



**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**



**YÜKSEK HİDROSTATİK BASINÇ UYGULAMASININ MEYAN  
KÖKÜ ŞERBETİNİN SPORLU BAKTERİ YÜKÜ VE  
FİZİKOKİMYASAL KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Semih Yaşar GENİŞ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**ÇANAKKALE**

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**YÜKSEK HİDROSTATİK BASINÇ UYGULAMASININ MEYAN  
KÖKÜ ŞERBETİNİN SPORLU BAKTERİ YÜKÜ VE  
FİZİKOKİMYASAL KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Semih Yaşar GENİŞ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Tezin Sunulduğu Tarih:03/06/2016**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA**

**ÇANAKKALE**

Semih Yaşar GENİŞ tarafından Yrd.Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA yönetiminde hazırlanan ve **03/06/2016** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Yüksek Hidrosatik Basınç Uygulamasının Meyan Kökü Şerbetinin Sporlu Bakteri Yükü ve Fizikokimyasal Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

**JÜRİ**

Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA .....

**Başkan**

Prof. Dr. Cengiz CANER .....

**Üye**

Doç. Dr. İsmet Öztürk .....

**Üye**

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu tez çalışması, TÜBİTAK tarafından, 114O087 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Semih Yaşar GENİŞ

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince, bilgi ve deneyimlerini paylaşan, şahsıma her konuda yardımcı olan, yol gösteren, kendisinden çok şey öğrendiğim değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA'ya teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Ayrıca;

Bilgisi, deneyimi ve tecrübesiyle çalışmalarına katkıda bulunan değerli hocam Sayın Öğr. Gör. Serpil ADAY'a,

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne,

Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne, TUTAGEM birimine ve çalışanlarına teşekkürlerimi borç bilirim.

Semih Yaşar GENİŞ  
Çanakkale, Haziran 2016

## SİMGELER VE KISALTMALAR

MKŞ	Meyan Kökü Şerbeti
YHB	Yüksek Hidrostatik Basınç
M.Ö	Milattan Önce
MPa	Megapascal
UV	Ultraviyole
g	Gram
dk	Dakika
s	Saniye
cm	Santimetre
m	Metre
mM	Milimolar
P+	Yüksek Basınç İşlemi Uygulaması Yapılmış Örnek
Kob	Koloni Oluşturan Birim
mL	Mililitre
Ctrl	Kontrol örneği
TEAC	Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
a/h	Ağırlık/Hacim
a/a	Ağırlık/Ağırlık

## ÖZET

# YÜKSEK HİDROSTATİK BASINÇ UYGULAMASININ MEYAN KÖKÜ ŞERBETİNİN SPORLU BAKTERİ YÜKÜ VE FİZİKOKİMYASAL KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Semih Yaşar GENİŞ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA

03/06/2016, 55

Bu çalışmada, Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgelerine özgü geleneksel bir içecek olan meyan kökü şerbetinin (MKŞ) doğal florasında bulunan bakteri sporları üzerine Yüksek Hidrostatik Basınç (YHB) teknolojisinin inaktivasyon etkisinin araştırılması ve uygulanan YHB çalışma parametrelerinin, şerbetin fizikokimyasal kalite özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. MKŞ örneklerinin ortalama aerobik mezofilik spor yükü  $2,53 \pm 0,64$  log kob/mL (n=5) olarak belirlenmiş olup, anaerobik mezofilik spor yükünün belirlenmesi amacıyla RCA (Reinforced Clostridial Agar, Merck, Almanya) besiyerinde anaerobik ortamda yürütülen inkübasyon sonucunda (n=4) herhangi bir anaerobik spor gelişimi gözlenmemiştir (<1 log kob/mL). Orta derecede sıcaklık (20-30 °C) ile kombinasyonlu, 450 MPa basınç değerinde ve 5, 15 ve 30 dk aralığında yürütülen YHB denemesi ile hem doğal olarak bulunan aerobik mezofilik spor yükü hem de inokule *Geobacillus stearothermophilus* sporlarının sayısında meydana gelen değişim incelenmiştir.  $1,8 \pm 0,14$  log kob/mL log civarında olan başlangıç aerobik mezofilik spor yükü 5-30 dakika YHB uygulaması azalma eğiliminde olup, 30 dk sonunda yaklaşık 1 log azalma görülmektedir. *G. stearothermophilus* ATCC 7953 sporları üzerine 30 dk YHB uygulaması sonrasında başlangıç spor yükünde sadece 0,2 log'luk bir azalma meydana gelmiştir. Sporların mekanik etki ile düşük basınçlarda ve orta derecede sıcaklıklarda germinasyonunun teşvik edilmesi ve vejetatif forma dönüşen hücrelerin YHB ile inaktivasyonunun incelenmesi amacıyla MKŞ örneklerinin hem doğal spor yükü hem de inokule edilen *G. stearothermophilus* sporlarının sayısında meydana gelen azalmanın ortaya konması amacıyla da oda koşullarında (20-30 °C) 200MPa'da 15 dk basınçlama,

daha sonra 15 dk bekleme ve takiben 450 MPa'da 15 dk basınçlama şeklinde bir seri YHB uygulaması gerçekleştirilmiştir. Germinasyon uygulaması sonrasında, doğal areobik mezofilik spor yükünde 1 log azalma gerçekleşirken, uygulamanın *G. stearothermophilus* sporları üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır. YHB çalışma parametrelerinin MKŞ örneklerinin fizikokimyasal kalite parametreleri (pH, suda çözünür kuru madde (SÇKM), renk ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ), toplam fenol, toplam flavonoid, glisirik asit ve trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) üzerine olası etkileri de araştırılmış olup önemli bir değişim gözlenmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Yüksek Hidrostatik Basınç, Meyan Kökü Şerbeti, Bakteri Sporları





## ABSTRACT

### EFFECTS OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE ON SPOR-FORMING BACTERIA LOAD AND PHYSICO-CHEMICAL QUALITY CHARACTERISTICS

Semih Yaşar GENİŞ

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Science Department of Food Engineering

Advisor: Assist. Prof.Dr. Çiğdem UYSAL PALA

03/06/2016, 55

In this study, Southeastern and Eastern Anatolia Region to the traditional drink with Liquorice Root Juice (MKŞ) on bacterial spores in natural flora has been investigated the effect of inactivation of technology of High Hydrostatic Pressure (HHP), and HHP operating parameters applied, the MKŞ aimed to determine the effect on the physico-chemical quality parameters. MKŞ samples, the average aerobic mesophilic spore amount of  $2.53 \pm 0.64$  log cfu / mL (n = 5) is determined, RCA to determine the anaerobic mesophilic spore amount (Reinforced Clostridial Agar, Merck, Germany) carried out in an anaerobic environment in the incubation result (n = 4) did not reveal any anaerobic spore development. Mid-range temperatures (20-30°C) with the combination of 450 MPa pressure value and 5, 15 and 30 min intervals conducted the anaerobic spore amount both naturally occurring and HHP experiment were examined the changes that occur in the number of both inoculated *Geobacillus stearothermophilus* spores.  $1.8 \pm 0.14$  log cfu/mL starting aerobic spore amount, which is about 5-30 minutes HHP application tends to decline, affecting about 1 log reduction after 30 minutes. *G. stearothermophilus* ATCC 7953 spores on spore amount in the initial 30 minutes after application of HHP was only 0.2 log reduction. Spores and mechanical effects of low pressure and mid-range temperature in the promotion of germination and vegetative form MKŞ sample to be examined by HHP inactivation of both natural spores amount cells return as well as inoculation *G. stearothermophilus* in the number of sports in the room conditions in order to determine the decrease occurred (20-30°C) 200 MPa for 15 min pressurizing, then 15 min wait and after the 450 MPa for 15 minutes pressurizing the form of a series HHP application is performed. After germination of the application, 1 log reduction in natural aerobic spore amount takes place, it has not been any impact on the implementation of the

*G. stearotherphilus* spores. HHP operating parameters, physicochemical quality parameters MKŞ instance (pH, soluble solids (TSS), color (L\*, a\* and b\*), total phenols, total flavonoids, glisirizik acid and Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) is investigated the possible effects of it is not observed any significant change.

**Key words:** High Hydrostatik Pressure, Licorice Root Juice, Bacteria Spores



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiii
BÖLÜM 1 .....	1
GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2.....	4
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	4
2.1. Meyan Kökü ve Şerbeti.....	4
2.2. Yüksek Hidrostatik Basınç Teknolojisi .....	8
2.3. Yüksek Hidrostatik Basınç Teknolojisinin Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi .....	13
BÖLÜM 3 .....	24
MATERYAL VE METOT .....	24
3.1. Materyal .....	24
3.2. Deneme Planı .....	24
3.2.1. Meyan Kökü Şerbeti Üretimi.....	24
3.2.2 Mikrobiyolojik Analiz Yöntemleri .....	25
3.2.2.1. Toplam Canlı Sayımı.....	25
3.2.2.2. Maya Küf Sayımı .....	25
3.2.2.3. Koliform Sayımı.....	25
3.2.2.4. Aerobik Mezofilik Spor Sayımı .....	25
3.2.2.5. Anaerobik Mezofilik Spor Sayımı .....	25
3.2.2.6. <i>G. stearothermophilus</i> Sporlarının İnokülasyonu ve Sayımı .....	26
3.2.3.Fizikokimyasal Analiz Yöntemleri.....	26
3.2.3.1.Suda Çözünür Kuru Madde .....	26
3.2.3.2.pH Analizi .....	26

3.2.3.3. Renk Ölçümü.....	26
3.2.3.4. Toplam Fenol Miktarı .....	26
3.2.3.5. Toplam Flavonoid Miktarı .....	27
3.2.3.6. TEAC (Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) Yöntemi .....	28
3.2.3.7. Glisirik Asit Miktarının Belirlenmesi.....	28
3.2.4. İstatistiksel Analiz .....	29
BÖLÜM 4 .....	30
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	30
4.1. YHB Uygulamasının MKŞ’de Bulunan Bakteriyel Spor Yüğü Üzerine Etkisi .....	30
4.1.1. YHB Uygulamasının MKŞ’ne İnoküle <i>G. stearothermophilus</i> ATCC 7953 Sporları Üzerine Etkisi .....	33
4.1.2. Germinasyon Çalışması .....	34
4.2. YHB Uygulamalarının MKŞ’nin Fizikokimyasal Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi .....	36
4.3. Germinasyon Uygulamasının MKŞ’nin Fizikokimyasal Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi .....	40
BÖLÜM 5 .....	43
SONUÇ VE ÖNERİLER .....	43
KAYNAKLAR .....	44
ÖZGEÇMİŞ .....	55

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2.1. Mac Andrews & Forbes Company Meyan Kökü Ticareti	4
Şekil 2.2. Şirketin Söke'de bulunan meyan kökü toplama merkezi	5
Şekil 2.3. Söke'de bulunan Forbes Köşkü	5
Şekil 2.4. Meyan Bitkisi	6
Şekil 2.5. Yüksek Hidrostatik Basınç Cihazı ve kısımları	10
Şekil 3.1. Toplam fenol miktarı analizi için hazırlanmış gallik asit standart eğrisi	27
Şekil 3.2. Toplam flavonoid miktarı analizi için standart eğrisi	27
Şekil 3.3. Glisirizik Asit Standart Eğrisi	29
Şekil 4.1. YHB uygulaması sırasındaki sıcaklık değişimleri	31
Şekil 4.2. MKŞ'nin doğal florasında bulunan sporlu bakteri yükü üzerine YHB uygulamasının etkisi	31
Şekil 4.3. MKŞ'e inoküle G. stearothermophilus yükü üzerine YHB uygulamasının etkisi	34
Şekil 4.4. Glisirizik Asit HPLC analizi	38

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa No

Çizelge 2.1. Yüksek Basınç Teknolojisi ile üretilen bazı ticari ürünler ve YHB uygulama parametreleri .....	9
Çizelge 2.2. Bazı ülkelerin yüksek basınç teknolojisi ile ürettiği ürünler .....	12
Çizelge 2.3. Sporlu mikroorganizmalara YHB'nin etkisi çalışmaları.....	15
Çizelge 4.1. Germinasyon çalışması.....	35
Çizelge 4.2. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulanan Meyan Kökü Şerbetinde kontrol, P+ 5dk, P+ 15 dk, P+ 30 dk örneklerinin renk, pH, SÇKM değerlerindeki değişim .....	36
Çizelge 4.3. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulanan Meyan Kökü Şerbetinde kontrol, P+ 5dk, P+ 15 dk, P+ 30 dk örneklerinin Glisirizik Asit, Toplam Fenol, Toplam Flavonoid ve TEAC değerlerindeki değişim .....	38
Çizelge 4.4. Germinasyon Çalışmasının MKŞ'de SÇKM, pH, ve renk Üzerine Etkisi.....	40
Çizelge 4.5. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulanan Meyan Kökü Şerbetinde Kontrol ve Germinasyon örneklerinin glisirizik asit, Toplam Fenol, Toplam Flavonoid ve TEAC değerlerindeki değişim .....	41

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Son yıllarda tüketiciler, doğal renk ve aromalara sahip olan, minimal işlenmiş, katkısız ve koruyucusuz olarak üretilmiş ve ambalajlanmış gıdaları tercih etmektedirler. Raf ömrü açısından, ısıtıl işlem ile üretilen ürünler mikrobiyolojik olarak daha uzun raf ömrüne sahip olsa da, tüketici tarafından; doğal rengi ve tadı korunmuş, taze aroması bulunan ve koruyucu içermeyen gıdalar tercih edilmesi nedeniyle ısıtıl olmayan işleme yöntemleri geliştirilmektedir. Isıtıl olmayan muhafaza teknikleri arasında, yüksek hidrostatik basınç (YHB), ışınlama (Gama ve UV ışınları), vurgulu elektrikli alan (PEF), ultrases vb. teknolojileri bulunmaktadır. Bu teknolojiler, ısıtıl işlem uygulaması olmadan, enzimleri ve mikroorganizmaları inaktif eden işleme yöntemleridir. Bunun yanı sıra bu yöntemler renk, aroma gibi duyuşsal özelliklerde olduğu gibi, vitamin ve biyoaktif bileşenlerde de önemli bir değişikliğe yol açmadan raf ömrü artışı oluşturmakta ve ürünlerde muhafaza sağlamaktadır (Fellows, 2000).

Halk arasında ‘‘Bıyam, Bıyan, Bıyam, Boyam, Boyan, Meyan, Miyan, Payan, Pıyam, Pıyan’’ gibi isimleri olan meyan bitkisi (*Glycyrrhiza glabra* L.) M.Ö. 2000 yıllarından itibaren tıbbi ve endüstriyel amaçla kullanılan önemli bir bitkidir. Meyan; Rusya, İspanya gibi Avrupa ülkelerinin yanı sıra İran ve Hindistan gibi ülkelerde özel olarak kültürel anlamda yetiştirilirken, Güney ve Orta Avrupa ile Türkiye’de doğada kendiliğinden yetişmektedir. Baklagiller (Leguminosae) familyasının bir üyesi olan meyan (*Glycyrrhiza* L.) bitkisi, dünya genelinde 12 türüyle ifade edilmektedir. Bitkinin anavatanı olan ülkelerden birisi de Türkiye’dir. Ülkemizde 6 adet türünün yetiştiği söylenmektedir. Ülkemizde daha çok Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgelerinde toplanan meyan bitkisi, haziran-temmuz ayları arasında sarı, mavi veya kahverengi çiçekler açan, 0,4-2 m yüksekliğinde odunsu, çok yıllık bir çalı bitkisidir (Zhang ve Ye, 2009, Akan ve Balos, 2008; Şerbetçi, 2007).

Meyan bitkisinin kökleri, meyan kökü olarak bilinmekte ve Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgelerine özgü geleneksel bir içecek olan meyan kökü şerbeti (MKŞ) üretiminde kullanılmaktadır. Meyan kökünün su ile ekstrakte edilmesi sonucunda üretilen özüt, meyan şerbeti ismi ile bilinmektedir ve ülkemizde yaygın olarak Diyarbakır, Batman, Şanlıurfa, Mardin, Adana, Mersin, Hatay, K. Maraş ve Gaziantep illerinde sevilen bir iecedir ve sıklıkla tüketilmektedir.

Akan ve Balos (2008) yaptıkları çalışmada meyan kökünün, GAP Bölgesinde doğal olarak yetişen ve üretilen, bunun yanında bölgeden ihracatı yapılmakta olan bir bitki olduğunu, meyan kökü bitkisinin bölgede hasat sırasında, nasıl hasat edildiğini ve halk arasında nasıl kullanıldığını araştırmışlardır. Yöre halkı tarafından hasat edilen meyan kökleri, herhangi bir ürün işlemesi olmaksızın, ürünü bölgeden satın alan tüccarlara, ve bu tüccarlar da bu kökleri ihracat yapan işletmelere ve girişimcilere veya meyan balı ve MKŞ üreten işletmelere verdiklerini belirtmektedir (Akan ve Balos, 2008).

MKŞ'ne raf ömrü kazandırılması için yapılan çalışmalarda kullanılan ısıtma işlemler meyan kökünün raf ömrünü artırmakla birlikte (Baran ve Fenercioğlu, 1991) ısıtma işlem görmüş MKŞ'nin tadı bu durumdan olumsuz etkilenmektedir. Isıtma işlem uygulaması olmayan YHB gibi yöntemler, gıda işlemede meydana gelecek renk, lezzet, tekstür ve besin değeri kayıplarına neden olmadan oda sıcaklığı koşulları ve oda koşullarına yakın sıcaklıklarda mikroorganizmaları inaktif hale getirmek için kullanılabilirler. Patojen mikroorganizmalar inaktif hale gelirken, renk ve aroma önemli ölçüde etkilenmemektedir (Ross vd., 2003., Linton vd.,2004).

MKŞ'nin duyu özelliklerini ve besin değerini değişikliğe uğratmadan güvenli hale getirebilecek ısıtma olmayan işleme yöntemlerinden YHB teknolojisi ön plana çıkmaktadır. Bu teknoloji ile MKŞ üzerinde yapılan herhangi bir çalışma olmamakla birlikte, literatürde meyve sularına inoküle edilmiş enterik patojen mikroorganizmaların YHB ile inaktivasyonu üzerine yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Linton vd. 1999, Alpas ve Bozoğlu, 2003; Ramaswamy vd. 2003; Guerrero-Beltran vd. 2011).

