü gibi meyveli içeceklerin pastörizasyon işlemi sırasında ürünün antioksidan kapasitesinde kayıplar oluşmaktadır. Ancak antioksidan aktivitedeki azalma toplam fenolik bileşiklerin miktarındaki azalmalar birbirleriyle bazen uyumlu bazen de farklı olabilmektedir. Bunun nedeninin bir kısım fenolik bileşiklerin sıcaklığın etkisiyle bazı değişimlere uğramasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Stealla et al. (2011), Brezilyada yaptığı bir çalışma ısı işlem sonrası portakal suyu ve portakal nektarlarının antioksidan kapasitelerini ölçmüşlerdir. Süpermarketlerden alınan 4 farklı ürün 3 tekrarlı olarak çalışılmış olup portakal sularında toplam antioksidan kapasite değerleri (ABTS) portakal sularında antioksidan kapasite değerlerinin 57,88 ile 315,12 $\mu\text{mol TEAC}/100 \text{ ml}$ arasında değiştiği portakal nektarında ise 6 farklı ürün 3 tekrarlı olarak çalışılmış olup 17,32 ile 349,32 $\mu\text{mol TEAC}/100 \text{ ml}$ arasında değiştiği belirtilmiştir.

Oszmiański and Wojdyło (2009), yapmış oldukları çalışmada kırmızı ve yeşil elmadan elde edilen taze elma sularında üzerinde renk, fenolik, antisiyonin ve antioksidan kapasitesi üzerine çalışmışlardır. Kırmızı elma suları üzerinde 0,20 mg TEAC/ml ile 0,30 mg TEAC/ml aralığında, yeşil elma sularında ise 0,17 mg TEAC/ml ile 0,38 mg TEAC/ml arasında ABTS değerleri ölçülmüştür.

Floegel et al. (2011), Amerikada popüler olan meyve, sebze ve içecek çeşitlerinden toplamda 50 adet ürün üzerinde antioksidan, fenolik ve antisiyonin kapasitesini araştırmışlardır. Beyaz üzüm suyunda antioksidan kapasitesi olarak ABTS değeri $120,7 \pm 7 \text{ TEAC/ml}$ olarak belirtilmiştir.

4.9.2. DPPH değerleri

Reaksiyon ortamındaki DPPH radikalının % 50'sinin yok edilmesi için gereken etkili antioksidan konsantrasyonu EC₅₀ (veya IC₅₀) değeri olarak tanımlanır ve düşük EC₅₀ değeri yüksek radikal giderme aktivitesinin göstergesidir. Çalışmada kullanılan her bir meyveli içecek ayrı ayrı çizilen konsantrasyon % inhibisyon grafiklerinden EC₅₀ değerleri belirlendi. Elde edilen bu değerler Çizelge 4.25'de verilmiştir. Depolama süresince meydana gelen değişim Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.25. Meyveli İçeceklerde ve Standartların DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Sonuçlarından Elde Edilen EC₅₀ Değerleri.

DPPH Analiz Sonuçları (ml/mg)				
Depolama Süresi	Portakallı İçecek	Portakal Üzümlü İçecek	Elmalı İçecek	Elma Üzümlü İçecek
Pastörizasyon Öncesi	0,35±0,08 ^a	0,37±0,08 ^a	0,36±0,04 ^a	0,38±0,02 ^a
0. hafta	0,31±0,09 ^a	0,35±0,06 ^a	0,3±0,03 ^{bc}	0,30±0,08 ^b
2.hafta	0,3±0,05 ^a	0,28±0,04 ^b	0,28±0,02 ^b	0,25±0,02 ^c
4.hafta	0,26±0,01 ^b	0,25±0,08 ^b	0,16±0,01 ^c	0,2±0,01 ^{cd}
6.hafta	0,2±0,0 ^b	0,17±0,05 ^c	0,18±0,01 ^c	0,2±0,0 ^{cd}
8.hafta	0,21±0,1 ^b	0,16±0,04 ^c	0,16±0,02 ^c	0,17±0,08 ^{de}
10.hafta	0,15±0,01 ^c	0,15±0,04 ^c	0,15±0,04 ^c	0,14±0,04 ^f

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir (p<0,05).

Meyveli içeceklerin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen antioksidan aktivite (DPPH) değerleri Çizelge 4.25'de verilmiştir. Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen EC₅₀ değerleri 0,15 ile 0,35 ml/mg değerleri arasında değişmekte olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur (P<0,05).

Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen EC₅₀ değerleri 0,15

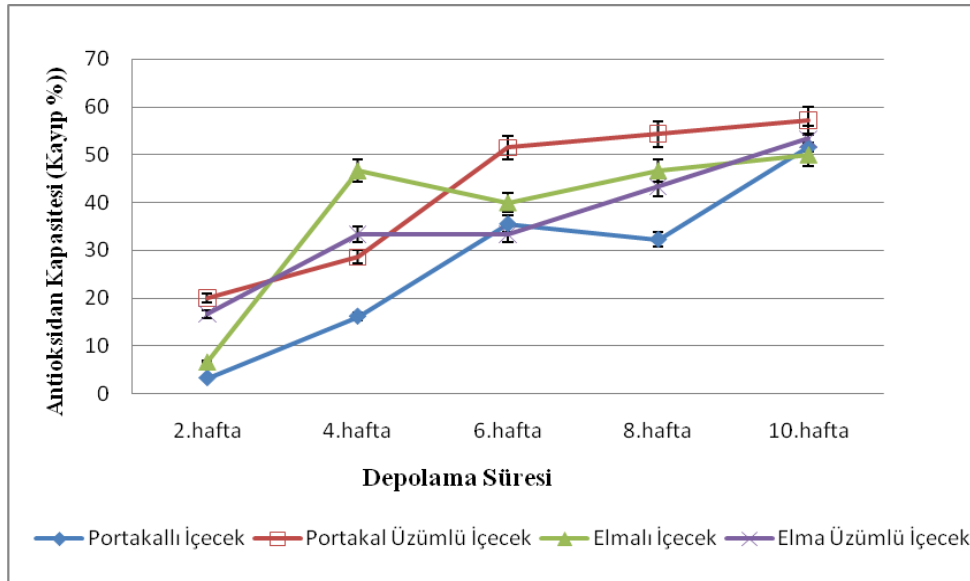
ile 0,37 ml/mg değerleri arasında değişmiştir. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($P<0,05$).

Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen EC_{50} değerleri 0,15 ile 0,36 ml/mg değer aralığında değişmiştir. Bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($P<0,05$).

Elma üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen EC_{50} değerleri 0,14 ile 0,38 mg/ml değerleri arasında değişmiş olup, bu değerlerin arasındaki fark istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($P<0,05$).

Çizelge 4.25’de görüleceği gibi portakal üzümlü, elma ve elma üzümlü içeceklerde antioksidan aktivite pastörizasyon ile değişim gösterirken portakallı içekte böyle bir değişim görülmemiştir.

Pastörizasyon işlemi sonrasında meyveli içeceklerin antioksidan değerlerinde bir miktar azalma saptanmıştır. Portakallı içekte % 11,43, portakal üzümlü içekte % 5,45, elmalı içekte % 16,67, elma üzümlü içekte % 21,05 oranında azalma meydana gelmiştir. Depolama süresince meydana gelen antioksidan aktivitede kayıp yüzdeleri Şekil 4.6.’da belirtilmiştir. Pastörizasyon işlemi sırasında bazı fenolik bileşiklerin miktarının azalmasının bu konuda etkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.6. Depolama Süresi Boyunca Antioksidan Aktivite (DPPH) Kayıp Yüzdeleri.

Şekil 4.6’da görüldüğü gibi meyveli içeceklerin pastörizasyon sonrası meydana gelen antioksidan kapasitesi kayıpları gösterilmiştir. Portakallı içekte depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 3,22, 4. hafta depolama süresi sonunda % 16,13, 6. hafta depolama süresi sonunda % 35,48, 8. hafta depolama süresi sonunda % 32,25, 10. hafta depolama süresi sonunda % 51,61 oranında antioksidan kapasitesi (DPPH) kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Portakal üzümlü içekte depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 20, 4. hafta depolama süresi sonunda % 28,57, 6. hafta depolama süresi sonunda % 51,43, 8. hafta depolama süresi sonunda % 54,29, 10. hafta depolama süresi sonunda % 57,14 oranında antioksidan kapasitesi (ABTS) kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Elmalı içekte depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 6,67, 4. hafta depolama süresi sonunda % 46,67, 6. hafta depolama süresi sonunda % 40, 8. hafta depolama süresi sonunda % 46,67, 10. hafta depolama süresi sonunda % 50 oranında antioksidan kapasitesi (DPPH) kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Elma üzümlü içekte depolama süresi boyunca, 2. hafta depolama süresi sonunda % 16,67, 4. hafta depolama süresi sonunda % 33,33, 6. hafta depolama süresi sonunda % 33,33, 8. hafta depolama süresi sonunda % 43,33, 10. hafta depolama süresi sonunda % 53,33 oranında antioksidan kapasitesi (DPPH) kaybı olduğu hesaplanmıştır.

