


**ATIMLI ELEKTRİK AKIMI (PEF) TEKNOLOJİSİNİN KIRMIZI  
ŞARAPLARIN KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**ELİF ECE UYSAL**

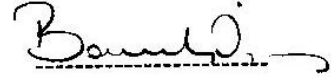
**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALINDA  
YÜKSEK LİSANS  
DERECESİ İÇİN GEREKLİ ÇALIŞMALARI YERİNE GETİREREK  
ONAYA SUNULAN TEZ**

**ŞUBAT 2010**

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı

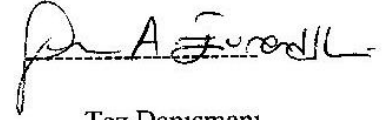
  
Prof. Dr. Nihat ÇELEBİ  
Enstitü Müdürü

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



Bölüm Başkanı

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

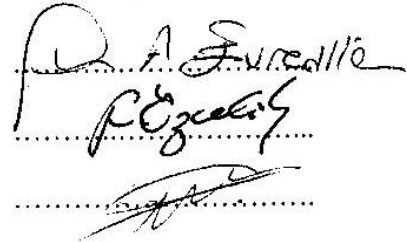


Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

İmza

1. Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek
2. Prof. Dr. Filiz Özçelik
3. Yrd. Doç. Dr. Seda Karasu Yalçın



**ABSTRACT****EFFECTS OF PULSED ELECTRIC FIELDS ON QUALITY  
CHARACTERISTICS OF RED WINE**

Uysal, Elif Ece  
MSc., Department of Food Engineering  
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek

February 2010, 126 pages

Processing of red wine by pulsed electric fields for ending fermentation and/or pasteurization by pulsed electric fields (PEF) with determination of physical, chemical and sensory properties of wine as well as inactivation of inoculated *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus bulgaricus*, *Candida lipolytica* (*Yarrowia lipolytica*), *Saccharomyces cerevisiae* and *Hansenula anomala* were aimed in the thesis.

Red wine samples were processed as a function of electric field strength and treatment temperature in first group of experiments and electric field strength and treatment time in second group of experiments. Except for total antioxidant capacity and total monomeric anthocyanin content with increased electric field strength and temperature no significant change were detected for pH, titrable acidity (%TA), °Brix, conductivity, colour (L\*, a\* and b\*), total phenolic substances, and metal ion concentration measurement and sensory analysis ( $p \leq 0.05$ ). However, inactivation of inoculated microorganisms increased with increased electric field and treatment temperature or increased electric field and treatment time ( $p \leq 0.05$ ).

As a result, it can be concluded that PEF treatment can be used to process red wine without any adverse effect on physical, chemical and sensory properties and with significant reduction on the undesirable yeasts, spoilage and pathogen bacteria. These results revealed that microbial stability of red wine can be ensured with PEF treatment.

**Key words:** Pulsed electric fields (PEF), red wine, sulphur dioxide (SO<sub>2</sub>), microbial inactivation.

## ÖZET

### ATIMLI ELEKTRİK AKIMI (PEF) TEKNOLOJİSİNİN KIRMIZI ŞARAPLARIN KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Uysal, Elif Ece  
Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü  
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek

Şubat 2010, 126 sayfa

Bu tezde kırmızı şarapta fermantasyonun sonlandırılması ve/veya şarabın pastörizasyonu amacıyla atımlı elektrik akımı (pulsed electric fields, PEF) teknolojisinin kırmızı şarabın fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi ve şaraba inoküle edilmiş olan mikroorganizmaların inaktivasyonu amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında kırmızı şaraplar iki ayrı grupta proses edilmiştir. Birinci grup uygulamalarda elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığı, ikinci grup uygulamalarda ise elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi değişken parametreler olarak ele alınmıştır. Proses öncesi (kontrol örnekleri) ve sonrası toplanan örneklerde pH, titrasyon asitliği (%TA), °Briks, kondaktivite, renk ölçümü ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ), toplam fenolik madde, toplam antioksidan kapasite, toplam monomerik antosiyanin, mineral madde tayini ve duyuşal analiz yapılmış ve artan elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığı parametrelerinde toplam antioksidan kapasitesi ve toplam monomerik antosiyanin miktarı hariç ( $p \leq 0.05$ ) diğer fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerde önemli bir değişime yol açmamıştır ( $p > 0.05$ ). Aynı proses parametrelerinde inoküle edilen *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus bulgaricus*,

*Candida lipolytica* (*Yarrowia lipolytica*), *Saccharomyces cerevisiae* ve *Hansenula anomala* kültürlerinde önemli miktarda inaktivasyona neden olmuştur ( $p \leq 0.05$ ).