Meyve sularının antioksidan aktivitesine katkıda bulunan antosiyaninler ve fenolik maddeler gibi fonksiyonel bileşenlerin miktarlarında, pastörizasyon ve evaporasyon gibi ısıtma işlemler sırasında uygulanan sıcaklıkla orantılı olarak azalmalar meydana gelmektedir (Rawson vd.,2011). Isıtma olmayan bir muhafaza yöntemi olan YHB teknolojisi ile meyve ve sebzelerdeki sağlığa olumlu etkileri kanıtlanmış fonksiyonel bileşenler en iyi şekilde korunurken, meyve suları düşük sıcaklıklarda ve kimyasal koruyuculara ihtiyaç duyulmadan pastörize edilebilerek taze sıkılmış meyve suyu özelliklerine yakın meyve suları elde edilebilmektedir (Deliza vd., 2005).

Bu tez çalışmasında, Doğu Akdeniz, Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgelerine özgü geleneksel bir içecek olan meyan kökü şerbetinin raf ömrünün arttırılması hedefi ile, doğal florasında bulunan bakteri sporları üzerine YHB uygulamasının etkisinin araştırılması ve belirlenecek YHB çalışma parametrelerinin, söz konusu şerbetin fizikokimyasal kalite özellikleriüzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla:



- a. Meyan Kökü Şerbetinde doğal olarak bulunan aerobik ve anaerobik spor sayısının belirlenmesi,
- b. Orta derecede sıcaklık ile kombine edilen YHB altında doğal florada bulunan sporların ve şerbete inoküle *Geobacillus stearothermophilus* sporlarının inaktivasyonun incelenmesi,
- c. Doğal florada bulunan ve inoküle *Geobacillus stearothermophilus* sporların mekanik etki ile düşük basınçlarda ve orta derece sıcaklıkta germinasyonunun teşvik edilmesi ve vegetatif forma dönüşen hücrelerin YHB ile inaktivasyonu,
- d. b ve c maddelerinde uygulanan YHB parametrelerin şerbetin fizikokimyasal kalite özellikleri (pH, brix, renk değerleri ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ) glisirik asit, toplam fenol, toplam flavanoid, antioksidan aktivite) üzerine etkilerinin ortaya konması planlanmıştır.

YHB ısı olmayan bir muhafaza teknolojisi olarak her geçen gün Amerika, Avrupa ve Japonya'da kullanımı ticarileşmektedir. Henüz ülkemizde ticarileşmemiş bir teknoloji olan YHB ile meyan kökü şerbetinin raf ömrünün arttırılmasına yönelik çalışmalar şimdiye kadar gerçekleştirilmemiş olup bu açıdan özgün bir çalışmadır. Bununla birlikte, meyan şerbetinin doğal florasında bulunan spor yükü ve fizikokimyasal özellikleri üzerine YHB uygulamasının etkinliği bu çalışma ile ilk defa araştırılmıştır.

## BÖLÜM 2

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

#### 2.1. Meyan Kökü ve Şerbeti

Meyan; Avrupa'nın güneyine özgü bir üründür. Çok yıllık, otsu bir bitki olup Akdeniz kıyısı ülkelerde, İran, Rusya ve ABD'nin bazı yörelerinde özel olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır. Anadolu'da da yaygın bir türdür. Dünya 'meyan kökü' üretimi 60-70 bin ton düzeyinde olup, Türkiye; İran ve Rusya'dan sonra 3.sırada yer almaktadır. Bu sıralamayı da; Suriye, Çin, Afganistan ve Cezayir takip etmektedir (Haksel M, 2008).

Türkiye'de meyanın tarımsal üretimi ile ilgili ilk işletme, 1854 yılında Aydın'da Mecandrews ve Forbes şirketi tarafından kurulmuştur. Şirket; ismini kurucuları olan İskoç asıllı Edward MacAndrews ve William Forbes'ten almaktadır. Şirketin yöneticileri olan bu insanlar, 1850 yıllarında, bölgeden meyan kökünü toplamak ve işlemek amacıyla, öncesinde Kahire'ye sonrasında İskenderun ve Halep'e doğru yola çıkmışlardır. Forbes 1854 yılında açmış olduğu Aydın ili ve Nazilli ilçesindeki fabrikalardan sonra, Söke ve Kuşadası'nda yeni fabrikalar kurmuştur (Uygun, 2015).



Şekil 2.1. Mac Andrews & Forbes Company Meyan Kökü Ticareti (Uygun, 2015)



Şekil 2.1. Şirketin Söke’de bulunan meyan kökü toplama merkezi, (Uygun, 2015)



Şekil 2.2. Söke'de bulunan Forbes Köşkü (Uygun, 2015)

Meyan kökünde bulunan şeker, şeker kamışından ve şeker pancarından üretilen sofr şekerinden 50 kat daha tatlı tada sahip olduğu için, bazı ürünlerin üretiminde kullanılmıştır. Bunlar; macun, reçel, aromatik sakızların üretimi ve tatlandırıcı tablet vb. gibi ürünlerdir. Meyan bitkisi ve meyan kökü ilaç olarak, ayrıca ilaç sanayisinde tatlandırıcı ve renklendirici olarak, sigara üretiminde tütünlerin terbiye edilmesinde, kağıt sanayisinde, boyacılık ve ayakkabı boyalarında, tekstil sanayisinde, şekerlikte, bira üretiminde köpük ve aroma verici madde olarak, geleneksel içecek olan ‘meyan şerbeti’ üretiminde, köklerin kurutulup sıkıştırılması sonucunda ses geçirmeyen, tahtamsı plakaların üretimi ve ateşe dayanıklı maddelerin üretilmesinde kullanılan bir üründür. Özellikle, dere ve nehir kenarlarında bol miktarda yetişmektedir. Yüksekliği bazen 1 m’yi bulsa da genel anlamda 30-60 cm’dir. Tüysü yapraklara sahiptir ve bu yapraklar 5-9 bileşik halde yaprakçıktan oluşur. Kış mevsiminde yapraklarını döker. Yaprakların üzerinde mavimsi mor renge sahip, 5-15 cm çiçekleri vardır (Uygun S, 2015, Haksel M, 2008).



Şekil 2.3. Meyan Bitkisi (Haksel,2008)

Bitkinin çiçeklerinin açılması, haziran-temmuz aylarında gerçekleşir. Meyveleri ise 'Badiç' olarak isimlendirilir ve 7-10 cm kadar boya sahiptir. Kökleri 0,5-2,5 cm çapında 15-50 cm uzunlukta, silindir şeklinde bir çubuk biçimindedir. Avrupa pazarında meyan, kabuksuz türü (*Radix Liquiritiae*) ve kabuklu türü (*Radix Liquiritiae naturalis*) olmak üzere iki halde bulunmaktadır. Kabuksuz tür, parlak ve sarı renklidir. Ancak bu tür, bizim ülkemizde elde edilememektedir. Kabuksuz türün fiyatları ise kabuklu türe göre yaklaşık 2 kat daha pahalı olmaktadır. Kabuklu türün rengi kahverengidir. Bu türün, boyuna doğru çizgili bir kabuğu vardır. Kabuklu kök ezildiğinde lifli yapıda bir görüntüsü olur ve sarı renge sahiptir. Kokusu kendisine özgü bir yapıdadır, tadı önce tatlı gibi algılansa da sonrasında acımsı aromatiktir. Sonbahar mevsiminde topraktan çıkarılan kök ve rizomlar temizlenir ve kurutularak kullanıma hazır hale getirilir. Geniş bir kambiyum, sklerenkima demetleri, şerbet üretimi için hazır hale gelen meyan kökünün temel özelliğidir. Eski yıllarda, Ege bölgesinde (İzmir ve çevresi) de yaygın bir şekilde üretimi yapılmakta iken, gününüzde bu bölgede üretim azalmış olup, Doğu ve Güneydoğu illerine kaymıştır (Haksel M, 2008).

Köklerin bileşiminde, nişasta, şekerler, steroller, saponoid, flavonoidler, aminoasitler, zamk, reçine, glabridin ve glisirizin (glisirizik asit) bulunmaktadır. Kökün ana maddesini glisirizin adlı bir glikozit teşkil etmektedir. Bununla birlikte bitki kökleri magnezyum ve silisyum bakımından zengin bir kaynaktır (Akan ve Balos, 2008; Hennel vd., 2008; Şerbetçi 2007).

Glisirizin (glisirizik asit), duyuşal olarak standart sofr şekerlerinden 50 kat daha fazla tatlılığa sahip suda çözünebilen bir pentasiklik triterpen glikozittir. Köklerde potasyum ve kalsiyum tuzları şeklinde bulunmaktadır. Köklerdeki glisirizin miktarı,

türlere, coğrafi koşullara, iklim koşullarına ve hasat mevsimine bağlı olarak % 2-15 (a/a) aralığında değişmektedir. Glisirizik asitin, köklerde 18  $\beta$ -glisirretinik asit ve 18  $\alpha$ -glisirretinik asit olarak adlandırılan iki aglikon formu da yer almaktadır (Şerbetçi, 2010; Hennel vd., 2008; Isbrucker ve Burdock 2006; Sabbioni vd., 2005).

Glisirizin, üst solunum yolları enfeksiyonu ve bronşit için mukolitik etki göstermektedir. Bakteriostatik ve antiviral etkisi de bilinmektedir. Gastrit ve ülser tedavisinde antifilojistik ve spazmolitiktir. Spazmolitik etkinin flavonoidlerden dolayı olduğu söylenmektedir. Yoğun şekilde olan tatlı tadından dolayı tatlı sanayisi, ilaç, şekerleme üretiminde kullanılmakta ve bazı gıda ürünlerine de lezzet zenginleştirici olarak eklenmektedir (Çubukçu vd., 2002).

Glisirizin ve glisiritik asit, mineralokortikoid etkisi göstermesi sebebiyle yüksek miktarlarda (günde 50 g dan fazla) ve uzun süreli alınması durumunda, vücuttan potasyum iyonlarının atımının artmasına yol açmaktadır ve böylelikle vücutta sodyum-potasyum dengesi bozulmuş olur, buna bağlı olarak ise vücutta sodyum iyonu konsantrasyonu ve su miktarı artar, idrar atımı azalır. Böylece de tansiyon yükselmesi, ödem oluşması, dolaşım sisteminde bozukluklar meydana gelir. Bu gibi durumlarda, potasyumca zengin gıdalardan oluşan bir diyetle başvurulur (muz, kuru kayısı vb gibi gıdalar). Böbrek ve karaciğer rahatsızlıkları, hipertansiyon rahatsızlığı, vücutta potasyum yetersizliği, gebelik ve kortikoid kullanımı durumlarında tüketimi yapılması önerilmez (Çubukçu vd., 2002).

Ancak son yıllarda yapılan farmakolojik çalışmalarla desteklenen klinik çalışmalar, bu yan etkilerin yüksek dozda saf olarak glisirizin alınmasıyla ortaya çıktığını göstermektedir (Sabbioni vd., 2005).  $\beta$ -glisirretinik asit ve  $\alpha$ -glisirretinik asit nitelik bakımından benzer özellik gösterirler de;  $\beta$ -glisirretinik asit, oldukça düşük anti-inflamatuar etki gösterirken, antihipototoksik etkisi  $\alpha$ -glisirretinik asit'ten daha yüksektir. Ayrıca bu aglikon formların östrojenik benzerliklerinden dolayı menopoz bozukluklarının tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Sabbioni vd., 2005).

Meyan kökü geleneksel tıp alanında da çok uzun zamandan beri kullanılan bir bitki türüdür. Özellikle de yaz aylarında serinletici ve ferahlatıcı özelliklerinden dolayı, sıklıkla tüketilen MKŞ'nin biyolojik anlamda, aktif bitki olarak bilinmektedir. Kök ve rizomları ise; antialerjik, antienflamatör, antioksidan, antiviral, antikanserojen ve gastrosistem koruyucu özellikleri barındırmaktadır (Çınar İ, 2012).

MKŞ'nin raf ömrü ile ilgili yapılan bir çalışmada UV teknolojisi kullanılmış, farklı akış hızı ve farklı geçiş sayılarının, MKŞ'deki toplam canlı, maya-küf ve koliform grubu bakteriler üzerindeki etkisi incelenmiştir. UV ışın dozu ile şerbetin fiziksel (pH, suda

çözünür kuru madde (SÇKM), renk ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) değerleri) ve kimyasal (Toplam fenol, toplam flavonoid, antioksidan aktivitesi ve glisirik asit) değerlerinde önemli bir değişiklik görülmediği bildirilmiştir ( $p>0,05$ ). 3 geçiş sayısında toplam canlı sayısı 1,37 log, maya küf sayısında 2 log düzeyinde azalış meydana geldiği belirtilmiştir. Geçiş sayısının artmasının, toplam canlı sayısındaki azalışı arttırdığı ifade edilmiştir. Buzdolabı koşullarında ( $4\pm 0,3^\circ\text{C}$ ) depolanan UV uygulanmış MKŞ örneklerinin kontrol örneklerine göre raf ömrünün yaklaşık 14 gün uzadığı belirtilmiştir (Çam B., 2015)

## 2.2. Yüksek Hidrostatik Basınç Teknolojisi

Yüksek Hidrostatik Basınç (YHB), ısıtma işlemi ile karşılaştırıldığında, lezzet ve gıda ürünlerinin besleyici herhangi bir değerinde değişiklik olmaksızın, mikrobiyolojik ve enzimatik inaktivasyon sağlayan bir yöntemdir (Ohlsson and Bengtsson, 2002).

YHB sistemi 2 temel kurala dayanmaktadır. Bunlar; izostatik basınç kuralı ve Le Chatelier prensibidir. İzostatik basınç kuralı, Pascal Kanunu'na dayanmaktadır. Pascal Kanunu'na göre, kapalı durumda ve sızdırmaz nitelikte bir sistemdeki sıvaya basınç uygulanırsa, bu sıvı içerisindeki her noktaya basıncı eşit olarak dağıtacaktır. Le Chatelier prensibinde ise, bir sisteme dışarıdan bir etkiye tabi tutulursa, sistem uygulanan etkiyi azaltıcı bir tepki oluşturacak ve böylelikle denge haline gidilecektir. Örneğin basınçtaki bir artış hacimde bir azalış oluşturma eğilimi oluşturacaktır (Hogan vd. 2005).

YHB işleminde basınç uygulaması ile birlikte, kofulların sıkıştırılması, hücre boyunun değişmesi (boyca uzaması), hücre duvarı ve hücre zarının birbirinden ayrılması, hücre zarının yapısının değişmesi, hücre içerisinde bulunan organellerin yer değiştirmesi, hücre zarı gözenek yapısı değiştiği için, hücre içi maddelerin hücre dışına çıkması vb gibi pek çok morfolojik değişimleri meydana getirir (İbanoğlu, 2002).

YHB'nin mikroorganizmalar üzerine olan etkisinin açıklamasında ise, mikroorganizmanın özellikleri de (spor formunda veya vejetatif hücre formunda bulunması), YHB'nin basınç değeri yanı sıra, işlem için süre parametresi, ortamın kimyasal bileşimi, pH durumu ve sıcaklık gibi parametrelere bağlı olmaktadır (Hugas vd., 2002).

YHB etkisi ile mikroorganizmaların inaktivasyonu durumundaki etkinin, hücre zarı yapısındaki değişimler olduğu ifade edilmektedir. 100-800 MPa düzeyinde bir YHB işleminin hücre zarının yapısında değişimlere neden olduğu bilinmektedir. YHB uygulaması ile hücre zarını oluşturan katmanların hacminde bir azalış meydana gelmekte

ve hücre zarı normal düzeyden daha farklı geçirgenlik seviyesine sahip olmaktadır (Tülek Y., Filizay G., 2006)

YHB işlemi; marmelat ürünlerinde, meyve suyu, meyve jölesi, meyveli yoğurtlar, çeşitli et ve et ürünleri, midye, istiridye vb deniz kabukluları gibi asidik pH'a sahip gıdaların pastörizasyonunda kullanılır (Ohlsson T, Bengtsson N. 2002).

Çizelge 2.1'de ticari olarak YHB ile üretilen bazı ürünler ve bunlara ait YHB parametreleri verilmiştir.

Çizelge 2.1. Yüksek Basınç Teknolojisi ile üretilen bazı ticari ürünler ve YHB uygulama parametreleri (Ohlsson and Bengtsson, 2002)

ÜRÜN	ÜRETİCİ	PROSES
Reçel, meyve sosları, yoğurt, meyve jöle	Meidi-ya Company, Japonya	400 MPa, 10-30 dk, 20 °C
Greyfurt suyu	Pokka Corp., Japonya	120-400 MPa, 2-20 dk, 20 °C
Mandarin suyu	Wakayama Food Ind., Japonya	300-400 MPa, 2-3 dk, 20 °C
Dondurulmamış tropical meyve	Nishin Oil Mills, Japonya	50-200 MPa (-18°C)
Sığır bifteği	Fuji Ciku Mutterham, Japonya	100-500 MPa, 30-40 dk, 20 °C
Avokado	Pokka Corp., Japonya	700 MPa
Portakal Suyu	Ultifruit, Fransa	500 MPa, 5-10 dk

Isıl işlemin, gıdalarda meydana getirdiği olumsuz değişimleri minimize etmek amacıyla günümüzde YHB gibi ısıl işlem uygulaması olmayan, proseslere olan ilgi, her geçen gün artmaktadır. YHB gibi prosesler oldukça düşük sıcaklık değerlerinde çalışır ve böylelikle ısıl işlem gibi proseslerin ürünler üzerindeki olumsuz etkileri ve ürünlerde bulunan biyoaktif maddelerdeki kayıpların en az düzeyde olması veya kayıpların engellenmesinde kullanılan termal olmayan muhafaza yöntemleri kategorisinde ele

alınmaktadır. Isıl işlem içermeyen bu prosesler oda sıcaklığı koşullarında dahi ürün işlemeye imkan tanımaktadır. Ayrıca gıdaların lezzeti, yapısı ve tekstürü, ayrıca besin içeriklerinde önemli bir değişim olmaksızın mikroorganizmalar inaktif hale getirilmektedir (Ross ve vd., 2003).

Bir YHB sistemi; basınç uygulanan kabin, basınç işlemi için pompa, ünite kapağı, kapağın aparatları, vana sistemleri ve sistemin kontrol ünitesi (bilgisayar) meydana gelir. YHB işlemi sırasında ürün, basınç ileten bir ortamda olmalıdır. Endüstriyel kullanımda yüksek hidrostatik basınç sistemleri 4 kısımdan oluşur (İbanoğlu, 2002; Şanal ve Çalimli, 2000).