Depolama süresi sonunda ABTS antioksidan kapasitesi değişiminde olduğu gibi meyveli içeceklerin pastörizasyon işlemi sırasında ürünün DPPH antioksidan kapasitesinde kayıplar oluşmaktadır. Bunun nedeninin bir kısım fenolik bileşiklerin sıcaklığın etkisiyle bazı değişimlere uğramasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Plaza et al. (2005), yaptıkları çalışmada portakal suyunu ısıtma işlemi ile dayanıklı hale getirme işlemi sonrasında 4 °C’de 40 güne kadar depolayıp antioksidan aktivite değerlerini ölçmüştür. Portakal sularına 70 °C’de 30 saniye süre ile pastörizasyon işlemi uygulamıştır. 0.günde 160.58 ± 16.28 ml/g, 10.günde 179.63 ± 9.39 ml/g, 15.günde 198.33 ± 14.18 ml/g, 20.günde 203.18 ± 13.14 ml/g, 40.günde 219.66 ± 6.76 ml/g olarak bulunmuştur.

Scalzo et al. (2004), Tarocco, Sanguinello ve Moro çeşidi kan portakallarının antioksidan ve antiradikal aktivitesi üzerinde ısıtma uygulamalarının

etkisi araştırmıştır. Isıl işlem uygulanmış ve uygulanmamış kan portakalı suyunda antosiyanin ve diğer bazı fenolik bileşiklerin seviyelerinin ısıl işleme ne yönde değiştiğine ilişkin olarak yapılan bu çalışmada, antioksidan miktarının ısıl işlem görmemiş örneklerde daha fazla olduğu tespit etmiştir.

Burin et al. (2011), ev yapımı ve ticari üzüm sularının antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Ev yapımı üzüm sularının DPPH değerlerinin $7,32\pm 0,48$ ile $8,23\pm 0,17$ mM arasında değiştiğini, ticari üzüm sularında ise $2,51\pm 0,03$ ile $11,05\pm 0,13$ mM arasında değiştiğini belirtilmiştir.

Abderrahim et al. (2013), taze elma suyunun antioksidan kapasite değerini üzerinde araştırma yapmıştır. Taze elma suyunun DPPH değerini $212,52\pm 17,52$ $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ olarak bulunmuştur.

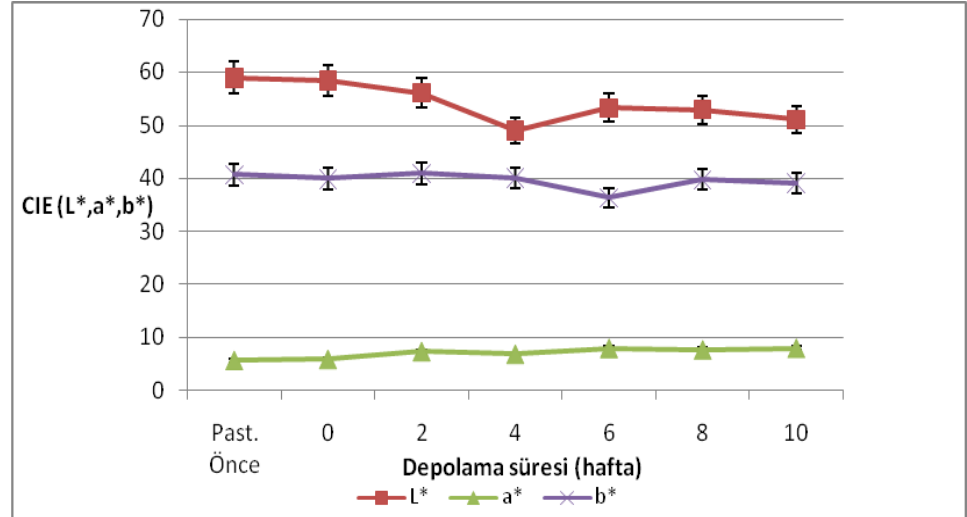
Floegel et al. (2011), Amerikada popöler olan meyve, sebze ve içecek çeşitlerinden toplamda 50 adet ürün üzerinde antioksidan, fenolik ve antisiyonin kapasitesini araştırmışlardır. Beyaz üzüm suyunda DPPH değerini $102,6\pm 1,5$ mg/100 g, beyaz üzüm meyvesinde ABTS değerini $97,9\pm 1,7$ TEAC/ml, DPPH değerini ise $65,2\pm 2,9$ TEAC/ml olarak belirtilmiştir.

Antioksidan kapasitesi (DPPH) değerleri incelendiğinde meyveli içeceklerin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca EC_{50} değerlerinin azaldığı görölmektedir. Literatür alışmaları incelediğinde ısıl işlem sıcaklığı ve süresinin antioksidan kapasitesi üzerinde etkili olduğu bulunmuştur.

Kelebek vd. (2009), ısıl işlem sonrası portakal suyunun antioksidan, fenolik madde, askorbik asit ve şeker miktarları üzerinde çalışmışlardır. Portakal suyunun DPPH değerini ifade eden EC_{50} değerini $0,31\pm 0,2$ ml/mg olarak tespit edilmiştir.

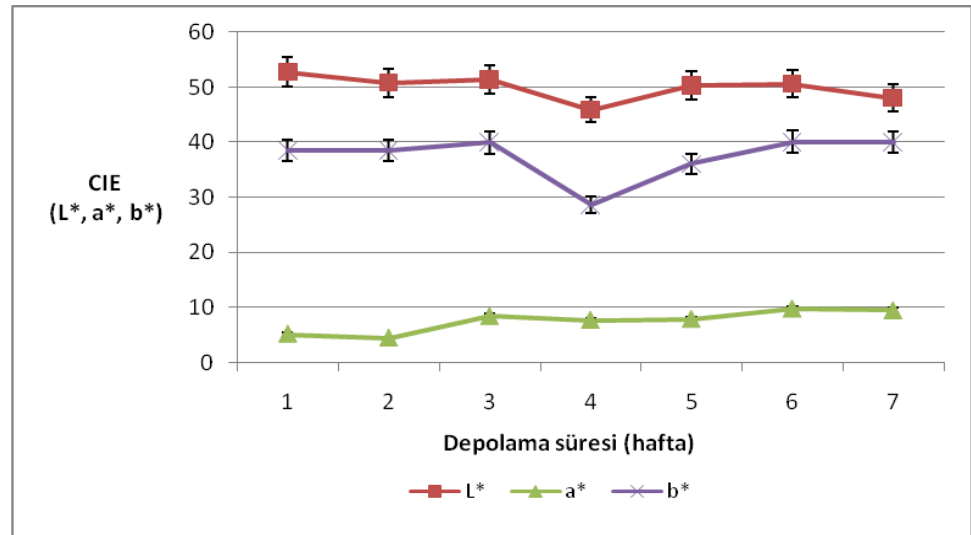
4.10. Renk Tayini Sonuçları

Meyveli içeceklerde başlangıçta ve depolama süresince ölçölen renk değerleri, portakallı içecek için şekil 4.7'de, portakal üzömlü içecek için şekil 4.8'de, elma ieğeğe ait değerler şekil 4.9'da, elma üzömlü içecek için ise şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.7. Depolama Süresi Boyunca Portakallı İçeceğe Ait Renk Ölçüm Değerleri.

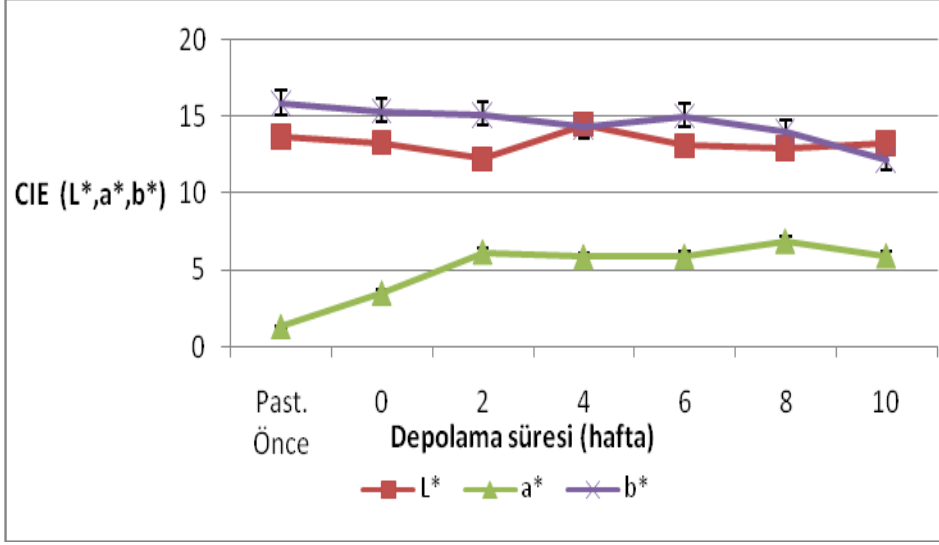
Portakallı içeceğin renginin açıklığını ve aydınlığı ifade eden L* değerinin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca 58,98±2,65-48,92±3,19 aralığında değiştiği görülmektedir. L* değerlerindeki bu değişimler istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($P<0,05$). a* değerinin 7,89±0,73-5,57±1,37 aralığında değişmektedir. Bu değişim istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$). b* değerinin ise 40,88±0,89-36,34±2,18 aralığında değişmektedir. Bu değerlerin ise istatistiksel açıdan önemsizdir ($P\geq 0,05$).



Şekil 4.8. Depolama Süresi Boyunca Portakal Üzümlü İçeceğe Ait Renk Ölçüm Değerleri.