- 1) Basıncın uygulandığı YHB kabı.
- 2) YHB için basınç üretim sistemi.
- 3) Sıcaklık kontrol ünitesi.
- 4) Ürün yerleştirme haznesi



Şekil 2.4. Yüksek Hidrostatik Basınç Cihazı ve kısımları

YHB teknolojisinde, basınçlama işlemi direkt ve indirekt olmak üzere iki çeşit yöntemde kullanılır. Direkt uygulanan basınç sisteminde bir piston bulunur ve piston yardımıyla basınçlama işlemi gerçekleştirilir ancak bu işlem metal yüzeylerde deformasyona sebep olduğu için endüstriyel uygulamalarda tercih edilmemektedir. İndirekt



basınç sisteminde ise basınç kabından tüm hava boşaltılır ve basıncın iletimi için bir dolgu maddesi (su veya glikol bazlı sıvı) planlanan basınç seviyelerine ulaşana kadar rezervuardan, basınç oluşturmak için pompalama işlemi icra edilir. Gıdalara uygulanan YHB işleminde, gıdalara ambalajlı veya ambalajsız olmak üzere iki şekilde de YHB işlemi uygulanabilir (Ohlsson and Bengtsson, 2002).

Basınçlama sıvısı olarak glikol bazlı dolgu sıvısı kullanılan YHB sistemi, geçirgen özelliği olmayan veya çok daha düşük olan materyalden ambalajı bulunan gıdalar için YHB işlemi yapılabilmektedir. Endüstrideki uygulamalarda ise, basıncı iletmek amacıyla kullanılan dolgu sıvısı için filtre edilmiş su kullanılabilir (FDA, 2000).

YHB teknolojisinin günümüzde sürekli bir üretim prosesi mevcut değildir. Ancak kesikli ve yarı sürekli hatlar bulunmaktadır. Meyve suları gibi sıvı gıdalar kesikli ya da yarı-sürekli olarak işlenebilir (Balasubramaniam ve Farkas, 2008).

Kesikli tip cihazda, sıvı ürün şartlandırılarak ve basınç işlemi, ürünün paketlenmiş haline uygulanır. Önceden paketlenmiş ürün, ve kabin kalan kısmı basıncı ileten, dolgu sıvısı ile doldurulur. Kap kapatılır ve istenilen işlem, sıvının basıncı her noktaya eşit ilemesi yoluyla gerçekleştirilir. Ürün, hedeflenen basınç ve sıcaklık parametrelerinde hedeflenen süre boyunca tutulduktan sonra basınç kaldırılır ve kapak açılır. Basıncın (aynı anda tüm yönlerde) eşit bulunması nedeniyle, gıda şeklini korur. Buna ek olarak, gıda duyuşsal özellikleri değişmeden korunur (Balasubramaniam ve Farkas, 2008).

YHB uygulamasında sıkıştırma işleminden dolayı dolgu sıvısı olarak kullanılan sıvının sıcaklığı artmaktadır. Yani ısı enerjisi oluşmaktadır ve bunun yanında başlangıç sıcaklığının, sıkıştırma ile oluşan ısıya etkisinin olmadığı veya çok düşük bir miktarda etkisinin olduğu düşünülmektedir (Rasanayagam vd. 2003).

YHB ile yapılan, kayıtlardaki ilk literatür çalışması; Roger tarafından 1895 yılında yapılmış olup, mikroorganizmaların inaktif hale getirildiği ilk YHB çalışması olarak bilinmektedir. Bu konuda ise, 20. yüzyılda pek çok çalışma yapılmasına rağmen, YHB sisteminin mekanik parçalarının geliştirilmesindeki teknik zorluklar nedeniyle 1990'lı yıllara kadar, YHB uygulamasının ticari kullanımı kısıtlı olarak kalmıştır (Minerich ve Labuza, 2003).

Dünyada yaşanan teknolojik gelişmelerin beraberinde getirdiği bazı kolaylıklar olmuştur. 1992 yılından itibaren, Japonya gibi teknoloji üreten ülkeler başta olmak üzere, dünyanın genelinde YHB teknolojisi ile üretilmiş ticari gıda ürünleri (örneğin; elma reçeli, çilek reçeli ve ananas reçeli) piyasaya sürülmüştür. 1995 yılında ise pirinçten yapılan farklı ticari ürünlere YHB uygulanmış ve pirinç mamülü ticari ürünler, Japonya'da oldukça hızlı

bir şekilde piyasada yerini almıştır (Suzuki, 2005).

Japonya'dan sonra Avrupa ve ABD'de, YHB uygulanmış ürünler, marketlerde yer almaya başlamıştır. 1994 yılında YHB uygulanarak üretimi yapılmış, ticari portakal suyu, 1997 yılında İspanya'da ticari olarak dilimlenmiş halde üretilen jambon ve ABD'de ticari olarak üretimi gerçekleştirilen avakado püresi (guacamola) marketlerde yerini almıştır (Karatzas and Bennik, 2002).

Sonrasında ise, tüm dünyada YHB teknolojisinin endüstriyel kullanımı artmış ve Çizelge 2.2'de gösterildiği gibi bazı ülkeler bu teknoloji ile ürünler üretmişlerdir.

Çizelge 2.2. Bazı ülkelerin yüksek basınç teknolojisi ile ürettiği ürünler (Tornello, 2011)

Ülke	Yıl	Ürün
Japonya	1993	Pirinç şarabı
Fransa	1994	Narenciye suyu
Meksika	2000	Narenciye suyu ve smoothies
Lübnan	2001	Meyve suları
Portekiz	2001	Elma ve narenciye suyu karışımı
Çek Cumhuriyeti	2004	Brokoli, elma, pancar, havuç suları
İrlanda	2006	Smoothies
ABD	2005	Elma, çilek, zencefil suları
Yeni Zelanda	2009	Colostrum (Ağız sütü)

### 2.3. Yüksek Hidrostatik Basınç Teknolojisinin Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

Ambalajlı veya ambalajsız olarak, katı ya da sıvı gıdalara 100-1000 MPa aralığında uygulanan basınç işlemi, yüksek hidrostatik basınç (YHB) olarak adlandırılmaktadır. 1000 MPa'lık bir basınç işlemi algılamamız için, 10 000 kg büyüklüğünde bir ağırlığın, 1 cm<sup>2</sup>'lik alana yaptığı basıncı düşünebiliriz (Hogan vd.,2005).

Yapılan çalışmalar, YHB işleminden sonra mikroorganizmaların hücreleri içerisinde organellerinin eksildiğini göstermiştir. Hücre içindeki organellerin hücre dışına sızmaları, hücre zarında hasarın meydana geldiği sonucunu göstermekte ve organellerin hücre içerisinden kaybı arttıkça da mikrobiyal inaktivasyonun ve mikrobiyal hasarın derecesi o ölçüde artmaktadır (Farkas ve Hoover, 2000; Russell, 2002).

Koyun sütü (%6 yağlı) ile yapılan bir araştırmada, *Listeria innocua* 910 CECT mikroorganizması inokule edilen süte, farklı sıcaklık değerlerinde basınçlama işlemi yapılmış, *Listeria innocua* 910 CECT mikroorganizmasının inaktivasyonu amacıyla 2°C'de YHB işleminin, oda sıcaklığı koşullarında (25°C) uygulanan basınç işlemine göre etkisi daha yüksek, ancak 50°C'de uygulanan YHB işleminden ise daha düşük bir etkiye sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Gervilla vd. 1997).

Düşük asitli gıdalarda YHB teknolojisinin kullanımı sınırlı olmakla birlikte orta derecede sıcaklıklarla kombine edildiğinde süt gibi düşük asitli gıdaların yeterli bir steriliteye ulaşabileceği ifade edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, 49°C sıcaklıkta ve 495 MPa basınç altında 30 dakika tutulan süt örneğinde bulunan *Bacillus sporothermodurans* sayısında 5 logaritmik bir azalmanın kaydedildiği ve bu düzeyde bir azalmanın UHT sütlerin ticari sterilizasyonu için yeterli olabileceği vurgulanmıştır (Achouri ve Boye, 2013).

Bir diğer çalışmada, UHT süt ile yapılmıştır. 400 MPa düzeyinde bir YHB, 50 °C'de 15 dk süresinde uygulanmış, ve bu parametre düzeyi *Escherichia coli* üzerinde yaklaşık 5 log azalmaya neden olduğu, benzer süre ve sıcaklık parametrelerinde 500 MPa'lık bir YHB uygulaması *Staphylococcus aureus* suşunda 6 log'luk bir inaktivasyon meydana getirmiştir (Patterson ve Kilpatrick, 1998).

Gram-pozitif bakteriler yüksek basınca karşı Gram-negatif bakterilere göre daha dirençlidir. Gram-pozitif bakteriler için 500-600 MPa düzeyinde 10 dk süresince 25 °C'de uygulanan YHB işlemi yeterli olurken, Gram-negatif bakteriler aynı sıcaklık ve süre parametresinde (25 °C'de 10 dk) 300-400 MPa düzeyindeki bir basınç ile inaktif hale getirilebilir (Trujillo vd., 2002).

Bakteri sporları basınca karşı, diğer mikroorganizmalara göre daha fazla dirençlidir. Bakteri sporları ısıya karşı olduğu gibi basınca karşı da dirençli form olarak bilinmektedirler. *Clostridium botulinum* sporları ısıya dayanıklıdır ve insan hayatı için tehlikeli bir mikroorganizma türüdür. Isıya olduğu gibi YHB'a karşı da dirençli olmasından dolayı *C. botulinum* sporları ile yapılan bir çalışmada 75 °C'de 30 dk uygulanan 827 MPa basınç, bu sporları ancak inaktive edebilmiştir (Şanal ve Çalımlı,2000; Arıcı,2006).

Düşük asitli gıdalarda bulunan bakteri sporlarının basınç altında önce germinasyonun sağlanması sonra da vegetatif forma dönüşen bakteri hücrelerinin inaktivasyonu ile ilgili çalışmalar da mevcuttur (Akhtar vd., 2009; Butz vd., 1992, Heinz ve Knorr,1998, Vercammen vd., 2012).

Butz vd. (1992) 25-40 °C sıcaklık değerlerinde, 150 ve 450 MPa değerlerinde yüksek basınç teknolojisinin bakteri sporlarına etkisini çalışmış ve düşük düzeyde YHB değerleri (60 MPa-100 MPa) bir ön basınçlama işleminin, YHB işleminde, bakteri sporlarının inaktivasyonlarını sağlayabileceğini göstermişlerdir. Yüksek basınç ile sporların inaktivasyonu konusundaki bazı çalışmalarda ise, YHB'nin iki kademeli uygulanması konusunda görüşler bulunmaktadır. İlk etapdaki düşük basınç işleminde bakteri sporları uyarılmış ve çimlenmeye teşvik edilmiş, ardından uygulanacak daha yüksek bir basınç parametresindeki ikinci bir YHB işlemi, çimlenmiş haldeki sporları ve bunun yanı sıra vejetatif hücreleri inaktif hale getirdiği belirtilmiştir (Heinz ve Knorr, 1998).

Bakteri sporları direnci için yapılan çalışmalarda 1000 MPa basınca karşı dirençli olan sporlar olduğu belirtilmiştir. (Trujillo vd., 2002). Art arda uygulanan 600 MPa düzeyinde basınç işlemi ile *Geobacillus stearothermophilus* sporlarının 6 log düzeyinde azaltıldığı ifade edilmiştir (İbanoğlu, 2002).

Bakteri sporlarının üzerine YHB'nin etkileri, yaklaşık 100 yıl önce incelenmiştir. Ancak, ısı işlem olmaması nedeniyle, sporların da basınca dirençli olmasından dolayı, özellikle de düşük pH'lı ürünlerde sporların inaktivasyonu tam olarak sağlanamamıştır. Bu durum ise ürünlerin sterilizasyonu için YHB kullanılmasında bir engel teşkil etmektedir (Zhangve Mittal, 2008).

*Bacillus subtilis* sporları ile yapılan bir çalışmada 40 °C sıcaklıkta ve pH değeri 3-8 aralığında, 100-600 MPa düzeyinde YHB uygulanmıştır. Bu koşullarda spor inaktivasyonunun %80 kadar olduğunu bildirmişlerdir ancak düşük pH değerlerinde bu

inaktivasyonun geçerli olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca 100 MPa düzeyinde basınç uygulanmış ve çimlendirilmiş spora sonrasında uygulanan 500 MPa düzeyinde basınç, 600 MPa YHB uygulamasına göre daha iyi sonuç verdiği ifade edilmiştir (Zhang ve Mittal, 2008).

Çizelge 2.3’de farklı gıda ürünlerinde ve model ortamlarda *Bacillus* ve *Clostridium* türlerine ait sporların YHB ile inaktivasyonu üzerine yapılan çalışmalar ve inaktivasyon düzeyleri listelenmiştir.

Çizelge 2.3. Sporlu mikroorganizmalara YHB'nin etkisi çalışmaları (Zhang ve Mittal, 2008)

Sporlar	Ortam	YHB Proses Şartları	Gözlem	Kaynaklar
<i>Bacillus cereus</i>	Süt	500 MPa, 60 °C, 30 dk.	6 log azalma.	Opstal V. vd., 2004
<i>Bacillus cereus</i> AT CC 9139	Peynir yapımı için çiğ süt	300–500 MPa, 30 °C, 15 dk, germinasyon için 60 MPa çimlendirme ve 30°C’de 210 dk.	2 log azalma.	Lopez, T.J vd., 2003
<i>B. cereus</i>	McIlvaine buffer çözeltisi	0.1–600 MPa,	Sporlar orta pH’da daha fazla etkilenmiştir.	Oh, S., ve Moon, M., 2003
	(pH aralığı 4.5–8.0).	20, 40, ve 60 °C, 15 dk.		
<i>B. cereus</i>	Fosfat buffer çözeltisi (pH 7.1) argon ile birlikte.	500 - 600 MPa, 20–40 °C, 30 dk.	2 log azalma.	Fujii, K. vd., 2002
<i>B. cereus</i>	Su	400 MPa, 30 °C, 25 dk	0.45 log azalma.	McClements J.M.J vd., 2001
<i>B. cereus</i>	MacIlvaine buffer çözeltisi pH’sı:7	400 MPa, 50 °C, 15 dk.	6 log azalma.	Gould, G.W., 1970

Çizelge 2.3 devamı

<i>B. subtilis</i>	Tris-HCl buffer çözeltisi (pH'ı 7.5)	500 MPa, 50 °C, 0–25 dk.	Hızlı germinasyon	Black, E.P vd., 2006
<i>B. subtilis</i> IF O13722	Steril distile su.	200–400 MPa, 25–55 °C, 30 dk. (1 - 6 kez).	YHB spor çimlenmesini başlatmıştır.	Furukawa, S. vd., 2003
<i>B. subtilis</i> As. 1.1731	Süt buffer.	576 MPa, 87 °C, 13 dk.	6 log azalma.	Gao, Y.L vd., 2006
<i>B. subtilis</i>	Fosfat buffer çözeltisi (0,067 M, pH'sı 7)	827 MPa, 50, ve 70 °C, 0.001, 3, 5 ve 10 dk	Sodyum benzoat çözeltisi kullanımı yüksek spor inaktivasyonu ile sonuçlandırılmıştır.	Balasubramanian, S. ve Balasubramanian, V.M., 2003
<i>B. subtilis</i> AT CC 9139	Peynir	Germinasyon içim 60 MPa çimlendirme ve, 30 °C'de 210 dk, ek olarak nisin ya da lysozyme eklenmiştir.	2.4 log azalma.	Lopez-Pedemonte, T.J. vd., 2003
<i>B. subtilis</i>	Steril distile su	100 MPa, 45-75 °C, 10–120 dk.	Spor süspansiyonların da başlangıç konsantrasyonu arttıkça inaktivasyon oranları azaldı.	Furukawa, S. vd., 2002

Çizelge 2.3 devamı

<i>B. subtilis</i>	Su, 25 mM KPO <sub>4</sub>	100 ve 550 MPa, 23 °C, 30 dk.	Spor çimlenmesi indüklenmiştir	Paidhungat, M. vd., 2002
<i>B. subtilis</i> LM G7135 and CW335	Sterile deiyonize su buffer pH (3– 8).	100-600 MPa, 40 °C, 10-60 dk.	%80 inaktivasyon.	Wuytack, E. Y. ve Michiels, C.W., 2001
<i>B. subtilis</i> 168	Saline ile %0.005'lik Tween 20.	404 MPa, 25, 70 °C, 15-30 dk.	2.5-5 log azalma.	Stewart C.M vd., 2000
<i>B. subtilis</i>	Su	100, 600 MPa, 40 °C.	YHB germinasyonu indüklemiştir.	Wuytack, E.Y. vd., 2000
<i>B. subtilis</i> (No . 1.10649)	Steril peptonlu su (pH 7.5).	500 MPa, 15 dk, 37 °C'de 30 dk, 600 MPa, 15 dk.	Tam inaktivasyon.	Isaacs, N. S., 1998
<i>B. subtilis</i> AT CC	Su	150 MPa, 70 °C, 30 dk.	6 log azalma.	Isaacs, N. S., 1998
<i>B. subtilis</i>	Potasyum fosfat buffer (pH 7).	100, 600 MPa, 40, 55 °C,30 dk.	Çimlenmiş sporlar, düşük ve yüksek basınç uygulaması diğer ajanlara farklı etki göstermektedir.	Wuytack, E.Y. vd., 1998

Çizelge 2.3 devamı

<i>B. subtilis</i> AT CC 9372	Steril distile su	50 MPa, 70 °C, 12 dk.	Ultrasonic ile birlikte yüksek basınç %99 inaktivasyon.	Raso, J. vd., 1998
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Steril deiyonize su.	500, 600 ve 700 MPa düzeylerinde, 92-110 °C, 0.01 s - 8 dk.	>%86 inaktivasyon	Rodriguez, A.C. vd., 2004
<i>B. stearothermophilus</i> A TCC 7953	Püre brokoli, kakao kitlesi,% 10-30 su ile seyreltilmiş	50–600 MPa, 60–120 °C, 0–160 dk.	Etkili bir inaktivasyon.	Ananta, E. vd., 2001
<i>B. stearothermophilus</i>	Yumurta (fırıncılık)	700 MPa, 105 °C, 5 dk.	4 log azalma.	Rajan, S. vd., 2006
<i>B. stearothermophilus</i> I FO 12550	Fosfat buffer (pH 7).	200 MPa, 75 °C, 60 dk.	4 log azalma.	Hayakawa I. vd., 1998
<i>B. stearothermophilus</i>	Su	600 MPa, 70 °C, 5 dk, 6 kez	Sterilizasyon, 6 log azalma	Hayakawa I vd, 1994
<i>B. amyloliquefaciens</i> Fad 82	Yumurta (köfte hamurunda)	0.1–700 MPa, 95–121 °C, 0–15 dk	Isıl işleme alternatif, yumurta ürünlerinde raf ömrü.	Rajan, S vd., 2006