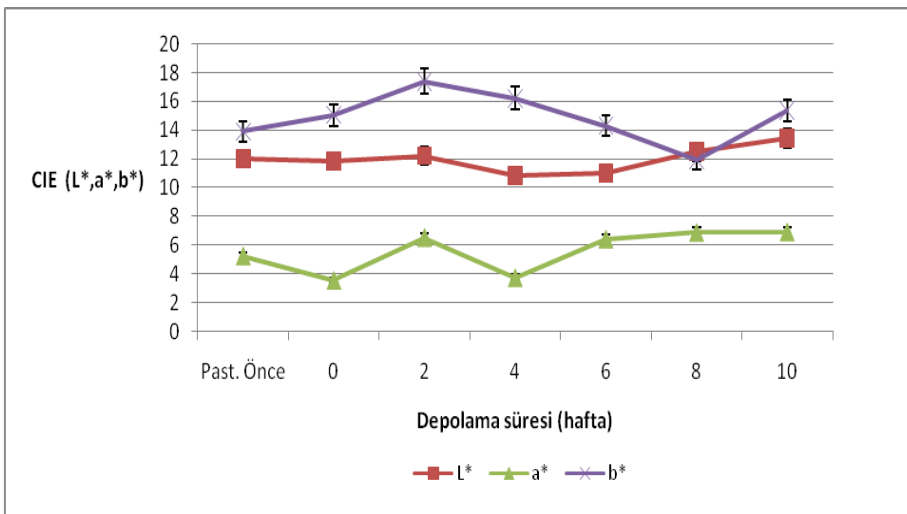
Portakal üzümlü içeceğin renginin açıklığını ve aydınlığı ifade eden L* değerinin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca 51,41±1,92-48,05±1,19 aralığında değiştiği görülmektedir. L* değerindeki bu değişimler istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$). a* değeri 9,77±0,81-4,48±0,26

aralığında değişmiştir. a^* değerlerindeki değişim istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P \geq 0,05$). b^* değeri ise $40,06 \pm 1,07 - 28,62 \pm 2,27$ aralığında değiştiği görülmüştür. b^* değerlerindeki değişim istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($P < 0,05$).



Şekil 4.9. Depolama Süresi Boyunca Elmalı İçeceğe Ait Renk Ölçüm Değerleri.

Elmalı içeceğe renginin açıklığını ve aydınlığını veren L^* değeri pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca $14,51 \pm 2,02 - 12,25 \pm 2,92$ aralığında değişmiştir. L^* değerlerindeki bu değişimin önemli düzeyde değişmediği görülmüştür ($P \geq 0,05$). a^* değeri $6,87 \pm 0,09 - 1,31 \pm 0,06$ aralığında değişmektedir. a^* değerlerindeki bu değişimin istatistiksel açıdan farklı olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). b^* değerlerindeki bu değişim ise $15,93 \pm 0,21 - 12,2 \pm 1,32$ aralığında değişmiş olup bu değişimin ise istatistiksel açıdan farklı olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$).



Şekil 4.10. Depolama Süresi Boyunca Elma Üzümlü İçeceğe Ait Renk Ölçüm Değerleri.

Elmalı üzümlü içeceğe renginin açıklığını ve aydınlığını ifade eden L* değeri pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca $13,45 \pm 0,05$ - $10,8 \pm 2,32$ aralığında değiştiği görülmüştür. L* değerlerindeki bu değişimlerin önemli düzeyde değişmediği görülmüştür ($P \geq 0,05$). a* değeri $6,91 \pm 0,06$ - $3,56 \pm 0,35$ aralığında değişmektedir. a* değerlerindeki bu değişimin istatistiksel açıdan öncemli düzeyde değişmediği görülmüştür ($P \geq 0,05$). b* değeri $16,21 \pm 0,31$ - $11,89 \pm 0,82$ aralığında değişmektedir. b* değerlerinin bu değişimi istatistiksel açıdan farklı olduğu bulunmuştur ($P < 0,05$).

Cemeroğlu, (1977)'na göre pastörizasyonda uygulanan sıcaklık ve süreye bağlı olarak, meyve sularında renk değişmesi görülebilmektedir.

Meyveli İçeceklerde ısı işlem öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen renk sonuçları incelendiğinde portakallı içecek haricinde diğer meyveli içeceklerin L* (aydınlık) değerleri arasında genel olarak istatistiksel bir fark olmadığı görülmektedir. L* değerinin pastörizasyon sıcaklığı ve süresinden etkilenmemiş olmasıdır. Portakallı içekte ise depolama sırasında L* değerinin azalması meyveli içekte kararına başladığını göstergesidir.

Genovese et al. (1997), yaptıkları çalışmada portakal suyuna uyguladıkları ısı işlem sonrasında CIE L* değerleri $40,22 \pm 0,16$ ile $41,22 \pm 0,81$ aralığında değişmekte olduğunu belirtmiştir. Supraditareporn and Pinthong (2007)'un Tayland da yaptığı bir çalışmada ise Khieo Waan türü portakal suyunun ısı işlem sonrası CIE L* değerinin $37,18 \pm 4,04$ olduğunu bulmuştur. Cortés et al. (2008), işlem görmemiş, ısı pastörize edilmiş ve yüksek vurgulu elektrik alan uygulanmış (HIPEF) portakal sularının renk değerlerini karşılaştırmışlardır. L* değerlerini HIPEF uygulanmış portakal suyunda $52,23 \pm 0,05$, ısı pastörize edilmiş portakal suyunda $52,41 \pm 0,12$ ve işlem görmemiş taze portakal suyunda $51,36 \pm 0,54$ olarak bulmuşlar ve değerler arasında istatistiksel olarak fark olduğunu bildirmiştir. Benzer bir çalışmada portakal sularının rengi hakkındaki tek düze renk aralığını CIE renk koordinatları ile açıklamışlardır. L* değerini $73,59 \pm 1,40$, a* değerini $13,71 \pm 1,10$, b* değerini $66,80 \pm 2,58$ ölçülmüştür. (Meléndez-Martínez et al., 2007). Burdurlu vd. (2002), enzim inaktivasyonun sağlamak $90 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 1 saat süreyle elma sularına ısı işlem uygulamıştır. Isıl işlem sonrası $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 4 aylık depolama süresi boyunca haftalık elma sularında meydana gelen renk değişimini incelemişlerdir. L* değerinin 0.gün $21,87$ - $22,91$ aralığında iken 16. hafta sonunda bu değer $21,56$ - $22,01$ aralığında ölçülmüştür. Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen ısı işlem öncesi ve depolama süresi boyunca portakallı içeceğin L* değerleri $58,98$ - $48,92$ aralığında değişmekte olup daha önce gerçekleştirilen çalışmalara benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür.

Burin et al. (2010), yaptıkları çalışmada ev yapımı ve ticari beyaz üzüm sularının renk karakteristiklerini araştırmışlardır. Ev yapımı beyaz üzüm sularında renk yoğunluğu (CI*) $8,16\pm 0,01$ ile $16,62\pm 0,02$ arasında, ticari beyaz üzüm sularında ise $5,37\pm 0,02$ ile $21,12\pm 0,02$ değerleri arasında bulunmuştur.

Lee ve Coates (1999), yaptıkları çalışmada portakal suyuna uyguladıkları ısı işlem sonrasında CIE b* değerleri $-17,02\pm 0,35$ ile $20,02\pm 1,05$ aralığında değişmekte olduğunu belirtmişlerdir. Portakal suyunun ısı işlem sonrası CIE b* değerinin $23,80\pm 0,11$ olduğunu bulunmuştur. Cortés et al.,(2008) yaptıkları çalışmada sarı ve mavi renkler arasındaki farkı gösteren b* değerlerinin pastörize portakal suyunda (57.61 ± 10.56), HIPEF portakal suyundan (53.62 ± 0.57) ve işlem görmemiş taze portakal suyundan (50.73 ± 0.67) daha yüksek değerde ölçmüşlerdir. Pastörize edilmiş portakal suyunda pozitif b* ve negatif a* yönlerinin daha yoğun sarı ve daha az kırmızı renkleri gösterdiği bildirilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilmiş olan ısı işlem öncesi ve depolama süresi boyunca portakallı içeceğin b* değerleri $40,88-36,34$ aralığında değişmekte olup daha önce gerçekleştirilen çalışmalardan farklı bir sonuç elde edilmiştir.

Lee and Coates (1999), yaptıkları çalışmada portakal suyuna uyguladıkları ısı işlem sonrasında CIE a* değerleri $1,75\pm 0,07$ ile $-2,64\pm 0,15$ aralığında değişmekte olduğunu belirtilmiştir. Cortés et al. (2008), kırmızı ve yeşil renkler arasındaki farkı gösteren a* değerlerini (4.56 ± 0.40) işlem görmemiş taze portakal suyunda istatistiksel olarak daha yüksek bulmuşlardır ($p<0.05$). a* değerlerini, HIPEF portakal suyu için 2.99 ± 0.08 , pastörize portakal suyu için 1.57 ± 0.03 olarak ölçmüşler ve aralarındaki farkı istatistiksel olarak önemli olarak değerlendirilmiştir ($p<0.05$). Isıl işlem öncesi ve depolama süresi boyunca portakallı içeceğin a* değerleri $14,51\pm 2,02-12,25\pm 2,92$ aralığında değişmekte olup daha önce gerçekleştirilen çalışmalardan farklı bir sonuç elde edilmiştir. Bu tez çalışmasında uygulanan ısı işlem öncesi ve depolama süresi boyunca portakallı içeceğin a* değerleri $7,89-5,57$ aralığında değişmekte olup daha önce gerçekleştirilen çalışmalardan farklı bir sonuç elde edilmiştir.