Çizelge 2.3 devamı

<i>B. amyloliquefaciens</i> TM W 2.479	Steril distile su	800–1200 MPa, 100 -120 °C, 0 – 8 dk.	6.5 log azalma.	Margosch, D. vd., 2006
<i>B. pumilus</i>	Fosfat buffer (pH 6.8).	80–100 MPa, 25 °C, 0–200 dk.	Çimlenme ve inaktivasyon art arda bir işlem.	Clouston, J.G. ve Wills, P.A., 1970
<i>B. anthracis</i>	Steril distile su	280–500 MPa, 20–75 °C, 10–360 dk.	Isı ile kombinasyon ile sporlar parçalanmıştır.	Clery-Barraud, C.vd., 2004
<i>Bacillus</i> species (40 isolates)	Rekonstituted yağsız süt	600 MPa, 72, 75, 85 ya da 95 °C’de 1 dk.	İnaktivasyon sağlanmamıştır.	Scurrah, K.J. vd., 2006
<i>B. stearothermophilus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i>	Steril distile su	981 MPa, 40 dk, 588 MPa, 120 dk, 5–10 °C.	İnaktivasyon yok.	Nakayama, A. vd., 1996
<i>B. cereus</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. pumilus</i>	Su, potasyum fosfat buffer’ı (pH’sı 6,8).	32.5–97.5 MPa, 25–44 °C, 0–200 dk.	Optimum sıcaklık, germinasyon uygulaması için.	Murrell W.G. ve Wills P.A., 1977

Çizelge 2.3 devamı

<i>B. subtilis</i> , <i>B. stearothermophilus</i>	Et emülsiyonu	621 MPa, 98 °C, 5 dk.	9 log azalma of <i>B. subtilis</i> , 10 log azalma, <i>B. stearothermophilus</i> .	Wilson, M.J. ve Baker, R., 2001
<i>B. subtilis</i> <i>B. amyloliquefaciens</i> <i>B. licheniformis</i>	Havuç püresi	800 MPa, 70 °C, 4 dk.	6 log azalma.	Margosch, D. vd., 2004
<i>Clostridium botulinum</i> TMW 2.357 ve REB 89 B	Steril distile su	600 -1400 MPa, 70 -120 °C, 0 – 8 dk.	6.5 log inaktivasyon.	Margosch, D. vd., 2006
<i>C. botulinum</i> nonproteolytic type B strains	Fosfat buffer (0.067 M, pH 7)	827 MPa, 60–75 °C, 10–30 dk.	Bu sporun inaktivasyonu için YHB ve ısı uygulaması kombine gereklidir.	Reddy, N.R. vd., 2006
<i>C. botulinum</i>	Steril deiyonize su	500, 600-700 MPa'da, 60-75 °C, 0.01 s – 8 dk.	>%86 değişim.	Rodriguez, A.C vd., 2004

Çizelge 2.3 devamı

<i>C.botulinu m</i>	Havuç püresi (pH 5.15).	600–800 MPa, 80–116 °C, 0–60 dk.	Değişim olmaması ve 5.5 log arası azalma.	Margosch, D. vd., 2004
<i>C. botulinum t ype A strains 62- A and BS- A</i>	Fosfat buffer (0.067 M, pH 7).	827 MPa, 75 °C, 20 dk.	2-3 log azalma.	Reddy, N.R. vd., 2003
<i>C. botulinum t ype E (Alaska and Beluga)</i>	Fosfat buffer (pH 7).	689–827 MPa, 35–55 °C, 5-10 dk	5 log azalma.	Reddy, N.R. vd., 1999
<i>C. sporogenes ATCC 7955</i>	Tavuk göğsü	Irradyasyon, 680 MPa, 60 °C, 20 dk.	Yüksek doz radyasyon kullanılmadan uzun raf ömrüne sahip tavuk üretmek.	Crawford, Y.J vd., 1996
<i>C. sporogenes PA 3679</i>	Steril sodyum Fosfat buffer'ı (pH: 7).	600–800 MPa, 91–108 °C, 0–5 dk.	inaktivasyon hızı sıcaklık ve basınç ile artmıştır..	Koutchma, T vd., 2005

Çizelge 2.3 devamı

<i>C. perfringens</i> , <i>C. sporogenes</i> , <i>C. tertium</i> , <i>C. Laramie</i>	%0,1'lik Pepton çözeltisi.	138 - 483 MPa, 25-50 °C, 5 dk.	Germinasyon indüksiyonu ve inaktivasyon. 2.5 log azalma <i>C. Tertium</i> .	Kalchayanan d, N. vd., 2004
<i>C. sporogenes</i>	Et emülsiyonu	621 MPa, 98 °C, 5 dk.	5 log azalma ( <i>C. sporogenes</i> ).	Wilson, M.J. ve Baker, R. High, 2001
<i>C. sporogenes</i> PA 3679	Saline ile %0.005'lik Tween 20.	404 MPa, 25 dk 70 °C, ya da 15-30 dk.	2.5 -5 log azalma.	Stewart C.M. vd., 2000
<i>C. sporogenes</i>	Distile su.	600 MPa, 20 °C, 30 dk.	İnaktivasyon yok.	Mills, G. vd., 1998
<i>C. sporogenes</i>	Distile su.	400 MPa, 60 °C, 30 dk.	3 log azalma.	Mills, G. vd., 1998
<i>C. laramie</i> , A mixture of four <i>clostridial</i> spores	Biftek	345 MPa, 60 °C, 5 dk. Bakteriosin.	Bifteğin raf ömrü 84 gün artmıştır.	Kalchayanan d, N. vd. 2003
<i>Clostridium</i> strains		150 MPa, 23 °C	Düşük sıcaklıkta yüksek basınca karşı dirençli.	Lauro, F.M. vd., 2004
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	Süt buffer.	625 MPa, 86 °C, 14 dk.	6 log azalma.	Gao, Y.I vd., 2006

Çizelge 2.3 devamı

<i>Alicyclobacillus acidoterres tris</i>	Elma suyu konsantresi (17.5, 35, 70° Brix).	207, 414,621 MPa, 22, 45, 71, ve 90 °C, 5 - 10 dk.	5 log azalma.	Lee, S.Y. vd., 2006
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> A TCC 10149	Deiyonize su (pH 7.5).	500–700 MPa, 92–111 °C, 0.01s-6 dk.	Spor inaktivasyonu artan sıcaklık ve basınç ile artmıştır.	Patazca, E. vd., 2006
<i>Alicyclobacillus acidoterres tris</i> ATCC 49025 and NFPA 1013	Pastörize edilmiş elma suyu (pH 3.7).	207, 414, 621 MPa, 22, 45, 71,ve 90 °C, 1,5,10 dk.	Başarılı inaktivasyon.	Lee, S.Y. vd., 2002

Çizelge 2.3’de görüldüğü üzere, süt örneği ile yapılan bir çalışmada 500 MPa, 60 °C, 30 dk parametresinde YHB uygulanmış ve *Bacillus cereus* sporlarında 6 log düzeyinde bir azalma meydana geldiği ifade edilmiştir.

*G. stearothermophilus* sporları ile yapılan bir çalışma yine Çizelge 2.3’de gösterilmiş, brokoli püresi ile yapılan bu çalışmada, 700 MPa, 105 °C, 5 dk parametresinde, sporlar üzerinde 4 log düzeyinde bir azalma meydana geldiği belirtilmiştir.

## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan meyan kökleri, Diyarbakır ilindeki doğal yetiştirme alanlarından toplanmıştır. Taze kökler temizlenmiş ve sonrasında 20 cm uzunluğunda kesilerek oda koşullarında bir gün boyunca kurutulmuştur. Daha sonra bu meyan kökü çubukları, şerbet üretiminde kullanılmak üzere, tokmakla dövülüp lif haline getirilmiştir.

#### 3.2. Deneme Planı

Çalışma kapsamında ilk olarak Meyan Kökü Şerbeti (MKŞ)'de doğal olarak bulunan aerobik ve anaerobik spor sayısı belirlenmiştir. İkinci aşamada, orta derecede sıcaklık (20-30 °C) ile kombine edilen 5, 15 ve 30 dakika sürelerinde 450 MPa'da YHB uygulamasının MKŞ'nin doğal florasında bulunan sporların inaktivasyonuna ve şerbete inoküle edilen *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 sporlarının inaktivasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmanın 3. aşamasında, sporların mekanik etki ile düşük basınç ve orta derecede sıcaklıklarda germinasyonunun teşvik edilmesi ve vegetatif forma dönüşen hücrelerin YHB ile inaktivasyonu belirlemek amacıyla, orta derecede sıcaklık (20-30 °C) ile combine 200MPa'da 15 dk basınçlama, daha sonra 15 dk bekleme ve takiben 450 MPa'da 15 dk basınçlama şeklinde bir seri YHB uygulaması hem MKŞ hem de inoküle *Geobacillus stearothermophilus* sporları içeren şerbet kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın 2.ve 3. aşamasında uygulanan YHB uygulama koşullarının MKŞ'nin, fizikokimyasal (glisirizik asit içeriği, renk, toplam fenol, toplam flavanoid madde, antioksidan aktivite, brix, pH) kalite özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Uygulamalar, 2 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

##### 3.2.1. Meyan Kökü Şerbeti Üretimi

MKŞ, meyan kökü bitkisinin liflerinin, saf su ile ekstraksiyonu sonucunda elde edildi. Meyan kökü/Su oranı, 1/20 (a/h) olacak şekilde hazırlandı ve meyan kökleri 1 saat süre ile ekstrakte edildi. Ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen ekstrakt, kaba filtre kağıdından doğal akış altında süzülmüştür (Çınar İ, 2012).

### **3.2.2 Mikrobiyolojik Analiz Yöntemleri**

#### **3.2.2.1. Toplam Canlı Sayımı**

Uygun seyreltilerden Plate Count Agar (PCA, Merck) besiyerine dökme plak yöntemine göre ekim yapıldıktan sonra besiyerleri mezofil bakteri sayımı için 30 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılarak örnekteki toplam aerobik mezofil bakteri sayısı log kob/mL olarak hesaplanmıştır (AOAC, 2000).

#### **3.2.2.2. Maya Küf Sayımı**

Uygun seyreltilerden Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol (DRBC agar, Merck) besiyerine dökme plak yöntemine göre ekim yapılarak, petriler 25 °C'de 5 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda petrilerde oluşan maya ve küf kolonileri sayılarak, örnekteki miktarı log kob/mL olarak hesaplanmıştır (AOAC, 2000).

#### **3.2.2.3. Koliform Sayımı**

YHB uygulanmış ve kontrol grubu inoküle örneklerde ISO 11290-2: 1998 metodu ile analiz gerçekleştirilmiştir ve inoküle örneklerin uygun seyreltilerinden selektif katı besiyerine (PALCAM agar, Merck) ekim yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen kahverengi siyah koloniler sayılarak, örnekteki miktarı log kob/mL olarak hesaplanmıştır.

#### **3.2.2.4. Aerobik Mezofilik Spor Sayımı**

MKŞ örneklerinde bulunan spor sayılarının ve basınçlamadan sonra doğal florada bulunan sporların tespit edilmesi amacıyla bu sayımlar yapılmıştır. Bu amaçla MKŞ örnekleri 80 °C'de 10 dakika bekletildikten sonra seri dilüsyonlar hazırlanarak PCA'ya dökme plak yöntemi ile ekimler yapıp 30 °C'de 72 saat bekletilmiştir (Witkowska vd., 2011; ICC Standard 144, 1992).

#### **3.2.2.5. Anaerobik Mezofilik Spor Sayımı**

80 °C'de 10 dk. su banyosunda bekletilen ve soğutulan YHB uygulanmış MKŞ örneklerinin uygun seyreltilerinden, sterilize edilmiş Polymyxin B Sulfate cozeltisi eklenmiş Reinforced Clostridial Agar (RCA, Merck) besiyerine ekim yapılarak, 35 °C'de 48 saat süreyle 'anaerobic jar' içerisinde inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik koşullarda inkübasyon sonucunda da gelişen koloniler sayılarak, örnekteki miktarı log kob/mL olarak hesaplanmıştır (Halkman ve Sağdaş, 2010).

### **3.2.2.6. *G. stearothermophilus* Sporlarının İnokülasyonu ve Sayımı**

*G. stearothermophilus* sporları için hazır spor süspansiyonu (110274 Sterikon® plus Bioindicator, Merck) kullanılmış olup, 5 log kob/mL olacak şekilde MKŞ örneklerine doğrudan inokulasyon yapılarak kontrol örnekleri ve basınçlanmış numunelerde bulunan sporların sayısındaki değişim incelenmiştir.

Basınçlamadan sonra sporların sayılması için uygun seyreltilerden, Nutrient Agar (NA, Merck) besiyerine ekilerek hasar görmüş sporların da kendilerini onarmalarına fırsat vermek için 3 gün boyunca 55 °C'de inkübe edilmiştir. Paralel (çift) sayımlar sonucu koloni oluşturan birimler (kob/mL) logaritmik olarak belirlenmiştir.

### **3.2.3.Fizikokimyasal Analiz Yöntemleri**

#### **3.2.3.1.Suda Çözünür Kuru Madde**

Oda koşullarında, Atago PAL1 (Pocet Refractometer, Japonya) digital refraktometre ile belirlenmiş olup, bulunan değerler Bx°olarak belirtilmiştir (Cemeroğlu, 2007).

#### **3.2.3.2.pH Analizi**

Örneklerin pH değerleri oda sıcaklığında, pH metre cihazı (Ohaus Starter 3100, Amerika) ile analiz edilmiştir.

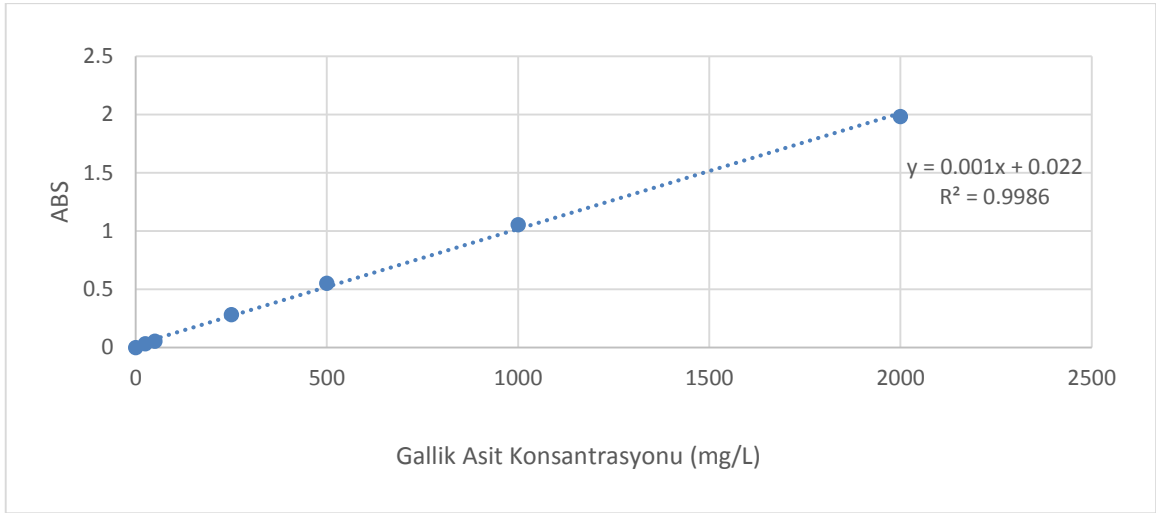
#### **3.2.3.3.Renk Ölçümü**

Şerbet örneklerine ilişkin L\*, a\*, b\* ve ΔE renk ölçüm, Minolta CR 400/ CR 410 renk ölçüm cihazı kullanılarak belirlenmiştir. CIE Lab sistemi ile değerlendirilen sonuçlar, L\* değeri: 0 = siyah, 100 = beyaz (koyuluk /açıklık); a\* değeri: +a\* = kırmızı, -a\* = yeşil; b\* değeri: +b\* = sarı, -b\* = mavi renk yoğunluklarını göstermektedir.

#### **3.2.3.4. Toplam Fenol Miktarı**

Şerbet örneklerinin toplam fenol içeriklerinin belirlenmesinde, Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır (Singleton ve Rossi,1965). Bu amaçla, 100 µL şerbet örneği 1 mL'ye saf su ile tamamlandıktan sonra üzerine, 5 mL 0,2 N Folin-Ciocalteu (Merck, Germany) çözeltisi, 4 mL %7,5'lik sodyum karbonat (Merck, Germany) çözeltisi ilave edilmiştir. Oda koşullarında ve karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra spektrofotometrik olarak 765 nm'de şahit numuneye karşı absorbans değerleri kaydedilmiştir. Sonuçlar, Şekil 3.1'de sunulan gallik asit (Sigma-Aldrich,Germany) standart eğrisine ilişkin regresyon eşitliği kullanılarak "mg gallik asit/ L meyan şerbeti" olarak hesaplanmıştır.

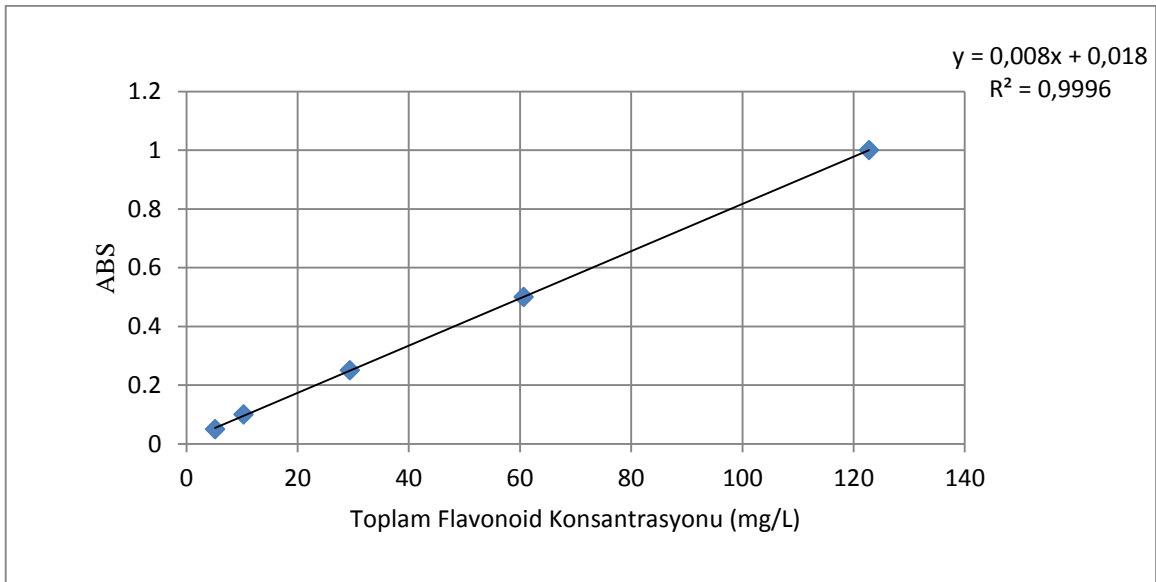




Şekil 3.1. Toplam fenol miktarı analizi için hazırlanmış gallik asit standart eğrisi

### 3.2.3.5. Toplam Flavonoid Miktarı

Şerbetçi (2007) tarafından bildirilen yöntemle göre belirlenmiştir. Toplam flavonoid madde miktarı analizi için standart madde olarak kuersetin kullanılmıştır. 25 mg kuersetin 25 mL %96'lık ethanolde çözdürülmüştür. Örneklerin ve standartların 415 nm dalga boyundaki absorbanları okunmuş ve absorban değerlerine karşılık gelen kuersetin ekivalent değeri standart grafikten elde edilen denklem yardımıyla mg/L olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. Toplam flavonoid miktarı analizi için standart eğrisi

### 3.2.3.6. TEAC (Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) Yöntemi

Şerbet örneklerinin antioksidan kapasitesi, TEAC (trolox eşdeğeri antioksidan kapasite) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. (Re ve ark. 1999 ve Arts ve ark. 2001). Bu amaçla, spektrofotometrik olarak 734 nm’de 0,7 ( $\pm 0,2$ ) absorbansa ayarlanan PBS çözeltisi içerisinde  $ABTS^{\cdot+}$  radikali seyreltilmiştir. 1 mL mikro küvete alınan bu çözelti üzerine sırasıyla 10-20-30 $\mu$ L hacimlerde örnek eklenerek 6 dakika sonundaki % inhibisyon değeri 3 paralelli olarak belirlenmiştir. Elde edilen % inhibisyon değerleri, örnek hacimlerine karşı bir grafiğe aktarılarak örneğe ilişkin eğrinin eğim hesaplanmıştır. Bu hesaplanan örneğe ilişkin eğim ile trolox standardına ilişkin eğime oranlanarak, örneklerin TEAC değeri “ $\mu$ mol trolox/mL şerbet” olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.3.7. Glisirik Asit Miktarının Belirlenmesi

Örneklerdeki glisirik asit analizleri Shimadzu marka yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile izokratik sistemde yapılmıştır. MKŞ örnekleri ekstakt sonrası seyreltme yapılmadan, 0,45  $\mu$ m teflon filtreden geçirilerek HPLC cihazına enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma koşulları aşağıda verilmiştir:

HPLC Kolonu: Phenomenex Gemini C<sub>18</sub> (250 $\times$ 4,6mm ID, 5 $\mu$ )

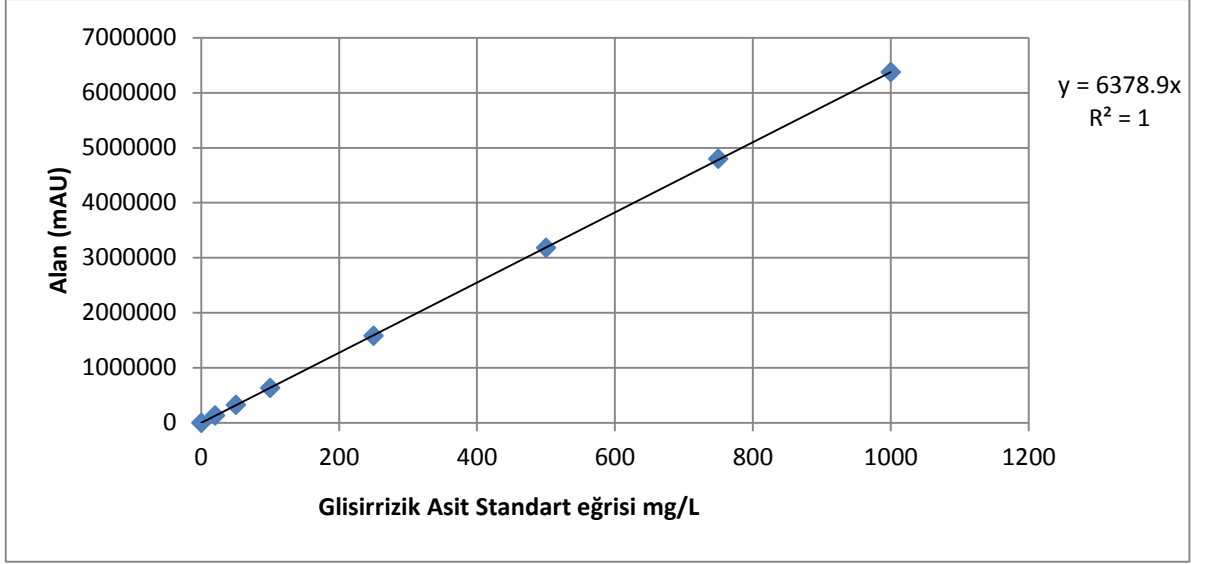
Mobil faz A: %40 Asetonitril, %60 ultra saf su, %1 Asetik Asit

Akış hızı: 1mL/dakika

Kolon fırın sıcaklığı: 30 °C

Enjeksiyon Hacmi: 20  $\mu$ L

DAD dedektör: 200-600 nm



Şekil 3.3. Glisirizik Asit Standart Eğrisi

#### 3.2.4. İstatistiksel Analiz

Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla, SAS V9 (SAS 1999) istatistik paket programında MIXED prosedürü kullanılmıştır. Bu prosedür ile varyans analizi yapılarak, önemli farklılıkların ( $p < 0,05$ ) olup olmadığının belirlenmesi amacıyla LSD (least square differences) testi uygulanmıştır.

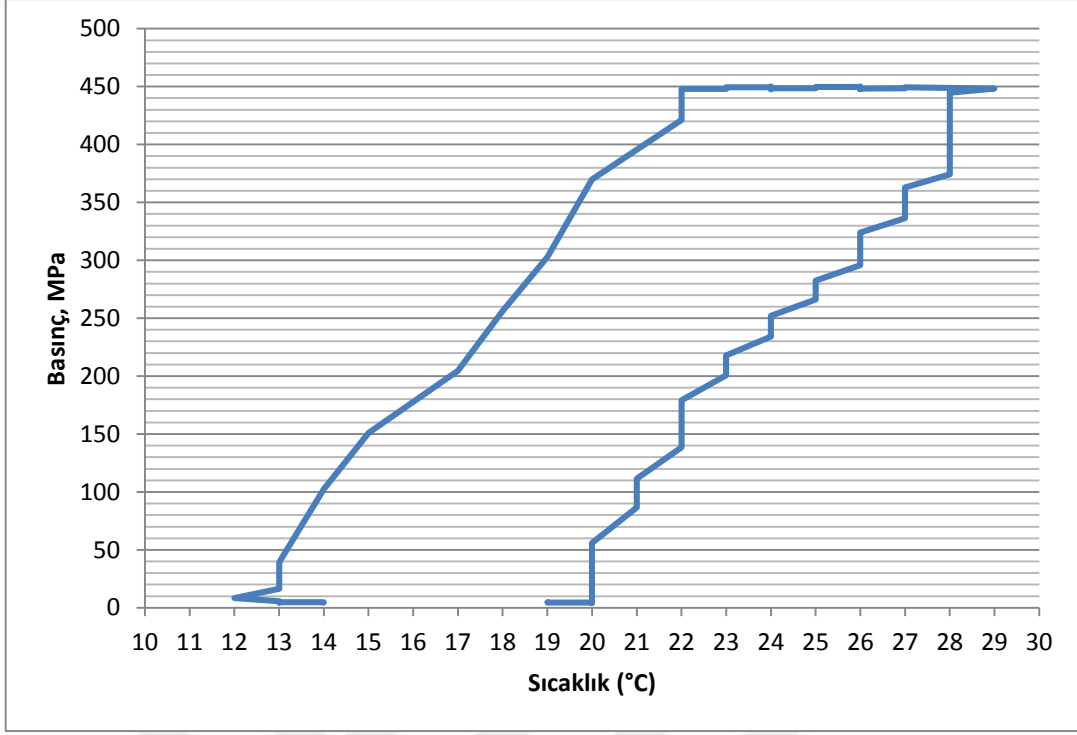
## BÖLÜM 4

### ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

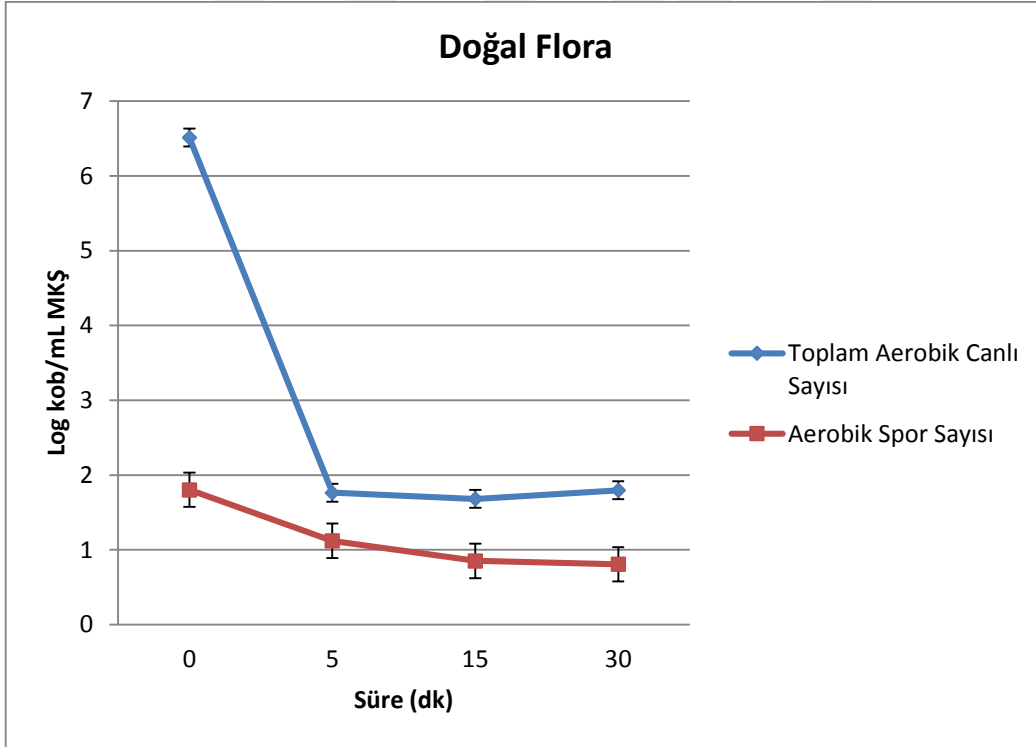
#### 4.1. YHB Uygulamasının MKŞ'de Bulunan Bakteriye Spor Yükü Üzerine Etkisi

YHB uygulamasının bakteri sporları üzerine etkisinin araştırılması amacıyla öncelikle MKŞ'de doğal olarak bulunan aerobik ve anaerobik mezofilik spor sayısı tespit edilmiştir. MKŞ örneklerindeki vejetatif hücrelerin inaktivasyonları 80 °C'de 10 dk su banyosunda gerçekleştirilen sıcaklık uygulaması ile gerçekleştirilmiştir. MKŞ örneklerinin ortalama aerobik mezofilik spor yükü  $2,53 \pm 0,64$  log kob/mL (n=5) olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, anaerobik mezofilik spor yükünün belirlenmesi amacıyla 4 tekerrürlü olarak RCA (Reinforced Clostridial Agar, Merck, Almanya) besiyerinde anaerobik ortamda ve 35 °C'de yürütülen inkübasyon sonucunda herhangi bir anaerobik spor gelişimi gözlenmemiştir (<1 log kob/mL olarak tespit edilmiştir).

MKŞ örneklerinde varlığı tespit edilen aerobik mezofilik sporların orta derecede sıcaklık (20-30 °C) ile kombine edilen YHB denemesi, cihazın mevcut durumda teknik seviye olarak en fazla çıkabileceği 450 MPa basınç değerinde ve 5-15-30 dk parametrelerinde yürütülmüştür. Çalışma boyunca meydana gelen sıcaklık değişimleri Şekil 4.1'de görülmektedir. Basınçlama başlangıcında 19 °C olan sıcaklık değeri basınç 450 MPa'a ulaştığında en fazla 28-29 °C'lere kadar çıkmıştır. Basıncın kaldırılmasıyla sıcaklık değeri tekrar 13-14 °C'lere kadar azalmıştır. Aynı zamanda, MKŞ örneklerine inokule edilen *Geobacillus stearothermophilus* sporlarının sayısında meydana gelen azalma da incelenmiştir. Şekil 4.2 ve şekil 4.3'de analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 4.1. YHB uygulaması sırasındaki sıcaklık değişimleri



Şekil 4.2. MKŞ'nin doğal florasında bulunan sporlu bakteri yükü üzerine YHB uygulamasının etkisi

Şekil 4.2’de mavi çizgi toplam aerobik canlı (TAC) sayısını, kırmızı çizgi ise aerobik spor sayısını göstermektedir. Her iki sonucun da verilmesinin iki nedeni bulunmaktadır (1) YHB uygulaması sonrası ortamda sadece spor yükü mü kalıyor? (2) YHB uygulaması sonrası 80 °C’de 10 dk ısıl işlem uygulaması zaten basınçla birlikte hasarlanan spor yükünü daha da azaltır mı? Sorularını da aynı zamanda yanıtlamaktır. Şekil 4.2’de görüldüğü üzere, MKŞ örneklerinin  $6,5 \pm 0,12$  (ort.  $\pm$ std. hata) log civarında olan başlangıç yükü, YHB uygulamasıyla 5-30 dk arasında ise anlamlı bir değişim olmamakla birlikte ortalama  $1,75 \pm 0,11$  log düzeyine azalmıştır. Bu örneklerle, 80 °C’de 10 dk ısıl işlem uygulaması sonrası  $1,8 \pm 0,14$  log civarında olan spor yükü ki bu yük 5-30 dk YHB uygulaması sonrası ile benzer sonuçlardır, 5-30 dakika YHB uygulaması ile daha da azalmıştır. 30 dk sonunda 1 log azalma görülmektedir. Bu sonuçlardan YHB uygulaması sonrası ortamda kalan dirençli yükün bakteriyel spor olduğu söylenebilir. Ayrıca, YHB uygulamasıyla birlikte sporların direncini YHB uygulanan süreyle doğru orantılı olarak kaybettiği ve spor sayımında ortamda vejetatif hücrelerin inaktivasyonu için standart olarak uygulanmakta olan 80 °C’de 10 dk sıcaklık uygulaması ile de kısmen inaktivasyonun gerçekleştiği de söylenebilir.

Spor inaktivasyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada, *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 10149 suşu kullanılmış, ürün olarak pH’sı 7.5 olan deiyonize su seçilmiş ve 500–700 MPa basınç değerleri aralığında, 92–111 °C, 0-6 dakika aralığında YHB işlemi uygulanmış ve sonuç olarak spor inaktivasyonunun artan basınç değeri ve yüksek sıcaklıkta daha etkin olduğu ifade edilmiştir (Patazca, E. vd., 2006).

Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada 600 MPa, 20 °C ve 1 dk süresi parametrelerinde portakal suyuna YHB uygulanmış, ve sonucunda kontrol örneklerinde toplam aerobik canlı sayısı (TAC) 7,8 log düzeyinde, maya ve küf ise 4,8 log düzeyinde olduğu bildirilmiştir. Basınç işleminden sonra ise toplam canlı sayısı 4.3 log düzeyinde, maya ve küf ise 3 log düzeyinde olduğu ifade edilmiştir. (Bull M.K vd., 2004)

Yapılan bir diğer çalışmada 150-250 MPa’da 25-35 °C’de 5-15 dk sürelerinde basınç uygulaması ile meyve suyu üretimi yapılmış (portakal, domates ve havuç suyu) ve çalışmanın sonucunda 35 °C’de 250 MPa ve 15 dk parametresinde basınçlanmış havuç suyunda başlangıç yüküne göre 5 log düzeyinde bir azalma olduğu belirtilmiş ve 80 °C’de 1 dk ısıl işlem uygulaması ile mikrobiyal inaktivasyonun benzer düzeyde olduğu bildirilmiştir (Dede S. vd.,2007).

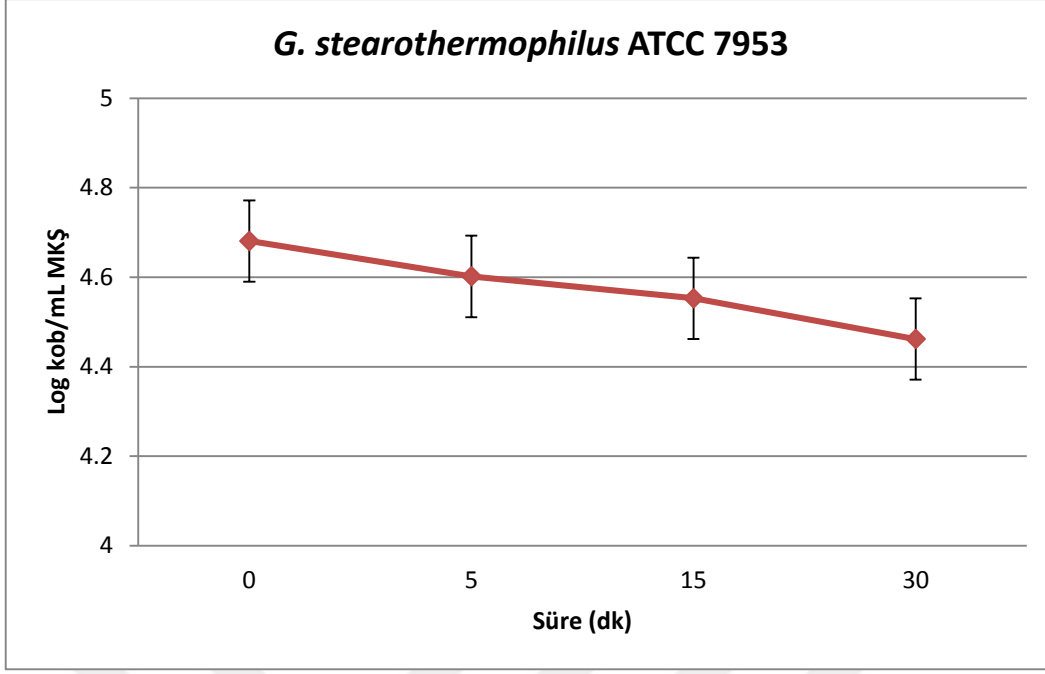
#### 4.1.1. YHB Uygulamasının MKŞ'ne İnoküle *G. stearothermophilus* ATCC 7953 Sporları Üzerine Etkisi

*G. stearothermophilus* çubuk şeklinde, Gram pozitif (+), spor oluşturan aerobik bir bakteridir. Kaplıcalarda ve sıcak denizlerde görülür. 30-75 °C sıcaklık aralığında gelişme gösterir. Optimum gelişme sıcaklığı 60 °C olarak ifade edilmektedir (Timko S., 2007; Hashizum S. vd 1976).