Lee and Coates (2003), portakal suyunun renginin daha açık ve doymuş olmasına neden olan pastörizasyondan sonra fark edilebilir bir renk değişiminin olduğunu saptamışlardır. CIE sistemindeki a* değerindeki azalış ve L*, b*, h* ve C* değerlerindeki artışların pastörizasyondan sonra oluşan ana renk değişimlerinden dolayı olduğunu ifade etmiştir. Yansıyan ışıktaki tüm artışların ayrıca pastörize portakal suyunda renk algısını büyük kapsamda etkilediğini bulunmuştur. Isıl işlem sonrası, b* değerlerinin 17.62 ± 0.35 bütün örneklerde yavaş yavaş pozitif yönde, a* değerlerinin -1.75 ± 0.07 den -2.64 ± 0.15 ($P<0.05$) ye bir

parça negatif yönde değiştiğini belirlemişlerdir. b* değerinde pozitif yönde, a* değerinde negatif yöndeki renk değişiminin pastörize portakal suyunda daha fazla sarı ve daha az kırmızı rengi gösterdiği ifade edilmiştir. Portakal suyu renginin aydınlığını ifade eden L* değerinin pastörizasyondan sonra önemli bir artış gösterdiğini ve pastörize portakal sularında L* değerinde 40.22±0.16 dan 41.22±0.81'e artış gösterdiği bildirilmiştir. .

Tochi et al. (2009), yaptığı çalışmada ticari marketlerden temin ettiği golden elmaları blender yardımıyla suyunu elde ederek ısıtma işlemi uygulayarak dayanıklı hale getirmişlerdir. Isıtma işlemi sonrası CIE yöntemi kullanılarak oda sıcaklığında (25±1 °C) renk ölçümünü gerçekleştirilmiştir. L*, a* ve b* değerleri sırasıyla 91,32, 0,03, 18,62 olarak ölçülmüştür.

4.11. Şeker Tayini Sonuçları

Meyveli içeceklere ait invert, toplam şeker ve sakaroz tayini sonuçları portakallı içecek için Çizelge 4.26'da, portakallı üzüm içeceğe ait veriler Çizelge 4.27'de, elmalı içecek için Çizelge 4.28'de, elma üzümlü içecek için ise Çizelge 4.29'da verilmiştir.

Çizelge 4.26. Portakallı İçeceğe Ait Şeker İçeriği.

Depolama Süresi	İnvert Şeker (g/100ml)	Toplam Şeker (g/100ml)	Sakaroz (g/100ml)
Pastörizasyon Öncesi	3,86±0,11 ^a	6,15±0,25 ^a	2,18±0,22 ^a
0. hafta	3,78±0,02 ^a	6,05±0,21 ^a	2,2±0,13 ^a
2.hafta	4,52±0,23 ^{bc}	6,88±0,24 ^b	2,28±0,03 ^a
4.hafta	4,53±0,02 ^{bc}	6,87±0,1 ^b	2,23±0,07 ^a
6.hafta	4,73±0,24 ^c	7,09±0,21 ^b	2,26±0,06 ^{ab}
8.hafta	4,22±0,06 ^b	6,33±0,16 ^b	2,06±0,06 ^a
10.hafta	4,35±0,04 ^b	6,98±0,06 ^b	2,51±0,1 ^b

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir (p<0,05).

Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen invert, toplam şeker ve sakkaroz miktarı değerleri Çizelge 4.26'da verilmiştir. Portakallı içecek üretim aşamasında % 2,5 konsantrasyonunda şeker ilavesi yapılmıştır. Portakallı içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama invert şeker miktarları 3,86 ile 4,35 g/100 ml aralığında değişmekte olup, bu

değerlerin istatistiksel açıdan farklı olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Toplam şeker miktarları 6,33 ile 6,98 g/100 ml değerler arasında değişmiştir. Bu değerlerin istatistiksel açıdan farklı olduğu bulunmuştur ($P<0,05$). Sakkaroz miktarları ise 2,18 ile 2,51 g/100 ml değer aralığında değişmiş olup, bu değerlerdeki değişim ise istatistiksel açıdan önemsizdir ($P\geq 0,05$).

Çizelge 4.27. Portakal Üzümlü İçeceğe Ait Şeker İçeriği.

Depolama Süresi	İnvert Şeker (g/100ml)	Toplam Şeker (g/100ml)	Sakkaroz (g/100ml)
Pastörizasyon Öncesi	6,49±0,13 ^{ab}	6,69±0,06 ^a	0,09±0,08 ^a
0. hafta	6,62±0,27 ^b	6,83±0,35 ^{ab}	0,2±0,07 ^b
2.hafta	6,35±0,1 ^{abc}	6,94±0,01 ^{ab}	0,81±0,03 ^b
4.hafta	6,33±0,19 ^{ca}	6,87±0,1 ^{ab}	0,71±0,27 ^b
6.hafta	6,62±0,22 ^{ab}	7,22±0,04 ^{ab}	0,5±0,28 ^{ab}
8.hafta	6,69±0,06 ^{abc}	6,83±0,1 ^{ab}	0,18±0,1 ^a
10.hafta	6,19±0,03 ^c	6,69±0,25 ^{ab}	0,43±0,19 ^{ab}

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir ($p<0,05$).

Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen invert, toplam şeker ve sakkaroz miktarı değerleri Çizelge 4.27'de belirtilmiştir. Portakal üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama invert şeker miktarları 6,19 ile 6,69 g/100 ml değerleri arasında değişmiş olup, bu değerlerdeki değişim istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$). Toplam şeker miktarları 6,69 ile 7,22 g/100 ml değer aralığında değişmiştir. Bu değişimin istatistiksel açıdan önemsiz olduğu görülmüştür ($P\geq 0,05$). Ortalama sakkaroz miktarları ise 0,09 ile 0,81 g/100 ml değerleri arasında değişmiş olup, bu değerlerdeki değişim ise istatistiksel açıdan önemsizdir ($P\geq 0,05$).

Çizelge 4.28. Elmalı İçeceğe Ait Şeker İçeriği.

Depolama Süresi	İnvert Şeker (g/100ml)	Toplam Şeker (g/100ml)	Sakkaroz (g/100ml)
Pastörizasyon Öncesi	6,38±0,3 ^a	6,97±0,23 ^a	0,45±0,1 ^a
0. hafta	6,3±0,33 ^a	6,81±0,26 ^a	0,61±0,47 ^a
2.hafta	6,08±1,71 ^a	6,45±1,61 ^a	0,35±0,1 ^a
4.hafta	5,46±0,24 ^a	5,62±0,2 ^a	0,17±0,05 ^a
6.hafta	5,94±0,4 ^a	6,76±0,18 ^a	0,79±0,21 ^a
8.hafta	6,34±0,06 ^a	7,14±0,21 ^a	0,69±0,1 ^a
10.hafta	6,15±0,01 ^a	6,67±0,29 ^a	0,49±0,28 ^a

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir ($p<0,05$).

Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen invert, toplam şeker ve sakkaroz miktarı değerleri Çizelge 4.28’de verilmiştir. Elmalı içeceğin pastörizasyon öncesi, 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama invert miktarları 5,46 ile 6,68 g/100 ml değerleri arasında değişmiş olup, bu değerlerde gözlenen değişimin istatistiksel açıdan önemli düzeyde değişmediği görülmüştür ($P\geq 0,05$). Ortalama toplam şeker miktarları 5,62 ile 7,14 g/100 ml değer aralığında değişmiştir. Bu değerlerdeki değişim istatistiksel açıdan değişimi önemsizdir ($P\geq 0,05$). Ortalama sakkaroz miktarları ise 0,17 ile 0,79 g/100 ml değer aralığında değişmiş olup, bu değerlerdeki değişimin istatistiksel açıdan önemli düzeyde değişmediği görülmüştür ($P\geq 0,05$).

Çizelge 4.29. Elma Üzümlü İçeceğe Ait Şeker İçeriği.

Depolama Süresi	İnvert Şeker (g/100ml)	Toplam Şeker (g/100ml)	Sakkaroz (g/100ml)
Pastörizasyon Öncesi	6,8±6,91 ^{ab}	7,4±0,05 ^{ab}	0,57±0,11 ^a
0. hafta	7,37±0,28 ^b	7,79±0,05 ^b	0,39±0,32 ^a
2.hafta	6,87±0,39 ^{ab}	7,26±0,44 ^{abc}	0,41±0,04 ^a
4.hafta	6,54±0,33 ^a	6,94±0,11 ^{bc}	0,54±0,21 ^a
6.hafta	6,87±0,3 ^{ab}	7,08±0,27 ^{abc}	0,23±0,09 ^a
8.hafta	6,59±0,2 ^a	6,86±0,09 ^{bc}	0,26±0,1 ^{6 a}
10.hafta	6,3±0,035 ^a	6,52±0,59 ^c	0,44±0,08 ^a

*Farklı harfler aynı sütun içerisindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemini ifade etmektedir ($p<0,05$).

Çizelge 4.29’da görüldüğü gibi meyveli içeceklerin pastörizasyon öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen invert, toplam şeker ve sakkaroz miktarı değerleri verilmiştir. Elma üzümlü içeceğin pastörizasyon öncesi , 0. hafta, 2. hafta, 4. hafta 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta depolama süresi boyunca ölçülen ortalama invert şeker miktarları 6,3 ile 7,37 g/100 ml değerleri arasında değişmiş olup, bu değerlerdeki değişim istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P\geq 0,05$). Ortalama toplam şeker miktarları 6,52 ile 7,79 g/100 ml değerleri arasında değişmiştir. Bu değerler arasındaki değişimin istatistiksel açıdan önemli düzeyde değişmediği görülmüştür ($P\geq 0,05$). Ortalama sakkaroz miktarları ise 0,23 ile 0,57; g/100 ml değer aralığında değişmiş olup, bu değerlerdeki değişim istatistiksel açıdan önemsizdir ($P\geq 0,05$).

Kelebek vd. (2009), ısıl işlem sonrası portakal suyunun antioksidan, fenolik madde, askorbik asit ve şeker miktarları üzerinde çalışmıştır. Portakal suyunun sakkaroz değerini 59,34±2,04 g/l olarak tespit edilmiştir.

Stealla et al. (2011) yaptığı bir çalışmada süpermarketlerden alınan 4 farklı ürün 3 tekrarlı olarak çalışılmış olup portakal sularında toplam şeker miktarının 9,5 ile 14,2 g/100ml arasında, portakal nektarında ise 6 farklı ürün 3 tekrarlı olarak çalışılmış olup 9,9 ile 12,9 g/100ml arasında değiştiği görülmüştür.

Meyveli içeceklerin şeker içerikleri incelendiğinde invert şeker, toplam şeker ve sakkaroz miktarlarının depolama süresi boyunca değişmediği istatistiksel açıdan önemsiz olduğu bulunmuştur. Bu verilere göre meyveli içeceklerin

bünyesinde bulunan şekerin diğer bileşenler ile etkileşime girmediği sonucuna varılmaktadır.

5. GENEL SONUÇLAR

Kolajen hidrolizatı içeren ürünlerin tüketiminin sağlık üzerinde olumlu etkileri olduğu yapılan literatür araştırmasıyla belirlenmiştir. Billimsel literatürde kolajen hidrolizatının gıdalarda kullanımına ilişkin çok fazla veri bulunmamaktadır. Mevcut bilgiler ise var olan özel firmaların patentleri ile sınırlıdır. Kolajen hidrolizatı kullanılarak yeni fonksiyonel gıdalar üretilmesi ve formülasyonların optimize edilmesi gıda sanayi açısından önemlidir. Bu alandaki çalışmalar çok yenidir ve geliştirilmesi gerekmektedir. Kolajen hidrolizatı, kozmetik endüstrisinde özellikle yaslanma karşıtı kremlerde kullanılmaktadır. Molekül büyüklüğünün yüksek olması nedeniyle, kolajen hidrolizatının cildin dışından içeri nüfuz etmesinin zor olacağı yönünde eleştiriler bulunmaktadır. Ayrıca çeşitli kliniklerde deri altına kolajen dolgusu yapılmaktadır, fakat bu yöntem kişilere acı vermekte ve bazı enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Piyasada tablet olarak da kolajen hidrolizatının satışı gerçekleşmektedir. Amerika ve Japonyada ise kolajen içeren içecekler üretilmiş ancak bu ürünler daha çok Lotte ve Shiseido gibi kozmetik firmaları aracılığıyla üretilmiştir.

Ülkemizde kolajen hidrolizatı içeren herhangi bir ürün bulunmamaktadır. Bu kapsamda çalışmada doğal içeriklik ve kolajen hidrolizatı içeren meyveli meyveli içecek ürünlerinin oral yol ile tüketimi ve sağlık üzerine olumlu etkilerinin bu yolla sağlanması hedeflenmiştir. Kolajen hidrolizatı; gıda, kozmetik, fotoğrafçılık, tıp ve eczacılık alanında çok geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Doğal bir protein olması ve sahip olduğu teknolojik özellikler, kolajen hidrolizat üretiminin ve tüketiminin önümüzdeki yıllarda da artacağı tahmin edilmektedir.

Meyve ve sebzeler ise gerek taze olarak gerekse de işlenmiş farklı ürünler şeklinde yüksek tüketim oranına sahip gıdamaddeleri olup özellikle kanser ve kalp rahatsızlıkları gibi hastalıkların önlenmesindeki olumlu etkileri klinik olarak ispatlanmıştır.

Bu çalışmada piyasada satışa sunulan ve konsantrelerin geri sulandırılmasıyla elde edilen pastörize % 100 elma, limon, portakal ve üzüm suları kolajen hidrolizat proteini ile zenginleştirme yapılarak edilen meyveli içecek formülasyonlarında uygulanan duyusal analiz sonuçlarına göre portakallı, portakal üzümlü, elmalı ve elma üzümlü içeceklerde deneme üretimi yapılmıştır. Gıdaların zenginleştirilmesi, Dünyada ve Türkiye`de mineral ve vitamin yetersizliklerini önlemek amacıyla sıklıkla uygulanan ve başarılı sonuçlar elde edilen yaklaşımlardan biridir.

Kolajen hidrolizat proteini ile zenginleştirilen meyveli içecek formülasyonları ısıtma işlemiyle dayanıklı hale getirilmiştir. Isıtma işlemi parametreleri *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarını hedef alınarak belirlenmiştir. Meyveli içeceklerin son pH değerlerinin pastörizasyon için sınırlandırıcı olan 4,5 değerinin altında kalması sağlanmıştır. Benzer bir şekilde son suda çözünür kuru madde oranları her bir meyveli içecek için meyve suyuna ait ilgili standarttaki minimum içeriğe uygun olarak geri sulandırma sırasında ayarlandığı için tüm değerler standart hükümlerine uygun olarak belirlenmiştir.

Alicyclobacillus türlerinin pH 3.8 değerinin altında gelişmesi ve tipik pastörizasyon işleminden sonra canlı kalabilmeleri ve aktivite göstererek meyve sularında bozulmaya sebep olmaları, *Alicyclobacillus* sporlarını son yıllarda meyve suyu endüstrisinde üzerinde önemli durulan bir konu haline getirmiştir. Ülkemizde, meyve suyu ve konsantrelerinden işlenen hammaddelerde bu bakterinin varlığının belirlenmesi, üretim sırasında uygulanan mevcut yöntemlerin bakteri eliminasyonu açısından yetersiz olduğunu göstermektedir. Özellikle ultrafiltrasyon membranlarından dahi geçebilmesi nedeniyle bakteri inaktivasyonu açısından pastörizasyonun önemi artmaktadır. Pastörizasyon normlarının belirlenmesi ise *Alicyclobacillus acidoterrestris*'e ait termal inaktivasyon parametrelerinin bilinmesi ile mümkün olacaktır.

Üretilen meyveli içeceklerden beklenen mikrobiyolojik kalitesi, beslenme kalitesi, kimyasal kalite, fiziksel kalite ve duyu kalitesinin yüksek olmalıdır. Gıda üretici için öncelik, insan sağlığıyla oynamamak olduğundan mikrobiyolojik kalite en önemlisidir. Belirtilen parametreler uygunluk sağladıktan sonrada meyveli içeceğin duyu kalitesi gelmektedir. Bu kalite türü, tüketiciyi satın almaya yönelten kalite olduğu için oldukça önemlidir.

Tez çalışmasında bu kaliteleri belirleyen parametreler;

* Patojen mikroorganizma varlığı: Üretilen meyveli içeceklerin bünyesinde patojen mikroorganizmalar bulunmamalıdır ve ürünler güvenli gıda kapsamında satış sunulmalıdır.

* Besin değeri: Meyveli içeceklerin formülasyonunda bulunan bileşenlerin, günlük tüketim ihtiyacını karşılayabiliyor olması besin kalitesini belirleyen parametrelerden bir tanesidir. Meyveli içecek formülasyonlarında askorbik asit ve kolajen hidrolizat proteini bileşenlerinin miktarı bu kapsamda önemlidir.

* Renk: Herhangi bir gıdanın tüketici üzerinde olumlu veya olumsuz yönde uyandırdığı ilk etki onun rengi ile, yani; görsel yolla gerçekleşmektedir. Sadece bu neden bile gıdalar için rengin ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Renk insanların duyu organlarıyla anladığı kalitenin yani duyusal kalitenin parametrelerinden biridir.

* Lezzet: Gıdaların kalite özelliklerinden yalnızca duyusal özellikleri tüketiciler tarafından kontrol edilebilmektedir. Tüketici tercihlerinin saptanması çalışmalarında gıdanın görünüş, lezzet ve doku gibi özelliklerine tüketicilerin gösterdiği tepkileri belirlenmektedir. Tüketici tercihlerinin saptanması amacıyla meyveli içeceklerin görünüş, lezzet ve doku gibi özellikleri dikkate alınarak tüketicilerin gösterdiği tepkiler belirlenmiştir.

Yukarıda verilen hedeflere uygun olacak şekilde üretimi gerçekleştirilmiş meyveli içeceklerde pH, briks, antioksidan kapasitesi, fenolik madde miktarı, askorbik asit miktarı, kolajen miktarı, biyoyararlılık değeri, şeker miktarı, protein miktarı ve renk içeriği incelenmiştir. Antioksidan kapasitesi (DPPH, ABTS), askorbik asit ve fenolik madde miktarı ve renk içeriğinin değişim gösterdiği, pH, briks, şeker, protein, kolajen ve biyoyararlılık değerlerinin değişim göstermediği görülmüştür.

10.haftalık depolama süresi boyunca meyveli içecek örneklerinin tamamında pH derecesi 3,92-4,07 arasında değişme göstermiştir. Örneklerin bu özelliği ürün formülasyonu oluşturulma sırasında kullanılan sitrik asit ile ayarlandığı için tüm pH derecelerinin pastörizasyon için sınırlandırıcı olan 4,5 değerinin altında olmaları sağlanmıştır.