*G. stearothermophilus* sporları, nemli ortamda ısı işleme çok dayanıklıdır.  $D_{121}$  değeri 1,5-2 dk'dır. Bu veriye göre 121 °C'de 15 dk süren otoklav işlemi sırasında sporların tamamı inaktif olmalıdır. *G. stearothermophilus* sporları genellikle konserve sıvı gıdalarda bozulma etmeni olarak düz ekşimeye neden olur. Bu mikroorganizmanın sporlarının sıcaklık dayanımlarının yüksek olmasından dolayı, sıklıkla biyolojik indikatör olarak sterilizasyon işleminin yeterli olup olmadığını değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır.

Genel olarak, 100 °C'nin altında ve buna yakın sıcaklıklarda ısı işlem gören gıdaların, sıcaklık işleminden zarar görmediği varsayılır. Ticari uygulamalarda, pastörizasyonda  $5 \times D$  (desimal azalma süresi) konsepti kullanılmaktadır. Bu konseptte göre, 100 °C'nin altındaki sıcaklıklarda, bakteri sporlarının 5 log inaktivasyonu (özellikle *G. stearothermophilus* sporları), mikrobiyal kalite ile birlikte gıda kalitesinin korunması da arzu edilmektedir (Anonim, 2016; Watanabe vd., 2003). Bu nedenden dolayı, bu çalışmada *G. stearothermophilus* sporları tercih sebebi olmuştur.

Çalışmamızda, *G. stearothermophilus* süspanse sporlar, MKŞ örneklerine yaklaşık 5 log kob/mL olacak düzeyde eklenmiştir. İnokülasyon amacıyla kullanılan MKŞ örnekleri 121 °C'de 20 dk sterilize edilerek başlangıç spor yükü elimine edilmiştir. Bu çalışmada sadece *G. stearothermophilus* üzerine basınç etkisi gözlenmek istenmiştir. Orta derecede sıcaklık (20-30 °C), 450 MPa basınç değerinde ve 5-30 dk YHB uygulamasının *G. stearothermophilus* sporları üzerine etkisi Şekil 4.3'de görülmektedir. 30 dk YHB uygulaması sonrasında başlangıç spor yükünde sadece 0,2 log'luk bir azalma meydana gelmiştir.



Şekil 4.3. MKŞ'e inoküle *G. stearothermophilus* yükü üzerine YHB uygulamasının etkisi

Yapılan bir çalışmada steril deiyonize suya inoküle edilen *G. stearothermophilus* sporlarına 500-700 MPa düzeyinde, 92-110 °C aralığında basınç uygulanmış ve %86'dan fazla inaktivasyon sağlanmıştır (Rodriguez vd., 2004).

*G. stearothermophilus* ATCC 7953 suşu ile yapılan bir çalışmada ise brokoli püresine 50-600 MPa, 60-120 °C, 0-160 dk parametrelerinde YHB uygulanmış ve sonuçta sterilizasyon sağlandığı ifade edilmiştir (Ananta vd., 2001).

Steril distile suya inoküle edilen *G. stearothermophilus* ile yapılan bir çalışmada ise 981 MPa düzeyinde YHB ile 40 dk, 588 MPa düzeyinde YHB ile 120 dk, 5-10 °C aralığında sıcaklık parametreleri kullanılmış ve önemli bir inaktivasyon olmadığı bildirilmiştir (Nakayama vd., 1996).

Yapılan tez çalışmamızda, önemli bir inaktivasyon olmamasını daha yüksek basınç parametrelerinde YHB uygulayamamamız ve yüksek sıcaklıklara çıkamamamız olarak açıklayabiliriz.

#### 4.1.2. Germinasyon Çalışması

Sporların mekanik etki ile düşük basınçlarda ve orta derecede sıcaklıklarda germinasyonunun teşvik edilmesi ve vejetatif forma dönüşen hücrelerin YHB ile inaktivasyonunun incelenmesi amacıyla MKŞ örneklerinin hem doğal spor yükünde hem de inoküle edilen *G. stearothermophilus* sporlarının sayısında meydana gelen azalmanın



ortaya konması amacıyla da oda koşullarında (20-30 °C) 200 MPa'da 15 dk basınçlama, daha sonra 15 dk bekleme ve takiben 450 MPa'da 15 dk basınçlama şeklinde bir seri YHB uygulaması gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.1'de görüldüğü üzere,  $3,09\pm 0,07$  log kob/mL olan başlangıç Toplam Aerobik Canlı (TAC) sayısı germinasyon çalışmaları sonucunda  $2,60\pm 0,07$  düzeyine düşmüş ve yaklaşık 0,4 log kob/mL bir azalma sağlanarak kısmi inaktivasyon meydana gelmiştir.

Doğal spor yükü ile ilgili çalışmada ise, MKŞ örneklerinde doğal florasında bulunan sporlar üzerinde çalışılmıştır. Çizelge 4.1'de sonuçlar verilmiş ve  $2,01\pm 0,2$  log kob/mL olan başlangıç yükü, germinasyon çalışması sonucunda  $0,94\pm 0,2$  seviyesine inmiş, başlangıç yüküne göre 1 log düzeyinde bir azalma görülmüş, kısmi bir inaktivasyon sağlanmıştır.

Çizelge 4.1. Germinasyon çalışması

	TAC sayısı (log kob/mL)	Doğal Spor yükü (log kob/mL)	<i>G. stearothermophilus</i> ATCC 7953 (log kob/mL)
Kontrol	$3,09\pm 0,07^1$ a	$2,01\pm 0,2$ a	$4,68\pm 0,1$ a
Germinasyon	$2,60\pm 0,07$ b	$0,94\pm 0,2$ a	$4,706\pm 0,1$ a

<sup>1</sup>Sonuçlar "Ortalama±Standart hata" olarak verilmiştir (n=2). Farklı küçük harflerle (a,b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır (P<0.05).

$4,681\pm 0,1$  log kob/mL civarında inokülasyonu gerçekleştirilen *G. stearothermophilus* sporları, uygun seyreltilerden NA (Nutrient Agar, Merck, Almanya) besiyerine dökme plak yöntemine göre ekilerek hasar görmüş sporların da kendilerini onarmalarına fırsat vermek için 3 gün boyunca 55 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 55 °C'de inkübasyon sırasında besiyerlerinin kurumalarının önüne geçilmesi amacıyla petri kutuları, poşet torba içerisine yerleştirilmiştir. Germinasyon uygulaması sonucunda *G. stearothermophilus* spor sayısı  $4,706\pm 0,1$  log kob/mL düzeyinde tespit edilmiştir. Bu uygulamanın *G. stearothermophilus* sporları üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır.

Konuyla ilgili *G. stearothermophilus* sporları ile yapılan bir çalışmada sterilize edilmiş suya inokülasyon yapılmış, 600 MPa gibi bir basınçta 92-110 °C değerinde 8 dk basınçlamada %86 inaktivasyon sağlanabildiği belirtilmiştir (Zhang ve Mittal, 2008)

MKŞ pH değeri nötre yakın bir gıda olduğu için, spor inaktivasyonu asitli gıdalara göre daha daha kısıtlı olmaktadır. Yine aynı nedenden dolayı, konuyla ilgili çalışmalar sürüyor olsa da, düşük asitli gıdalarda, YHB teknolojisi ticari sterilizasyonda başarısız olmaktadır ve her zaman güvenilir değildir (Nakayama A. vd.,1996)

#### 4.2. YHB Uygulamalarının MKŞ'nin Fizikokimyasal Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi

Farklı sürelerde YHB uygulanmış MKŞ örneklerinin (P+ 5 dk, P+15 dk ve P+ 30 dk) suda çözünür kuru madde (SÇKM), pH ve renk değerlerinde, kontrol grubu MKŞ örneğine göre meydana gelen değişim Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Yaptığımız çalışmada Meyan Kökü Şerbeti (MKŞ) başlangıç SÇKM değeri, 0,7 Briks° olarak belirlenmiştir. Orta derece sıcaklık koşullarında (20-30 °C), 450 MPa basınç değerinde, 5 dk, 15 dk, 30 dk basınç işlemi uygulanmış MKŞ örneklerinde de aynı briks değeri görülmüştür. Böylece, bu parametrelerde uygulanan YHB'nin MKŞ örneklerinde SÇKM değeri üzerinde önemli bir etkinin gözlemlenmediği ortaya konmuştur (P<0,05). YHB'nin, SÇKM değeri üzerine etkisi olmadığını gösteren literatür çalışmaları da mevcuttur. 600 MPa, 20 °C ve 1 dk süresi parametrelerinde portakal suyuna YHB uygulanmış ve sonucunda taze sıkılmış portakal suyu örnekleri ile basınçlanmış örnekler arasındaki SÇKM bakımından önemli bir değişimin olmadığı belirtilmiştir (P>0,05). Taze portakal suyunun briks değeri 12,2 ve YHB uygulanmış portakal sularının da briks değeri 12,2 olarak ifade edilmiştir (Bull M.K vd., 2004).

Çizelge 4.2. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulanan Meyan Kökü Şerbetinde kontrol, P+ 5dk, P+ 15 dk, P+ 30 dk örneklerinin renk, pH, SÇKM değerlerindeki değişim

Örnek	SÇKM	pH	L*	a*	b*	deltaE (ΔE)
Kontrol	0,7	6.47a	17.39a	9.96a	-5.12a	0
P+ 5 dk	0,7	6.49a	17.32a	10.77a	-4.69ab	0,918
P+ 15 dk	0,7	6.49a	17.47a	10.73a	-4.63ab	0,916
P+ 30 dk	0,7	6.47a	17.61a	11.00a	-4.41b	1,278
Std. Hata	-	±0.07	±0.12	±0.28	±0.18	

Sonuçlar "Ortalama±Standart hata"olarak verilmiştir (n=2).Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır (P< 0,05).

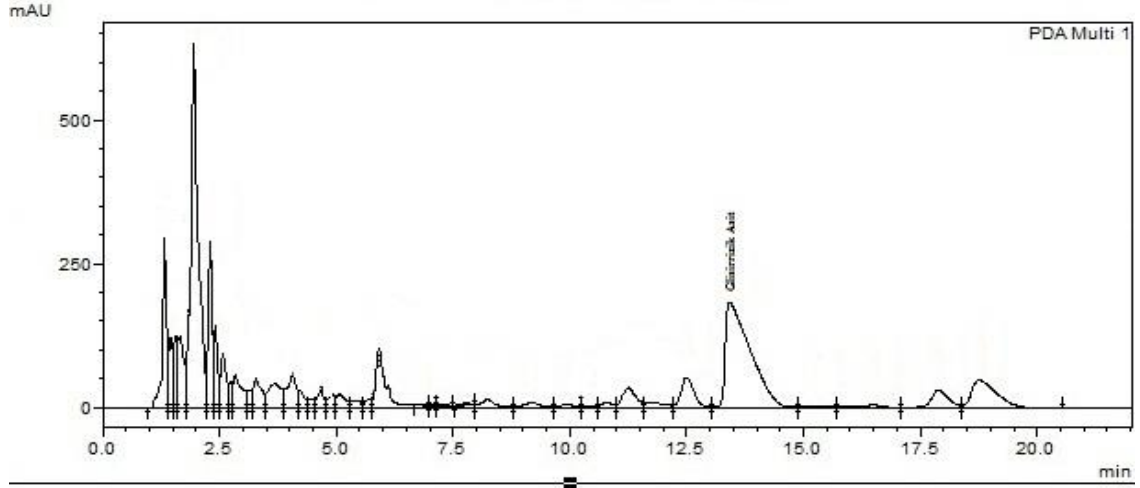
Çizelge 4.2'de verilen kontrol grubu MKŞ ve basınçlanmış MKŞ örneklerinin

(P+5dk, P+15 dk, P+30 dk) pH değerleri incelendiğinde, SÇKM değerleri ile benzer şekilde uygulanan YHB parametrelerinin pH değerleri üzerine önemli bir etki oluşturmadığı gözlemlenmiştir ( $P>0,05$ ). MKŞ örneklerinde YHB işlemi ile pH değerinin değişmediği literatür ile benzer sonuçlar göstermiştir. Yapılan bir çalışmada, 600 MPa, 20 °C ve 1 dk süresi parametrelerinde portakal suyuna basınç uygulanmış, ve sonucunda taze sıkılmış portakal suyu örneklerinde pH 4.28, ve YHB işlemi uygulanmış portakal sularında ise 4,23 olarak belirtilerek YHB nin renk üzerinde önemli bir etkisi olmadığı ( $P>0,05$ ) gösterilmiştir (Bull M.K vd., 2004).

Çizelge 4.2’de kontrol, P+5dk, P+15 dk, P+30 dk örneklerinin renk değerlerindeki değişim gösterilmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde, kontrol grubu ile 30 dk’ya kadar basınçlanmış örnekler arasında ışık geçirgenliğini temsil eden  $L^*$  değerleri ve kırmızı/yeşil eksenini temsil eden  $a^*$  değerleri arasında önemli bir farklılık belirlenmemiştir ( $P>0,05$ ). Kontrol grubuna ilişkin sarı/mavi eksenini temsil eden  $b^*$  değeri YHB uygulaması ile azalan bir trend izlemekle birlikte, 30 dk YHB uygulaması istatistiksel olarak önemli bir azalma ile sonuçlanmıştır ( $P<0,05$ ). Ürünle ilgili yüksek basınç ile çalışma konusunda literatürde örnek bulunamamıştır. Ancak bazı meyve ve sebze ürünleri ile yapılan yüksek basınç çalışmalarında, meyve reçelleri, çilek reçeli, domates suyu, guava meyvesinin suyu, avakado meyvesi püresinde uygulanan YHB çalışmalarında renkte önemli bir değişim olmadığı sonucuna varılmıştır (Watanabe vd., 1991; Poretta vd., 1995; Donsi vd., 1996; Yen ve Lin, 1996; Lopez-Malo vd.,1998).

Diğer yandan, çizelge 4.2’de bulunan toplam renk farkı( $\Delta E$ ) değerlerinde görüldüğü üzere,  $\Delta E<1,5$  seviyesinde bulunmuştur. Tiwari vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, meyve sularında toplam renk farkı ( $\Delta E$ ) değerleri,  $\Delta E<1,5$  olduğunda az farkedilebilir düzeyde,  $1,5<\Delta E<3$  rasında olduğunda farkedilir seviyede olduğu ve yine,  $\Delta E>3$  olduğunda ise görünür düzeyde olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, meyan şerbeti örneklerinin,  $\Delta E$  değerinin  $<1,5$  olarak belirlenmesi, uyguladığımız YHB parametrelerinin MKŞ örneklerindeki renk değerlerinde, toplam farklılığın az farkedilir düzeyde olduğunu göstermektedir.

MKŞ örneklerinde bulunan glisirizik asit içeriklerinin analizlendiği 254 nm dalga boyunda belirlenen HPLC kromatogramı ve kromatogramda glisirizik asit piki şekil 4.4’de görülmektedir. Örneklerde belirlenen glisirizik asit pikine ilişkin alanlar, glisirizik asit standardı ile oluşturulan standart eğri dikkate alınarak kantitatif olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.4. Glisirizik Asit HPLC analizi

Yaptığımız çalışmada kontrol grubu MKŞ örneklerinin ortalama glisirizik asit içeriği 1091,04 mg/L olarak belirlenmiştir. P+5dk örneğinde 1071,28, P+ 15 dk örneğinde 1105,51 ve P+ 30 dk örneklerinde ise glisirizik asit içeriği 1092,53 mg/Lolarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Bu bulgular, 30 dk'ya kadar 450 MPa YHB uygulamasının örneklerin glisirizik asit içeriğinde önemli bir değişim meydana getirmediğini göstermektedir ( $P>0,05$ ). MKŞ örnekleriyle, yapılan bir YHB ve bileşenlere etkisi çalışması literatürde bulunmamaktadır.

Çizelge 4.3. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulanan Meyan Kökü Şerbetinde kontrol, P+ 5dk, P+ 15 dk, P+ 30 dk örneklerinin Glisirizik Asit, Toplam Fenol, Toplam Flavonoid ve TEAC değerlerindeki değişim

Örnek	Glisirizik Asit (mg/L)	Toplam Fenol (mg GAE/L)	Toplam Flavonoid (mg QE/L)	TEAC (µmol Troloks /mL)
Kontrol	1091.04a	376.50a	26.13a	6.97a
P+ 5 dk	1071.28a	367.00a	25.75a	6.94a
P+ 15dk	1105.51a	370.00a	25.75a	7.38a
P+ 30dk	1092.53a	367.00a	25.94a	7.25a
<b>Std. Hata</b>	<b>±28.61</b>	<b>±26.56</b>	<b>±0.62</b>	<b>±0.13</b>

Sonuçlar "Ortalama±Standart hata"olarak verilmiştir (n=2).Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ( $P< 0,05$ ).

YHB uygulanmış meyve suyu çalışmasında, örneklere 150-250 MPa aralığında basınç uygulanmış, 25-35 °C'de 5, 10 ve 15 dakika parametrelerinde çalışılarak, portakal suyu, domates suyu ve havuç suyu üretimi yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda C vitamini (askorbik asit) miktarlarına ilişkin yapılan analizlerde, YHB'ye bağlı olarak askorbik asit miktarlarında değişim görülmediği bildirilmiştir (Dede S. vd.,2007).

Literatürde, portakal suyu, elma püresi, karışık meyve suyu, havuç ve domates suları ile çalışmalar yapılmış olup, 400-800 MPa basınç aralığında, 25-44 °C ve 6 dk parametrelerinde askorbik asit bileşiminde önemli bir değişim olmadığı ifade edilmiştir (Butz vd., 2003, Landl vd., 2010).

Tez çalışmasında, kontrol grubu MKŞ örneğinde, toplam fenol içeriği 376,5 mg GAE(gallik asit eşdeğeri)/L olarak belirlenmiştir. Diğer örneklerde toplam fenol içeriği sırasıyla 367, 370, 367 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Çizelge 4.3'de görüldüğü üzere, YHB uygulamasının MKŞ örneklerinin toplam fenol içeriğinde de önemli bir değişim meydana getirmemektedir ( $P>0,05$ ).