Suda çözünür kuru madde içerikleri her grup meyveli içecek için ilgili standarttaki minimum içeriğe uygun olarak geri sulandırma sırasında ayarlandığı için tüm değerler standart hükümlerine uygun ve depolama süresi boyunca %10,98 -13,7 arasında bulunmuştur.

Askorbik asit miktarı ısıtılma işlem öncesinden itibaren 10.haftalık depolama süresince sürekli olarak azalmıştır. Depolama süresi sonunda portakallı içecekte % 31, portakal üzümlü içecekte % 26,50, elmalı içecekte % 27,4, elma üzümlü içecekte ise % 34,8 oranında azaldığı görülmüştür. Askorbik asit miktarının yüksek sıcaklıkta hızla kaybının sebebi ise enzimlerin optimum çalışma sıcaklığının yaklaşık 30 °C olması ve askorbik asidin enzimatik oksidasyon

sonucu bozulması olarak düşünülmüştür. Yüksek sıcaklıkta askorbik asit kayıplarının ise pastörizasyon sıcaklıklarda birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uygun olduğu bulunmuştur.

Çalışmanın sonucunda meyveli içecek formülasyonlarının toplam antioksidan kapasite değerlerinin birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. 10 haftalık depolama süresi sonucunda meyveli içeceklerde antioksidan kapasitesinde azalma görülmüştür. Antioksidan kapasitesini ifade eden ABTS değerlerindeki pastörizasyon sonrasında meydana gelen azalma portakallı içecekte % 37,5, portakal üzümlü içecekte % 24,27, elmalı içecekte % 11,11, elma üzümlü içecekte ise bu oran % 50,98 olarak tespit edilmiştir. Antioksidan kapasitesini ifade eden diğer bir terim olan DPPH değerlerindeki azalma ise portakallı içecekte % 51,61, portakal üzümlü içecekte % 57,14, elmalı içecekte % 50, elma üzümlü içecekte ise bu oran % 53,33 olarak bulunmuştur. İncelenen örnekler arasındaki farklı sonuçlar analizlenen meyveli içecek formülasyonunun bileşimlerinin farklılığından veya pastörizasyon parametreleri arasındaki farklılıklardan kaynaklabilmektedir.

10 haftalık depolama süresi sonucunda meyveli içeceklerde toplam fenolik madde miktarı değerlerinde azalma görülmüştür. Gallik asit cinsinden ifade edilen fenolik madde, miktarlarındaki azalma portakallı içecekte % 18,52, portakal üzümlü içecekte % 14,92, elmalı içecekte % 28,46, elma üzümlü içecekte ise bu oran % 41,89 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Portakal üzümlü ve elma üzümlü içecek diğer meyveli içecek gruplarında göre fenolik madde miktarı daha yüksek bulunmuştur. Elma üzümlü içecekte başlangıç fenolik madde içeriği diğer meyveli içeeeklere göre yaklaşık 3 katı miktarında azalma olduğu görülmüştür. Bu durumun sebebi elma üzümlü içeeğin başlangıç fenolik madde içeriğinin diğer meyveli içeeeklere göre daha yüksek olmasıdır.

Meyve ve sebzeler içerisinde portakal başta olmak üzere birçok üzümü meyve, elma ve limon zengin antosiyanin ve diğer fenolik madde içerikleri nedeniyle çok önemli antioksidan kaynağıdır. Bu meyveler, yüksek antioksidan kapasiteye sahiptirler. Bu nedenle üretilen meyveli içeceklerin tükemi ile birlikte üzümü meyvelerin dengeli bir diyetle alınması sağlanacak ve vücudu çeşitli oksidatif streslere karşı korumada yararlı olacaktır.

Meyveli içecek formülasyonları protein kaynaklı kolajen hidrolizat ile zenginleştirildiğinden dolayı piyasadaki mevcut meyve suyu ve nektarlara göre daha fazla protein değerine sahiptir. Depolama süresi boyunca meyveli içecek

formülasyonlarının protein değerleri stabil kalmış olup bu değerler 2,39 ile 2,51 arasında değişmiştir. Kolajen değerleri baz alınarak ölçülen biyoyararlılık değerlerinin ise % 80,78 ile 98,5 aralığında değiştiği saptanmıştır.

% 2,5 konsantrasyon oranında zenginleştirme yapılan meyveli içeceklerin kolajen içeriğinin depolama süresi boyunca istatistiksel olarak önemli düzeyde değişmediği görülmüştür. Depolama süresi boyunca meyveli içeceklere ait kolajen miktarının 1,9 ile 2,53 değerleri arasında bulunmuştur. Kolajen miktarının protein miktarı ile birbirine benzer değerler olduğu görülmüştür. Meyveli içeceklerin protein içeriği kolajen miktarı ile doğru orantılıdır. Bunun sebebi kolajen hidrolizatının protein içeriğinin % 90 oranında olmasıdır.

Isıl işlem öncesi ve depolama süresi boyunca ölçülen meyveli içeceklerin aydınlığını ve rengin açıklığını ifade eden L* değerlerinin elmalı ve elmalı üzümlü içecekte değişmezken portakal ve portakal üzümlü içecekte bu değerlerin azaldığı görülmüştür. Bu değişim portakal suyu katkısından kaynaklanmaktadır.

Meyveli içeceklerin 10 haftalık depolama süresi boyunca invert, toplam şeker ve sakaroz miktarları elde edilip, depolama kayıpları incelenmiş olup depolama süresi boyunca istatistiksel olarak bir değişim olmadığı görülmüştür. Meyveli içeceklerde invert şeker miktarı 3,78 ile 6,87 g/100 ml aralığında, toplam şeker miktarı 6,33 ile 7,22 g/100 ml aralığında sakaroz miktarı ise 0,17 ile 2,51 g/100ml aralığında değişim göstermiştir.

Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçları incelendiğinde meyveli içecekler arasından portakal üzümlü içecek diğer meyveli içeceklere göre besinsel kalitesi daha yüksek olduğu görülmüştür. Diğer meyveli içeceklere göre biyoyararlılık değeri, antioksidan kapasitesi, fenolik madde kaybı ve askorbik asit içeriği daha yüksek olup depolama süresi boyunca meydana gelen kayıp yüzdeleri diğer meyveli içeceklere göre daha düşük değerdedir.

Bu tez çalışması ile birlikte ülkemizde ve dünyada meyveli içecek sanayisinde benzeri olmayan yeni bir ürün üretilmesi ve bu ürünün fonksiyonel özellik taşıması sağlanmıştır. Üretilen ürünler teknolojik olarak ve gıda güvenliği açısından piyasada satışa sunum açısından uygundur. Kolajen hidrolizat içeren meyveli içecek üretimi içerik ve fonksiyonel özelliklerini depolama sırasında yitirmemektedir. Bu ürünlerin tüketimi tarafından beğenileceği ve güzellik ve sağlık açısından özellikle bayanlar tarafından ilgi duyulacağı düşünülerek ticari üretim ile birlikte ülkemiz ekonomisinde önemli bir etki yaratacaktır. Ortaya