Meyan Kökü Şerbetinin YHB işlemi ile birlikte toplam fenol içeriğiyle ilgili yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Rodriquez Roque M.J. vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, en fazla görülen sıcaklığın 40 °C olduğu, 400 MPa'da 5 dk'lık bir YHB işlemi ile değişik meyve suları (portakal, kivi, mango ve ananas meyvelerinin suları ve bunların karışımlarına) işlenmiş ve Folin-Ciocalteu yöntemiyle toplam fenol analizleri gerçekleştirilmiştir. Gallik Asit Eşdeğeri (GAE) bakımından sonuçlar, YHB uygulanmamış kontrol grubu meyve sularında 760 mg/L ve YHB uygulanmış ürünlerde 900 mg/L olarak ifade edilmiştir. Süt ve meyve suyu karışımlarında ise işlem görmemiş ürünlerde 820 mg/L ve YHB uygulanmış ürünlerde 850 mg/L olduğu belirtilmiştir. Isıl işlem ile karşılaştırıldığında çok daha kaliteli bir ürün üretildiği ifade edilmiştir (Rodriquez Roque M.J. vd., 2015).

Bu tez çalışmasında MKŞ kontrol örneğindeki toplam flavonoid içeriği 26,13 mg/L olarak tespit edilmiştir. P+ 5dk örneğinde 25,75, P+ 15 dk örneğinde 25,75 ve P+ 30 dk örneğinde ise 25,94 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi YHB uygulaması örneklerin toplam flavonoid içeriğinde de önemli bir değişim meydana getirmemiştir ( $P>0,05$ ). Benzer şekilde, Rodriquez Roque M.J. vd.(2015) tarafından yapılan çalışmada da meyve sularına (portakal, kivi, mango ve ananas meyve suları ve karışımlarına) 400 MPa'da 5 dk'lık YHB uygulaması sonucunda toplam flavonoid içeriği analiz edilmiştir. İşlem görmemiş meyve suyu örneklerinde 159 mg/L olarak belirtilen toplam flavonoid içeriği, basınç uygulanmış örneklerde 149 mg/L olarak

bulunduğu ve bu farkın önemli olmadığı ifade edilmiştir (Rodriquez Roque M.J. vd., 2015).

Antioksidan aktivite TEAC (troloks eşdeğeri antioksidan kapasite) yöntemine göre belirlenmiş olup, MKŞ kontrolörneğinde 6,97 mg/L, P+ 5dk örneğinde 6,94, P+ 15 dk örneğinde 7,38 ve P+ 30 dk'da ise TEAC içeriği 7,25 mg/L olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). 30 dakikaya kadar 450 MPa YHB uygulamasının, kontrol grubu MKŞ örneğinin antioksidan aktivitesi üzerinde önemli bir etkisi olmamaktadır ( $P>0,05$ ). MKŞ ürünüde YHB sonrasında böyle bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Ancak, böğürtlen püresi ile yapılan bir çalışmada, 400-500 MPa basınç parametresinde 20 °C sıcaklıkta, 15 dakika yapılan basınç işlemi ile de DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite analizi yapılmış ve YHB'nin antioksidan kapasitede önemli bir değişikliğe neden olmadığı belirtilmiştir (De Ancos vd.,2000).

Igual vd. (2013) tarafından yapılan başka bir çalışmada, greyfurt reçeline 45-75 °C aralığında 550-700 MPa aralığındaki koşullarda YHB uygulanmıştır. Çalışmalarının sonucunda, kontrol örnekleri ve basınçlanmış örnekler arasında antioksidan kapasite bakımından bir fark olmadığını belirtmişlerdir.

### 4.3. Germinasyon Uygulamasının MKŞ'nin Fizikokimyasal Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi

Bakteri sporlarına olan etkinin araştırılması kapsamında iki kademeli olarak uygulanan, germinasyon çalışmasında, MKŞ örneğindeki fizikokimyasal değişimler de incelenmiştir. Sonuçlar çizelge 4.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Germinasyon Çalışmasının MKŞ'de SÇKM,pH, ve renk Üzerine Etkisi

	SÇKM	pH	L*	a*	b*	deltaE ( $\Delta E$ )
Kontrol	0,7	6.47a	17.39a	9.96a	-5.12a	0
Germinasyon	0,7	6.49a	17.36a	10.21a	-5.23a	0,274a
<b>Std. Hata</b>	-	<b>±0.08</b>	<b>±0.07</b>	<b>±0.40</b>	<b>±0.18</b>	

Sonuçlar "Ortalama±Standart hata"olarak verilmiştir (n=2).Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ( $P< 0,05$ ).

Yaptığımız araştırma sonuçlarında, MKŞ örneklerinde SÇKM değerlerine bakıldığında, iki kademede uygulanan germinasyon çalışmasının SÇKM üzerinde bir etkisi olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.4). Çizelge 4.4'ün içeriğinde verilen sonuçlarda SÇKM

değeri kontrol ve germinasyon örneklerinde de 0,7 Briks olarak tespit edilmiştir.

Tez çalışmasında, pH değerleri de incelenmiş, ve MKŞ kontrol örneğinde 6,47 ve germinasyon örneğinde ise 6,49 olarak tespit edilmiş olup, önemli bir fark görülmemiştir ( $P>0,05$ ).

Örneklerin renk değerlerinde de, ışık geçirgenliğini temsil eden  $L^*$ , kırmızı/yeşil eksenini temsil eden  $a^*$  değeri, ve sarı/mavi eksenini temsil eden  $b^*$  değerleri arasında önemli bir fark görülmemektedir ( $P>0,05$ ).

Yaptığımız çalışmada MKŞ kontrol örneğindeki toplam glisirizik asit içeriği 1091,04 mg/L olarak belirlenmiştir. Germinasyon örneğinde ise glisirizik asit içeriği 1093,56 mg/L olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Çizelge 4.5’de görüldüğü gibi YHB uygulaması örneklerin glisirizik asit içeriğinde önemli bir değişim meydana getirmemiştir ( $P>0,05$ ).

Çizelge 4.5. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulanan Meyan Kökü Şerbetinde Kontrol ve Germinasyon örneklerinin Glisirizik Asit, Toplam Fenol, Toplam Flavonoid ve TEAC değerlerindeki değişim

Örnek	Glisirizik Asit (mg/L)	Toplam Fenol (mg GAE/L)	Toplam Flavonoid (mg QE/L)	TEAC (µmol Troloks /mL)
Kontrol	1091.04	376.50	26.13	6.97
Germinasyon	1093.56	380.00	27.00	7.36
<b>Std. Hata</b>	<b>±27.47</b>	<b>±26.50</b>	<b>±0.62</b>	<b>±0.08</b>

Sonuçlar “Ortalama±Standart hata”olarak verilmiştir ( $n=2$ ). ( $P< 0,05$ ).

Çalışmalarımız sonucunda MKŞ kontrol örneğinde, toplam fenol içeriği 376,5 mg GAE (gallik asit eşdeğeri)/L olarak belirlenmiştir. Germinasyon çalışmasında da toplam fenol içeriği 380 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Çizelge 4.5’de görüldüğü üzere, bu parametrelerde bir YHB işlemi, MKŞ örneklerinin toplam fenol içeriğinde önemli bir değişim meydana getirmemektedir ( $P>0,05$ ).

Araştırmada, MKŞ kontrol örneğindeki toplam flavonoid içeriği 26,13 mg QE (kuarsetin eşdeğeri)/L olarak tespit edilmiştir. Germinasyon çalışmasında ise 27 mg QE/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Çizelge 4.5’de görüldüğü gibi YHB uygulaması örneklerin toplam flavonoid içeriğinde önemli bir değişim meydana getirmemiştir ( $P>0,05$ ).

Antioksidan aktivite TEAC yöntemine göre belirlenmiş olup, MKŞ kontrol örneğinde 6,97 mg/L, Germinasyon çalışmasında ise TEAC içeriği 7,36 mg/L olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Çizelge 4.5’de görüldüğü gibi, germinasyon çalışmasında uygulanan YHB parametrelerinin, MKŞ örneklerinin antioksidan aktiviteleri üzerinde önemli bir etkisi olmamaktadır ( $P>0,05$ ).

Germinasyon çalışması sonucunda yapılan çalışmalarda da fizikokimyasal analizler olarak bir fark oluşmadığından ( $P>0,05$ ), bulunan tüm literatür çalışmaları bu kısmı da kapsamakta olup, germinasyon çalışmasının fizikokimyasal özellikler üzerine bir etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.





## BÖLÜM 5

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Meyan kökü şerbeti, serinletici etkisi ve sağlığa yararlı bir içecek olması nedeniyle ülkemizde tüketilen önemli bir geleneksel içeceğimizdir. Yöresel olarak kullanımı daha yaygındır. Bu çalışmada, raf ömrü 1-2 gün kadar olan, meyan kökü şerbetine, hiçbir koruyucu ilave etmeksizin, ısıtma işlemi sonucunda renkte ve biyoaktif bileşenlerde olumsuz sonuçlar meydana geldiği bilinerek, bu olumsuz sonuçlar olmaksızın, şerbetin raf ömrünü arttırarak, bu geleneksel içeceğin, pazarda yer edebilecek formda bir ürün oluşturulması amaçlanmıştır. Böylece ülkemizde tarımı yapılan bir ürünün, dünya endüstrisinde her geçen gün pazar payı artan Yüksek Basınç Teknolojisi ile işlemeye uygun olup olmadığı araştırılmıştır. Hammaddeden başlayarak, meyan kökü şerbeti, geleneksel yöntemle uygun olarak üretilmiş ve değişik süre parametreleri ile YHB işlemi uygulanarak mikrobiyal inaktivasyon durumu incelenmiştir. Mikrobiyolojik analizlerin yanı sıra, biyoaktif bileşenlerin durumu da analiz edilmiştir (toplam fenol ve toplam flavonoid). Antioksidan kapasite (TEAC) miktarının basınç işlemine göre miktarı analiz edilmiştir. Fizikokimyasal özellikleri (pH, suda çözünür kurumadde) belirlenmiş ve literatürdeki eksikliğin giderilmesine katkı sağlanmıştır.

YHB teknolojisi ile gerçekleştirilen parametrelerde; MKŞ ürününde renk, briks, pH, toplam fenol, toplam flavonoid ve glisirizik asit miktarında önemli bir değişim olmadığı sonucuna varılmıştır. Sporlar ile ilgili yapılan mikrobiyolojik analizlerde ise doğal floradaki spor yükünün belirlenen parametrelerdeki basınç işlemi ile 1 log azaldığı, inoküle edilen *G. stearothermophilus* suşuna ise etki gözlemlenmemiştir.

Sonuç olarak, MKŞ ürününün fizikokimyasal özellikleri önemli bir ölçüde değişmeksizin, toplam canlı sayısı ve spor yükünde kısmen, toplam koliform ve maya-küf yükünde ise tamamen bir mikrobiyal inaktivasyon sağlanmıştır. MKŞ gibi düşük pH değerine sahip gıda ürünlerinin, tek başına YHB teknolojisi ile pastörizasyon için uygun olabileceği düşünülmektedir. YHB teknolojisi ile pastörize MKŞ ürünlerinin +4°C’de muhafazası önerilmektedir. Bununla birlikte, söz konusu tez çalışmasının sonuçları ışığında daha da başarılı bir spor inaktivasyonu amacıyla, daha yüksek basınç parametreleri ile birlikte daha yüksek sıcaklık değerlerinde ve 0 °C’nin altında subzero koşullarda YHB uygulaması önerilmektedir.

Ayrıca YHB prosesi dışında, ısısal olmayan farklı işleme yöntemlerinin de sporlar üzerindeki etkisini incelemek amacıyla, ultraviyole, vurgulu elektrik alan uygulaması, ultrasound gibi uygulamalar ile mikrobiyal inaktivasyon çalışması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Achouri A., Boye J.I. 2013. "Thermal processing, salt and high pressure treatment effects on molecular structure and antigenicity of sesame protein isolate", *Food Research International*, 53, 240-251.
- Akan H., Balos M.M., 2008. "GAP Bölgesi'nden Toplanan Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) Taksonunun İhracat Durumu, Etnobotanik Özellikleri ve Tıbbi Önemi", *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 20, 233-24.
- Akhtar S., Paredes-Sabja, D., Torres J.A., Sarker M.R., 2009. "Strategy to inactivate *Clostridium perfringens* spores in meat products", *Food Microbiology*, 26, 272-277.
- Alpas H., Bozoglu F., 2003. "Efficiency of high pressure treatment for destruction of *Listeria monocytogenes* in fruit juices", *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 35, 269-273.
- Ananta E., Heinz V., Schlueter O., Knorr D., 2001. Kinetic Studies on High-Pressure Inactivation of *Bacillus stearothermophilus* Spores Suspended in Food Matrices. *Innov. Food Sci. Emerg.* 2 (4), 261–272.
- Anonim,2016.  
<http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFA AF6AA849816B2EF1578F4E5E296E410> (Son Erişim : 29.04.2016)
- AOAC 2000. *Microbiological Methods. Official Methods of Analysis of AOAC International, Volume I, 17th Edition, USA.*
- Arıcı M., 2006. Gıda Muhafazasında Yüksek Hidrostatik Basıncın Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi, *Tekirdar Ziraat Fakültesi Dergisi*. s. 41-49.
- Balasubramaniam, V.M., Farkas, D. 2008. *High Pressure Food Processing. Food Science and Technology.* 14-5, s. 413-418
- Balasubramaniam S.; Balasubramaniam V.M., 2003. Compression Heating Influence of Pressure Transmitting Fluids on Bacteria Inactivation during High Pressure Processing. *Food Res. Int.* 36 (7), 661–668.
- Baran A., Fenercioğlu H., 1991. "Meyan Kökünden Elde Edilen Ekstraktın Özelliklerinin Belirlenmesi ve Dayandırılması Üzerine Bir Araştırma", *Gıda Dergisi*, 16, 391-396.
- Black E.P., Wei J., Atluri S., Cortezzo D.E., Koziol-Dube K., Hoover D.G., Setlow, P.,

2006. Analysis of Factors Influencing the Rate of Germination of Spores of *Bacillus subtilis* by Very High Pressure. J. Appl. Microbiol. 102 (1), 65–76.
- Bull M.K., Zerdin K., Howe E., Goicoechea D., Paramanandhan P., Stockman R., Sellahewa J., Szabo E.A., Johnson R.L., Stewart M.C., 2004. Innovative Food Science&Emerging Technologies Volume 5, Issue2, s. 135-149
- Butz P., Fern A., Lindauer R., Dieterich S., Bogner A., Tauscher B., 2003. Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetables products. J. Food Eng 56:233-236
- Butz P., Habison G. and Ludwig, H., 1992. Influence of high pressure on a lipid-coated virus. In: High Pressure and Biotechnology. (Eds.: R. Hayashi, K. Heremans, P. Masso). Jhon Libby & Co. Ltd. London. s. 61-64.
- Cemeroğlu B., 2007. *Gıda Analizlerinde Genel Yöntemler*. Gıda Analizleri, Bizim Büro Basımevi, Ankara, s. 327-406.
- Çınar İ., 2012. "Sıcaklık ve Sürenin Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) Ekstraksiyonuna Etkisi ve Ekstraksiyon Kinetiğinin Modellenmesi", Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, Cilt: 7, No:2, s. 21-30.
- Clery-Barraud C., Gaubert A., Masson P., Vidal D., 2004. Combined Effects of High Hydrostatic Pressure and Temperature for Inactivation of *Bacillus anthracis* spores. Appl. Environ. Microb. 70 (1), 635–637.
- Clouston J.G., Wills P.A., 1970. Kinetics of Initiation of Germination of *Bacillus pumilus* Spores by Hydrostatic Pressure . J. Bacteriol. 103, 140–143.
- Crawford Y.J., Murano E.A., Olson D.G., Shenoy K., 1996. Use of High Hydrostatic Pressure and Irradiation to Eliminate *Clostridium sporogenes* Spores in Chicken Breast. J. Food Prot. 59, 711 –715.
- Crozier A., Jaganatg I.B., Clifford M.N., 2009. Dietary Phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. Natural Product Reports, 26-8.s.1001
- Çam B., 2015. Ultraviyole (Uv)-C Işın Teknolojisinin Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) Şerbetinin Mikrobiyal Ve Fizikokimyasal Kalite Özellikleri İle Depolama Stabilitesi Üzerine Etkileri
- Çubukçu, Meriçli, Mat, Sarıyar, Sütlüpnar, Meriçli., 2002. Fitoterapi, İstanbul

Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognazi A.B.D Yayınları, s. 76-77, İstanbul,  
Halkman, A.K., Sağdaş, Ö.E. 2010. Merck Mikrobiyoloji El Kitabı. Ankara:  
Arkadas Matbaacılık.

De Ancos B., Gonzalez E., Cano M.P., 2000. Effect of high pressure treatment on the  
carotenoid composition and the radical scavenging activity of persimmon fruit  
juices. J. Agric. Food Chem. 48: s. 3542-3548.

Dede S., Alpas H., Bayındırlı A., 2007. Effect of HHP on some quality parametres and  
shelf life of fruit and vegetables juices. J. Sci Food. Agric. 87: s. 773-782.

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

Donsi G., Ferrari G., Di Mattep M., 1996. High pressure stabilization of orange juice,  
evaluation of the effects of proces conditions. Ital. Journal Food Science., 2- s.99-  
106

Farkas D.F., Hoover D.G., 2000. HPP in Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative  
Food Processing Technologies. Journal Food Sicence, s. 47-64.

FDA, 2000. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing  
Technologies  
HPP.<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm100158.htm> (16.03.2016)

Fellows P.J., 2000. Food Processing Technology: Principles and Practice. Woodhead  
Publishing Limited and CRC Press LLC.

Fujii K., Ohtani A., Watanabe, J., Ohgoshi H., Fujii T., Honma K., 2002. High-Pressure  
Inactivation of *Bacillus cereus* Spores in the Presence of Argon. Int. J. Food  
Microbiol. 72 (3), 239–242.

Furukawa S., Noma S., Shimoda M., Hayakawa I., 2002. Effect of Initial Concentration of  
Bacterial Suspensions on Their Inactivation by High Hydrostatic Pressure. Int. J.  
Food Sci. Tech. 37 (5), 573–577.

Furukawa S., Shimoda M., Hayakawa I., 2003. Mechanism of the Inactivation of Bacterial  
Spores by Reciprocal Pressurization Treatment. J. Appl. Microbiol. 94 (5), 836–  
841.