ıkan ürünün, pazar açısından yeni açılımlar yaratabileceği, öğrenilen bilgi birikimi ile bu proje sonrasında farklı yeni ürünler yaratılabileceği düşünülmektedir. Bu faaliyetler ile katma değer yaratılması ve istihdam sağlanması da beklenilmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abderrahim, F., Arribas, S.M., Gonzales, M.C., Hoyos, C.L.,** 2013, Rapid high throughput assay to assess scavenging capacity index using DPPH, Food Chemistry.
- Adam M., Spacek P., Hulejova H., Galianova A. and Blahos J.,** 1996, Postmenopausal osteoporosis, Treatment with calcitonin and a diet rich in cartilage proteins.
- Allard R., Malak N. And Huc A.,** 2003, Collagen product containing collagen of marine origin with a low odor and preferably with improved mechanical properties, and its use in the form of cosmetic or pharmaceutical compositions or product. United States Patent. Patent No:US 6,660,280 B1.
- Altan, A.,** 1995, Çukurova bölgesinde yetiştirilen beş portakal çeşidinin meyve suyu teknolojisi bakımından önemli bazı özellikleri, Gıda, 20 (4): 215-225pp.
- Altan, A., ve Fenercioğlu, H.,** 1989, Limon suyunun ev koşullarında pastörize edilerek dayandırılması olanağı üzerinde bir araştırma, Gıda Dergisi, 14 (5): 321-328pp.
- Altuğ, T. ve Elmacı, Y.,** 2011, Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, İzmir.
- Anonymous,** 2010, Hydrolyzed collagen and skin healthy 2009 clinical studied results, <http://www.parmentier.de/gelatine/peptan4skin.pdf> (Erişim tarihi: 11 Kasım 2011).
- Anonymous,** 2011a, <http://www.genacolusa.com/genacol.pdf> (Erişim tarihi: 2 Şubat 2013).
- Anonymous,** 2011b, Leather Food Research, Food and Drink Research Association, 205pp.
- Anonymous,** 2012a, <http://www.peptan.com/en/peptan-forprofessionals/information-anddownloads/downloads/brochures>. (Erişim Tarihi: 8 Haziran 2012).
- Anonymous,** 2012b, http://www.rousselot-rhc.com/downloads/cat_view/17-brochures.html?lang=en, (Erişim Tarihi: 8 Haziran 2012).
- Anonymous,** 2012c, http://www.rousselot-rhc.com/downloads/cat_view/17-brochures.html?lang=en, (Erişim Tarihi: 1 Mart 2013).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Anonymous**, 2012d, <http://www.tarim.gov.tr/Sayfalar/Mevzuat>, (Erişim Tarihi: 27 Mart 2012).
- Anonymous**, 2013a, <http://www.genacolusa.com/genacol.pdf> (Erişim tarihi: 2 Şubat 2013).
- Anonymous**, 2013e, http://www.rousselot-rhc.com/downloads/cat_view/17-brochures.html?lang=en (Erişim Tarihi: 1 Mart 2013).
- AOAC.**, 2006, Official Methods of Analysis 967.21, Ascorbic acid in vitamin preparations and juices
- AOAC.**, 2006, Official Methods of Analysis 990.26, Hydroxyproline in Meat and Meat Products.
- Aromsa**, 2012, Doğal nane kullanım oranı raporu.
- Arvanitoyannis, I. S., Houwelingen-Koukaliaroglou, M. V.**, 2005, Functional Foods: A survey of health claims, pros and cons, and current legislation. Critical reviews in food science and nutrition, 45: 385–404pp.
- Asefi, N., ve Artık**, 1922, Limon suyu ve limon konsantresi üretimi ve bileşim unsurları üzerinde araştırma, Gıda Dergisi, 17, 5:303-310pp.
- Ashgar, A and Henrickson, R.L.**, 1982, Chemical, biochemical, functional characteristics of collagen in food system. Advances in food research, 28:231-372-7pp.
- Ashurst, P.R.**, 2005., Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices. 2nd Edition, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 374 p.
- Betty, V., Humbert, P., Rougier, A., Colinge, A.C., Haftek, M., Lambert, C., Richard, A., Creidi, P. and Lapiere, C.M.**, 2001, Topically applied vitamin C enhances the mRNA level of collagens I and III, Their Processing Enzymes and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase I in the Human Dermis, The Society for Investigative Dermatology.
- Bitsch, R., Netzel, M., Carle, E., Strass, G., Kesenheimer, B., Herbst, M. and Bitsch, I.**, 2001, Bioavailability of antioxidative compounds from Brettacher apple juice in humans. Innovative Food Science Emerging Technology, 1: 245-249pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bull, M., K., Zerdin, K., Howe, E., Goicoechea, D., Paramanandhan, P. and Stockman, R.,** 2004, The effect of highpressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5:135-149pp.
- Burdurlu, H. S., ve Karadeniz, F.,** 2002. Gıdalarda maillard reaksiyonu. *Akademik Gıda Dergisi* 27:77-83pp.
- Burin, V.M., Hillmann, M.C.R. and Bordignon-Luiz, M.T.,**2011, Thermal degradation kinetics of anthocyanins in grape juice and concentrate. *Int. J. Food Sci. Technol.*46p.
- Byers, T. and Perry, G.,** 1992, Dietary carotenes, vitamin C and vitamin E as protective antioxidants in human cancers, *Annual Review Nutrition*, 12: 139-159pp.
- Capanoğlu, E., Beekwilder, J., Boyacıoğlu, D., Hall, R. ve De Vos, C.H.R.,** 2012, Changes in antioxidants and metabolite profiles during production of tomato paste, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (3):964-973pp.
- Cemeroğlu, B.,** 1977, Doğal ve ticari meyve sularında nitrat miktarı üzerinde bir araştırma, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı*, 26: 570-586pp.
- Cemeroğlu B.,** 2007, Gıda Analizleri, *Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü*, 1-70pp.
- Cemeroğlu, B. and Acar, J.** 1986, *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Gıda Teknolojisi Derneği, Ankara, 6:5-64-66pp.
- Cemeroğlu, B. ve Artık, N.,** 1990, Isıl işlem ve depolama koşullarının nar antosiyaninleri üzerine etkisi, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 15:13-19pp.
- Cemeroğlu, B. Ve Karadeniz F.,** 2001. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi-2*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:25, Ankara.
- Chai D., Jester J. V., Winkler M., Jester B. E., Nien C. and Brown D. J.,** 2010, Evaluating corneal collagen organization using high-resolution nonlinear optical microscopy.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Con., H., A., Tülek Y. Ve Ceviz, G.,** 2009, Thermal resistance of Alicyclobacillus acidoterrestris spores in different media, International Journal of Food Science and Technology, 44:1770-1777pp.
- Corte's, C., Esteve, M.J. and Frígola, A.,** 2007, Color of orange juice treated by high intensity pulsed electric fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. Food Control 19 (2):151–158.
- Coşkun, T.,** 2005, Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Prosedürü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 48:6-84pp
- Culav, E. M., Clark, C. H. and Merrilees M. J.,** 1999, Connective Tissues: Matrix composition and its relevance to physical therapy. Physical Therapy 79:308-319pp.
- Dajvalos, A., Bartoloma, B., and Gamez-Cordova, C.,** 2004., Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars, Food Chemical.
- Dani., C, Oliboni., LS, Vanderlinde., R. And Bonatto, D.,** 2007, Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically - or conventionally-produced grapes. Food Chemical Toxicology, 45: 2574-2580pp
- Denver,** 2006, New study finds key role for collagen hydrolysate in managing chronic joint symptoms, Food Chemical, German.
- Djavani, M., Kirkali, B.G., and Güner, G.,** 1991, Amino acid composition of elastin purified from bovine human aortas, American Journal of Medical and Medical Sciences, 19:545pp.
- Doğan, H. B.,** 2000, *Alicyclobacillus Acidoterrestris* Spores Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara, 461-464pp.
- Doğu, S.,** 2009, Fonksiyonel gıda pazarı, Radikal Gazetesi.
- Eiroa., MNU., Juoqueira., VCA. and Schmidt, F.L.,** 1999, Alicyclobacillus in orange juice: occurrence and heat resistance of spores. J. Food Prot., 62:883-886pp.
- Ekşi, A.,** 2005, Bilimsel ve yasal açıdan gıdaların fonksiyonelliği, Gıda Kongresi 2005, 19-21 Nisan 2005, İzmir, 6-12pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ekşi, A. ve Özen, İ.T.**, 2012, Kivi meyvesinin kimyasal bileşenleri ve fonksiyonel özellikleri, Ordu Üniversitesi Teknik Dergisi, 2: 54-67pp.
- Ersöz, T.**, 2011. Bilimsel tedaviye bilimsel bakış: doğrular ve yanlışlar, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Framakognozi Anabilim Dalı, Ankara.
- FAO**, 2010, FAO, Global Forest Resources Assessment 2010, Food And Agriculture Organization of the United Nations, <http://foris.fao.org/static/data/fra2010/KeyFindings-en.pdf>, 3-9pp.
- Fenercioğlu, H. ve Tüfekçi, H.**, 2010, Türkiye’de üretilen bazı ticari meyve sularının kimyasal özellikler açısından gıda mevzuatına uygunluğu, Akademik Gıda Dergisi, 8 (2):11-17pp.
- Gaze, J. E., and Betts, G. D.**, 1992, Food pasteurization treatments: Campden Food and Drink Research Association.
- Genova, G., Lacopini, P., Baldi, M., Ranieri, A., Storchi, P. and Sebastiani, L.**, 2012, Temperature and storage effects on antioxidant activity of juice from red and white grapes, International Journal of Food Science and Technology, 47:13–23pp.
- Gil-Izquierdo, A., Ferreres, F. and Francisco A.**, 2001, In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange juice, Food Chemical, 49: 1035-1041pp.
- Gökçe ve Özel**, 2006, Spor içecekleri ve dental erozyon, Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 1:14-17pp.
- Güven, A. ve Gülmez M.**, 2005, Fonksiyonel gıdalar ve sağlıkla ilişkisi, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars.
- Hersom, A.C. and Hulland, E.D.**, 1980, Canned Foods: Thermal Processing and Microbiology, 89p.
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Van de Putte, B.**, 1993, Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. J Agric Food Chemical, 41: 1242-1246pp.
- Anonymous**, 1997, Vitamin C fortification of food aid commodities: Final report, Institute of Medicine, National Academy Press, 205pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Işık, Ö.**, 2008, Pastörizasyon sıcaklığının Kozan yerlisi ve Hamlin portakallarından üretilen meyve sularının kalitesi üzerine etkisi, Çukurova Üniversitesi.
- Karadeniz, F., Burdurlu, H.S., Koca, N. and Soyer, Y.**, 2005, Antioxidant capacity, total phenolics and flavonoids in different fruits and vegetables. Turkish J Agric Forestry.