- Gao Y.I., Ju X.R., Jiang H.H., 2006. Analysis of Reduction of *Geobacillus stearothermophilus* Spores Treated with High Hydrostatic Pressure and Mild Heat in Milk Buffer. *J. Biotechnol.* 125 (3), 351–360.
- Gao Y.L., Ju X.R., Jiang H.H., 2006. Studies on Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores by High Hydrostatic Pressure and Heat Using Design of Experiments. *J. Food Eng.* 77 (3), 672–679.
- Gervilla R., Capellas M., Ferragut V. and Guamis B., 1997. Effect of hydrostatic pressure on *Listeria innocua* 910 CECT inoculated into ewes milk. *J. Food Protect.* 60: s.33-37.
- Gould G.W., 1970. Germination and the Problem of Dormancy. *J. Appl. Bacteriol.* s.33
- Guerrero-Beltran J.A., Barbosa-Canovas G.V., Welti-Chanes J., 2011. "High hydrostatic pressure effect on natural microflora, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, and *Listeria Innocua* in navel orange juice". *International Journal of Food Engineering*, 7, 1556-3758.
- Haksel M., 2008. Meyan Kökü, *Eczacılar Odası Dergisi*, s. 25-29
- Halkman A.K., Sağdaş Ö.E., 2010. *Merck Mikrobiyoloji El Kitabı*. Ankara: Arkadas Matbaacılık.
- Hashizume S., Sekiguchi T., Nosoh Y., 1976. Effect of Temperature on the Viability of *Bacillus Stearothermophilus*. *Arch. Microbiol.* 107, s. 75-80
- Hayakawa I., Furukawa S., Midzunaga A., Horiuchi H., Nakashima T., Fujio Y., Yano Y., Ishikura T., Sasaki K., 1998. Mechanism of inactivation of heat-tolerant spores of *Bacillus stearothermophilus* IFO 12550 by rapid decompression. *J. Food Sci.* 63 (3), 371–374.
- Hayakawa I., Kanno T., Yoshiyama K., Fujio Y., 1994. Oscillatory Compared with Continuous High Pressure Sterilization on *Bacillus stearothermophilus* Spores. *J. Food Sci.* 59 (1), 164–167.
- Heinz V. and Knorr D., 1998. High pressure germination and inactivation kinetics of bacterial spores. In: *High pressure food science, bioscience and chemistry*. (Ed.: N.S. Isaacs). The Royal Soc. Chem. Cambridge, UK. 436-441.
- Hennell J.R., Lee S., Khoo C.S., Gray M.J., Bensoussan, A., 2008. "The determination of

- glycyrrhizic acid in *Glycyrrhiza uralensis* fisch. ex dc. (zhi gan cao) root and the dried aqueous extract by LC–DAD", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 47, 494–500.
- Hogan E., Kelly A.L., Sun D.W., 2005. High pressure processing of foods, *Emerging Technologies for Food,processing*. Elsevier Academic Press, CA, USA, s. 3-31
- Hugas M., Garriga M., Monfort J.M., 2002. New Mild Technologies in Meat Processing: High Pressure as a Model Technology, *Meat Science* 62: s.359-371
- İbanoğlu E., 2002. Gıdalarda Yüksek Hidrostatik Basınç, *Gıda*, 27-6: s.505-510
- Igual M., Sampedro F., Martinez – Navarrete N., Fan X., 2013. Combined osmodehydration and high pressure processing on the enzyme stability and antioxidant capacity of a grapefruit jam. *Journal of Food Engineer*. Volume 114, issue 4, s. 514-521.
- International Association for Cereal Chemistry. ICC-Standard No 144, Enumeration of Spores of Mesophilic Bacteria, Approved 1992, [https://www.icc.or.at/standard\\_methods/144](https://www.icc.or.at/standard_methods/144)
- Isaacs N. S., 1998. *High Pressure Food Science, Bioscience and Chemistry*, The Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 511 pp.
- Isbrucker R.A., Burdock G.A., 2006. "Risk and safety assessment on the consumption of licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 46, 167–192.
- ISO 11290-2: 1998, Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* — Part 2: Enumeration method (1998) International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Kalchayanand N., Dunne C.P., Sikes A., Ray B., 2003. Inactivation of *Bacterial* spores by Combined Action of Hydrostatic Pressure and Bacteriocins in Roast Beef. *J. Food Safety*, 23 (4), 219–231.
- Kalchayanand N., Dunne C.P., Sikes A., Ray B., 2004. Germination Induction and Inactivation of *Clostridium* Spores at Medium-range Hydrostatic Pressure Treatment. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 5 (3), 277–283.

- Karatzas K.A.G, Bennik M.H.J., 2002. Chracterization of *Listeria monocytogenes* scott is isolate with high tolerance towards high hydrostatic pressure. *Applied and Enviromental Microbiology*. 68-7. s.3183-3189
- Koutchma T., Guo B., Patazca E., Parisi B., 2005. High Pressure-High Temperature Sterilization: From Kinetic Analysis to Process Verification. *J. Food Process Eng.* 28 (6), 610–629.
- Landl A., Abadias M., Sarraga C., Vinas I., Picouet PA., 2010. Effect of HPP on quality of acidified Granny Smith apple puree product. *Innov Food Sci Emerg Technol* 11: s. 557-564
- Lauro F.M., Bertoloni G., Obraztsova A., Kato C., Tebo B.M., Bartlett D.H., 2004. Pressure Effects on *Clostridium* Strains Isolated from A Cold Deep-sea Environment. *Extremophiles*. 2004, 8 (2), 169–173.
- Lee S.Y., Chung H.J., Kang D.Y., 2006. Combined Treatment of High Pressure and Heat on Killing Spores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in Apple Juice Concentrate. *J. Food Prot.* 69 (5), 1056–1060.
- Lee S.Y., Dougherty R.H., Kang D.H., 2002. Inhibitory Effects of High Pressure and Heat on *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice. *Appl. Environ. Microb.* 68 (8), 4158–4161.
- Linton M., Mc Clements J.M.J., Patterson M.F., 2004. Changes in the Microbiological Quality of Vacuum Packaged, Minced Chicken Treated With HHP, *Innovative Food Sci. and Emer. Tech.* 5-s.151-159
- Linton M., McClements J.M., Patterson M.F., 1999. "Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in orange juice using a combination of high pressure and mild heat". *Journal of Food Protection*, 62, 277-279.
- Lopez T.J., Roig A.X., Capellas M., Trujillo A.J., Hernandez M., Guamis B., 2003. Evaluation of the Importance of Germinative Cycles for Destruction of *Bacillus cereus* Spores in Miniature Cheeses. *High Pressure Res.* 23 (1–2), 81–85.
- Lopez-Malo A., Palou E., Barbosa-Canovas G.V., Welti Chanes J., Swanson B.G., 1998. Poly phenol oxidase activity and color changes during storage od HHP treated avocado puree. *Food Res. Int.*, 31-8:s.549-556
- Lopez-Pedemonte T.J., Roig-Sagues A.X., Trujillo A.J., Capellas M., Guamis B., 2003.

- Inactivation of Spores of *Bacillus cereus* in Cheese by High Hydrostatic Pressure with the Addition of Nisin or Lysozyme. *J. Dairy Sci.* 86 (10), 3075–3081.
- Margosch D., Ehrmann M.A., Buckow R., Heinz V., Vogel R.F., Ganzle M.G., 2006. High- Pressure-mediated Survival of *Clostridium botulinum* and *Bacillus amyloliquefaciens* Endospores at High Temperature. *Appl. Environ. Microb.* 72 (5), 3476–3481.
- Margosch D., Ehrmann M.A., Ganzle M.G., Vogel R.F., 2004. Comparison of Pressure and Heat Resistance of *Clostridium botulinum* and other Endospores in Mashed Carrots. *J. Food Prot.* 67 (11), 2530–2537.
- Margosch D., Ganzle M.G., Ehrmann M.A., Vogel R.F., 2004. Pressure Inactivation of *Bacillus* Endospores. *Appl. Environ. Microb.* 70 (12), 7321–7328.
- McClements J.M.J.; Patterson M.F.; Linton M., 2001. The Effect of Growth Stage and Growth Temperature on High Hydrostatic Pressure Inactivation of Some Psychrotrophic Bacteria in Milk. *J. Food Prot.* 64 (4), 514–522.
- Mills G., Earnshaw R., Patterson M.F., 1998. Effects of High Hydrostatic Pressure on *Clostridium sporogenes* Spores. *Lett. Appl. Microbiol.* 26 (3), 227–230.
- Minerich P.L., Labuza T.P., 2003. Development of a pressure indicator for HPP of Foods, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4. S. 235-253.
- Murrell W.G., Wills P.A., 1977. Initiation of *Bacillus* Spore Germination by Hydrostatic Pressure: Effect of Temperature. *J. Bacteriol.* 129, 1272–1280.
- Nakayama A., Yano Y., Kobayashi S., Ishikawa M., Sakai K., 1996. Comparison of Pressure Resistances of spores of six *Bacillus* Strains with their heat resistances. *Appl. Environ. Microbiol.* 62-10.s. 3897-3900.
- Nakayama A., Yano Y., Kobayashi S., Ishikawa M., Sakai K., 1996. Comparison of Pressure Resistances of Spores of Six *Bacillus* Strains with their Heat Resistances. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (10), 3897–3900.
- Oh S., Moon M., 2003. Inactivation of *Bacillus cereus* Spores by High Hydrostatic Pressure at Different Temperatures. *J. Food Prot.* 66 (4), 599–603.
- Ohlsson T., Bengtsson N., 2002. *Minimal Processing Technologies In The Food Industry.* Woodhead publishing limited. S.41



- Paidhungat M., Setlow B., Daniels W.B., Hoover D., Papafragkou E., Peter S., 2002. Mechanisms of Induction of Germination of *Bacillus subtilis* Spores by High Pressure. *Appl. Environ. Micro.* 68 (6), 3172–3175.
- Patazca E., Koutchma T., Ramaswamy H.S., 2006. Inactivation Kinetics of *Geobacillus stearothermophilus* Spores in Water Using High-Pressure Processing at Elevated Temperatures. *J. Food Sci.* 71 (3), M110-M116.
- Patterson M.F., Kilpatrick D.J., 1998. The combined effect of HPP and heat on inactivation of pathogens in milk and poultry. *Journal Food Protect* 64. s. 432-436.
- Poretta S., Birzi A., Ghizzoni C., Vicini E., 1995. Effects of ultra HHP treatments on the quality of tomato juice. *Food Chem.*, 52-s.35-41
- Rajan S., Ahn J., Balasubramaniam V.M., Yousef A.E., 2006 Combined Pressure-Thermal Inactivation Kinetics of *Bacillus amyloliquefaciens* Spores in Egg Patty Mince. *J. Food Protect.* 69 (4), 853–860.
- Rajan S., Pandrangi S., Balasubramaniam V.M., Yousef A.E., 2006. Inactivation of *Bacillus stearothermophilus* Spores in Egg Patties by Pressure-Assisted Thermal Processing. *LWT-Food Sci. Technol.* 39 (8), 844–851.
- Ramaswamy H.S., Riahi E., Idziak E., 2003. "High-pressure destruction kinetics of *E. coli* (29055) in apple juice", *J Food Sci*, 68, 1750-1756.
- Rasanayagam V., Balasubramaniam V.M., Ting E., Sizer C.E., Anderson C., Bush C., 2003. Compression heating of selected fatty food substances during high pressure processing. *Journal of Food Science*, 68,1, 254–259.
- Raso J., Palop A., Pagan R., Condon S., 1998. Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores by Combining Ultrasonic Waves under Pressure and Mild Heat Treatment. *J. Appl. Microbiol.* 85 (5), 849–854.
- Rawson A., Patras A., Tiwari B. K., Noci F., Koutchma T., Brunton N., 2011. "Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances", *Food Research International*, 44, 1875-1887.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente, A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. 1999. "Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay", *Free Radical Biology & Medicine*, 26, s. 1231-1237.

- Reddy N.R., Solomon H.M., Fingerhut G.A., Rhodehamel E.J., Balasubramaniam V.M., Palaniappan S., 1999. Inactivation of *Clostridium botulinum* Type E Spores by High Pressure Processing. *J. Food Safety*. 19, 277–288.
- Reddy N.R., Solomon H.M., Tetzloff R.C., Rhodehamel E.J., 2003. Inactivation of *Clostridium botulinum* Type A Spores by High-Pressure Processing at Elevated Temperatures. *J. Food Prot.* 66 (8), 1402–1407.
- Reddy N.R., Tetzloff R.C., Solomon H.M., Larkin J.W., 2006. Inactivation of Clostridium Botulinum Nonproteolytic Type B Spores by High Pressure Processing at Moderate to Elevated High Temperatures. *Innov. Food Sci. Emerg.* 7 (3), 169–175.
- Rodriguez A.C., Larkin J.W., Dunn J., Patazca E., Reddy N.R., Alvarez-medina M., Tetzloff R., Fleischman G.J., 2004. Model of the Inactivation of Bacterial Spores by Moist Heat and High Pressure. *J. Food Sci.* 69 (8), E367–E373.
- Rodriguez Roque M.J., Ancos B., Concepcion S.M., Cano M.P., Pedro E.M., Belloso O.M., 2015. Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from juice based beverages. *Journal of Functional Foods*, Volume 14, s. 33-43.
- Ross A. I.V., Griffiths M.W., Mittal G.S. and Deeth H.C., 2003. Combining nonthermal Technologies to control foodborne microorganisms. *Int. Journal of Food Microbiology*. 89:125-138
- Russell N.J., 2002. Bacterial membranes: The effects of chill storage and food processing. *Journal Food Microbiology*. 79 s. 27-34
- Sabbioni C., Mandrioli R., Fernti A., Bugamelli F., Saracino M.A., Forti G.C., Fanali S., Raggi M.A., 2005. "Separation and analysis of glycyrrhizin, 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid and 18 $\alpha$ -glycyrrhetic acid in liquorice roots by means of capillary zone electrophoresis", *Journal of Chromatography A*, 1081, 65–71.
- Şanal İ.S. ve Çalıklı A., 2000. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulaması, *Gıda*, 25-3: s.193-201
- Scurrah K.J., Robertson R.E., Craven H.M., Pearce L.E., Szabo E.A., 2006. Inactivation of *Bacillus* Spores in Reconstituted Skim Milk by Combined High Pressure and Heat Treatment. *J. Appl. Microbiol.* 101 (1), 172–180.
- Şerbetçi H., 2007. "Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesinin

Belirlenmesi, (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi.

- Şerbetçi H., Gulcin İ., 2010. "Antioxidant and radical scavenging activity of aerial parts and roots of Turkish liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.)", *International Journal of Food Properties*, 13, 657–671.
- Singleton V.L., Rossi J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journ. of Enology and Vitic.*, 16: s. 144–158.
- Stewart C.M., Dunne C.P., Sikes A., Hoover D.G., 2000. Sensitivity of Spores of *Bacillus subtilis* and *Clostridium sporogenes* PA 3679 to Combinations of High Hydrostatic Pressure and Other Processing Parameters. *Innov. Food Sci. Emerg. I* (1), 49–56.
- Suzuki A., 2005. High pressure effects on protein structure and its application to food processing. *Food and Food Ingredients. Journal of Japan*, 210-1. s. 20-28.
- Timko S., From MicrobeWiki, The student-edited microbiology resource [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Geobacillus\\_stearothermophilus](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Geobacillus_stearothermophilus) (Son Erişim 29.04.2016).
- Tiwari B.K., Muthukumarappan K., O'Donnell C.P., Cullen P.J., 2008. Colour Degradation and quality Parameters of Sonicated Orange Juice Using Response Surface Methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 41: 1876–1883.
- Tornello C, 2011. Case studies on HPP of foods, in *Nonthermal Processing Technologies for Food*, Wiley, Hoboken, N. Jersey. c. 4
- Trujillo A.J., Capellas M., Saldo J., Gervilla R., Guamis B., 2002 Applications of HPP on milk and dairy products: *Innovative Food Science Emerging Technology*. 3. s. 295-307
- Tülek Y., Filizay G., 2006. Gıda Endüstrisinde Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamaları. *Journal of Engineering Science*. 12:3, s.369-377.
- Uygun S., 2015. Batılıların Gözdesi Meyan Kökü ve Üzerine Yaşanan Emperyalist Rekabet s. 342, 372-373
- Van Opstal, I., Bagamboula C.F., Vanmuysen S.C.M., Wuytack E.Y., Michiels C.W., 2004. Inactivation of *Bacillus cereus* Spores in Milk by Mild Pressure and Heat Treatments. *Int. J. Food Microbiol.* 92 (2), 227–234.

- Vercammen A., Vivijns B., Lurquin I., Michiels C.W., 2012. "Germination and inactivation of *Bacillus coagulans* and *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores by high hydrostatic pressure treatment in buffer and tomato sauce", *International Journal of Food Microbiology* 152, 162-167.
- Watanabe T., Furukawa S., Hirata J., Koyama T., Ogihara H., Yamasaki M., 2003. Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* Spores by High-Pressure Carbon Dioxide Treatment. *Appl Environ Microbiol.* 2003 Dec; 69(12): 7124–7129.
- Wilson, M.J., Baker R., 2001. High Temperature / Ultra High Pressure Sterilization of Foods. US Patent 6,207,215 B1.
- Witkowska A. M., Hickey D. K., Alonso-Gomez M., Wilkinson M. G., 2011. "The microbiological quality of commercial herb and spice preparations used in the formulation of a chicken supreme ready meal and microbial survival following a simulated industrial heating process", *Food Control*, 22, 616-625.
- Wuytack E. Y., Michiels C.W., 2001. A Study on the Effects of High Pressure and Heat on *Bacillus subtilis* Spores at Low pH. *Int. J. Food Microbiol.* 64, 333–341.
- Wuytack E.Y., Boven S., Michiels C.W., 1998. Comparative Study of Pressure-Induced Germination of *Bacillus subtilis* Spores at Low and High Pressures. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3220–3224.
- Wuytack E.Y., Soons J., Poschet F., Michiels C.W., 2000. Comparative Study of Pressure- and Nutrient-Induced Germination of *Bacillus subtilis* Spores. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 257–261.
- Yen G.C., Lim H.T., 1996, Comparison of HPP treatment and thermal pasteurization effects on the quality and shelf life of guava puree. *Int. Journal Food Science Technology*, 31.s.205-213.
- Zhang H., Mittal G.S., 2008. Effects of HPP on Bacterial Spores; An Overview *Food Reviews International* 24:3,s 330-351.
- Zhang, Q., Ye M., 2009. "Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (Licorice)", *Journal of Chromatography A*, 1216, 1954–1969.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Semih Yaşar GENİŞ

Doğum Yeri : Erdemli

Doğum Tarihi : 28.02.1992

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Eğitimi :Çanakkale OnSekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 2014

Lisans Eğitimi : İstanbul Üniversitesi İktisat Fakültesi, İktisatBölümü, Devam ediyor

Yabancı Dil : İngilizce

### DENEYİM

#### STAJ

Anadolu Etap Tarım ve Gıda Ürünleri Sanayi ve Ticaret A.Ş.

1 Ay

#### STAJ

Mersin Gıda Kontrol Laboratuvar Birimleri

1 Ay

### İLETİŞİM

E-posta Adresi :syg2006@hotmail.com