- Karagözlü, N.**, 2004, Meyve sularında bozulma etmeni: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, Journal Agriculture Faculty Harran Üniversitesi 8 (1):15-21pp.
- Karapınar, M.**, 1995, Gıdaların Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 198p.
- Kaur, C., and Kapoor, H.C.**, 2001, Antioxidants in fruits and vegetables-the millenium shealth. Int J Food Sci Technology, 36: 703-725pp.
- Kelebek, H., Selli, S., Canbaş, A. ve Çabaroğlu, T.**, 2009, HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange Juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. Microchem J, 91:187-192pp.
- Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M. and Gliszczynska-Swiglo, A.**, 2007, Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. J. Food Compost. Anal., 20: 313-322pp.
- Klopotek, Y., Otto, K. And Böhm, V.**, 2005, Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 5640-5646pp.
- Komitopoulou, E., Boziaris, I.S., Davies, E.A., Delves-Roughton, J and Adams, M.R.**, 1999, *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices and its control by nisin. International Journal of Food Science and Technology, 34:81-85pp.
- Lee, H. S. And Coates, G. A.**, 1999, Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled orange juice; A storage study, Food Chemistry, 65:165-168pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lee, H.S. and Coates, G.A.**, 2003, Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice colour and pigments. *Food Science and Technology* 36: 153-156pp.
- Lewis, MJ and Heppell, NJ.**, 2000, Continuous flow thermal processing of foodstuffs, Aspen publishers.
- Macheix, JJ., Fleuriet, A., and Billot, J.**, 1990, Fruit phenolics. CRC Press, Boca Raton, Florida, 357 p.
- Maldonado, MC, Belfiore, C, Navarro, A.R.**, 2008, Temperature, soluble solids and pH effects on *Alicyclobacillus acidoterrestris* viability in lemon juice concentrate. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. J. Indus. Microbiol. Biotechnol. 35: 141–144pp.
- Miller, E.J. and Gay, S.**, 1987, The collagens: an overview and update. *Methods Enzymol* 144: 3-41pp.
- Miller, S., Hennlich, W, Cerny, G. and Duong, H.A.**, 2001, *Alicyclobacillus*
- Moskowitz R.**, 2000, Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease. seminars in arthritis and rheumatism, Vol:30, 2: 87-99pp.
- Murakami, M., Tedzuka, H. and Yamazaki, K.**, 1998, Thermal resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in different buffers and pH. *Food Microbiology*, 15:577-582pp.
- Nagler, A., Gofrit, O., Ohana, M., Pode, D., Genina, O., Pines, M.**, 2000, The effect of halofuginone, an inhibitor of collagen type I synthesis, on urethral stricture formation in vivo and in vitro study in a rat model. *J Urol*. 164:1776-1780pp.
- Nagy, S. and Attaway, J.A.**, 1994, Anticancer phytochemicals of citrus fruits and their juice products. *Fruit Process.*, 11: 349-354 pp.
- O'Brien, A. and Robertson, D.**, 1993, In the technology of vitamins in food.
- Oğuz, O.**, 2002, Yaşlılık ve deri. *T Klin Dermatol*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 12:225-8pp.
- Ohara, H., Ito, K., Iida, H. and Matsumoto, H.**, 2009. Improvement in the moisture content of the stratum corneum following 4 weeks of collagen hydrolysate ingestion. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 56:137–45pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Oszmiański, J. and Wojdyło, A.,** 2009, Effects of blackcurrant and apple pulp blended on phenolics, antioxidant capacity and colour of juices. *Journal Czech Food Technology*, **27**:338–351pp.
- Özyurt, V. H., Özdestan, Ö., Tavman, Ş. ve Ötleş S.,** 2013, Karışık meyve nektarının depolanmasında askorbik asit değişim kinetiği, *Dünya Gıda Dergisi*.
- Polydera, A.C., Stoforos, N.G. and Taoukis, P.S.,** 2005, Effect of high hydrostatic pressure treatment on post processing antioxidant activity of fresh Navel orange juice. *Food Chemistry*, **91**:495-503pp.
- Pala, M.,** 1978, Besin işlemede uygun sterilizasyon koşullarının saptanması, *Gıda* **3** (4-5): 161-170 pp.
- Palop, A., Alvarez, I., Raso, J. and Condon, S.,** 2000, Heat resistance of *Alicyclobacillus acidocaldarius* in water, various buffers and orange juice. *Journal of Food Protection*, **63** (10):1377-1380pp.
- Palop, A., Alvarez, I., Raso, J. and Condon, S.,** 2000, Heat resistance of *Alicyclobacillus acidocaldarius* in water, various buffers and orange juice. *Journal of Food Protection*, **63**: (10), 1377-1380pp.
- Peleg, H., Naim, M., Rouseff, R.L. and Zehavi, U.,** 1991. Distribution of bound and free phenolic acids in oranges (*Citrus sinensis*) and grapefruits (*Citrus paradisi*). *J Sci Food Agriculturel*, **57**: 417-426pp.
- Pettipher, G. L., Osmundsen, M.E. and Murphy, J.M.,** 1997, Methods for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and investigation of growth and production of taint in fruit juice containing drinks. *Letters in Applied Microbiology*, **24**:185-189pp.
- Pontius, A. J., Rushing, J.E., and Foegeding, P.M.,** 1998, Heat resistance of
- Postlethwaite, A.E., Seyer, J.M. and Kang, A.H.,** 1978, Chemotactic attraction of human fibroblasts to type I, II, and III collagens and collagen derived peptides, *Proc Acad Sci USA* **75**: 871-875pp.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P. and Glover, W.,** 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemical*, **66**: 401-436pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Robertson, G. L. and Miller, S. L.**, 1984, Uncertainties associated with the estimation of F_0 values in cans, which heat by conduction. *Journal of Food Technology*, 19:623–630pp.
- Rousselot, 2011**, The production of collagen hydrolysate, Rousselot Company, France.
- Saçcan, A., Omay, S., ve Akın, M.**, 2011, Kronik sigara içen koroner arter hastalarında agonistlerle indüklenmiş in-vitro trombosit agresyon yanıtı, *Türk Kardiyoloji Dereği Araştırma Merkezi*, 29:488-492pp.
- Sarıtaş, A. N.**, 2009, Elma suyu üretiminde askorbik asit ve sinnamik asit ilavesinin ve farklı pastörizasyon parametrelerinin *Alicyclobacillus acidoterrestris* inaktivasyonu üzerine etkileri, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 102 pp.
- Scalzo, R.L., Iannocari, T., Summa, C., Morelli, R. and Rapisarda, P.**, 2004. Effect of Thermal Treatments on Antioxidant and Antiradical Activity of Blood Orange Juice. *Food Chemistry* 85; 41–47pp.
- Scrinis G.**, 2008, Functional foods, functionally marketed foods? A critique of, and alternatives to, three categories of functional foods. *Public Health Nutr* 11(5): 541–5pp
- Sharma, S.R., Poddar, R. and Sen, P.**, 2008, Effect of vitamin C biosynthesis degree of birefringence in polarization sensitive optical coherence tomography. *African journal of biotechnology*, 7: 2049-2054 pp.
- Silva, F. V. M. and Gibbs, P.**, 2001. *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in fruit products and design of pasteurization processes. *Trends in Food Science and Technology*, 12: 68-74pp.
- Silva, F. V. M. and Gibbs, P.**, 2010, Target selection in designing pasteurization processes for shelf-stable high-acid fruit products, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 353-360pp.
- Singleton, U.L., and Rossi, J.**, 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent, *J. Enol. Vit.*, 16: 144p.
- Splittstoesser, D. F., Churey, J.J. and Lee, C.Y.**, 1994, Growth characteristics of aciduric sporeforming Bacilli isolated from fruit juices. *Journal of Food Protection*, 57 (12), 1080-1083pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Splittstoesser, D., F., Lee, C.Y. and Churey, J.J.**, 1998, Control of Alicyclobacillus in the juice industry. Dairy, Food and Environmental Sanitation, 18 (9), 585-587pp.
- Suzana, P., Stella., Alessandra, C., Ferrarezi, Karina, O., Santos, D. and Magali, M.**, 2011, Antioxidant activity of commercial ready-to-drink orange juice and nectar, Food Chemistry, vol:76.
- Şahbaz, F., Cemeroglu, B., ve Acar, J.**, 1996, Gıda mühendisliğinde sterilizasyon, Düzeltilmiş 2.Baskı. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları Ders Notları, 37:134pp.
- Tanaka, M., Koyama Y. and Nomura Y.**,2009, Effects of collagen peptide ingestion on UV-B-Induced, Japan.
- Tochi, B.N., Wang, Z., Xu, S.Y. and Zhang, W.**, 2009, The influence of a pectinase and pectinase/hemicellulases enzyme preparations on percentage pineapple juice recovery, particulates and sensory attributes. Pakistan Journal of Nutrition 8 (8): 1184-1189pp.
- Vaskonen, T., E., Mervaala, L. Krogerus and H., Karppanen**, 2002, Supplementation of plantsterols and Minerals Benefits obese Zucker Rats fed on atherogenic diet. Journal Nutrition, 132: 231-237pp.
- Wei, J.**, 1995, Altered immune responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase, 408-411 pp.
- Wu, J., Fujioka, M., Sugimota, K., Mu, G. and Ishimi, Y.**, 2004, Assessment of effectiveness of oral administration of collagen peptide on bone metabolism in growing and mature rats, Journal of bone and mineral metabolism, 22-47-553pp.
- Xezones, T. and Hutchings P.**, 1965, Thermal Processing of Packaged Foods, 108p.
- Yamazaki K., Tedzuka, H. and Shinano, H.**, 1996, Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from acidic beverages.
- Yetim, H.**, 2001, Jelatin üretimi, özellikleri ve kullanımı, Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Zhishen, J., Mengcheng, T., and Jianmig, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemical, 64: 555-559pp.

ÖZGEÇMİŞ

SİBEL KAYA BAYRAM

1987 yılında Kars'da doğmuş, ilköğrenimini, ortaöğrenimini ve lise öğrenimini İzmir'de tamamlamıştır. 2005-2009 yılları arasında Lisans eğitimini, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünde tamamlamış ve 2008-2009 Eğitim – Öğretim Yılı Güz döneminde ise Polonya'da bulunan ‘‘University of Technology and Life Sciences in Bydgoszcz’’ Üniversitesinde LLP Erasmus Programı kapsamında değişim öğrencisi olarak görev almıştır. 2010 yılında Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır. Meyve Sebze Teknolojisi Bölümünde yürüttüğü yüksek lisans eğitimini 2013 yılında tamamlamıştır.