Sonuç olarak kırmızı şarapta PEF uygulamasıyla şarabın fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerinde değişime neden olmadan istenmeyen mayalar ve bozulmaya neden olabilecek mikroorganizmalar ile patojen mikroorganizmaların inaktive edilebileceği görölmüştür. Bu sonuçlar kırmızı şarapta PEF uygulamasıyla mikrobiyal stabilitenin sağlanabileceğini göstermesi açısından umut vericidir.

**Anahtar kelimeler:** Atımlı elektrik akımı (PEF), kırmızı şarap, kükürt dioksit (SO<sub>2</sub>), mikrobiyal inaktivasyon.

Aileme

## TEŞEKKÜR

Araştırma konumun seçiminde yardımcı olan ve çalışmalarım boyunca benden bilgi ve sonsuz yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Doç. Dr. Gülsün AKDEMİR EVRENDİLEK'e en derin teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım. Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Filiz ÖZÇELİK'e mikrobiyal kültürlerinin temin edilmesinde ve tez jürimde yer alarak değerli görüş ve katkıları ile tezime olan desteklerinden dolayı; Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünden Yrd. Doç. Dr. Seda KARASU YALÇIN'a tez jürimde yer alarak değerli görüş ve katkıları ile tezime olan desteklerinden dolayı; Konya İl Kontrol Laboratuvar Müdürü Dr. M. Kürşat IŞIK'a tez çalışmam boyunca sağladığı imkanlar ve kolaylıklardan dolayı; deneylerim sırasında yardımlarını esirgemeyen Konya İl Kontrol Laboratuvarı'nda mineral laboratuvarı şefi Veteriner Hekim Sümeyye KARAKUŞ ve şef yardımcısı Gıda Yüksek Mühendisi Tuğba GEZGİN'e, maddi manevi desteğini hiç esirgemeyen, koşulsuz beni destekleyen ve sevgilerini eksik etmeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca tezimin gerçekleşmesinde maddi destek sağlayan Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı'na ve şarap örneklerinin sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Koray AYBEK'e (Dimes Gıda Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi, Tokat) teşekkürlerimi sunuyorum.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ABSTRACT.....	iii
ÖZET.....	v
İTHAF.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	ix
TABLOLAR DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Şarap Muhafazasında Kükürt Dioksit Kullanımı.....	6
1.2. Atımlı Elektrik Akımı.....	11
1.2.1. Atımlı Elektrik Akımı Ekipmanları.....	13
1.2.1.1. Elektrik Akım Jeneratörü.....	14
1.2.1.2. Yüksek Akım İşlem Odacıkları .....	15
1.2.1.2.1. Statik Odalar.....	15
1.2.1.2.2. Sürekli Akış Sağlayan Odalar.....	16
1.2.1.3. Sıvı Gıdanın PEF Sisteminde Taşınımını Sağlayan Sıvı Taşıma Sistemi.....	16
1.2.1.4. Sıcaklık ve Atım Görüntüleme Sistemleri.....	17
1.2.2. PEF Proses Parametreleri.....	18

1.2.3. PEF prosesinin mikrobiyal inaktivasyon mekanizmaları.....	20
1.2.4. Mikroorganizmaların inaktivasyonu.....	24
1.2.4.1. PEF Prosesine Bağlı Faktörler.....	25
1.2.4.1.1. Elektrik Alanın Büyüklüğü.....	25
1.2.4.1.2. Uygulama Süresi.....	25
1.2.4.1.3. Uygulanan Dalga Modeli.....	26
1.2.4.1.4. Atım Genişliği.....	27
1.2.4.1.5. Uygulama Sıcaklığı.....	27
1.2.4.2. Gıdaya Bağlı Faktörler.....	29
1.2.4.2.1. Gıdanın Viskozitesi.....	29
1.2.4.2.2. Gıdanın Elektrik İletkenliği (Kondaktivitesi) ve İyonik Direnci.....	30
1.2.4.2.3. Gıdanın Asitliği.....	30
1.2.4.2.4. Gıdanın Su Aktivitesi.....	31
1.2.4.2.5. Gıdada Antimikrobiyal Madde Varlığı.....	31
1.2.4.3. Mikroorganizmaya Bağlı Faktörler.....	32
1.2.4.3.1. Mikroorganizmanın Türü.....	32
1.2.4.3.2. Mikroorganizmanın Büyüklüğü ve Morfolojisi.....	33
1.2.4.3.3. Mikroorganizmanın Büyüme Fazı.....	33

1.2.4.3.4. Mikroorganizma Yoğunluğu.....	34
2.KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	35
3.MATERYAL ve METOT.....	51
3.1. Materyal.....	51
3.1.1. Kırmızı Şarap.....	51
3.1.2. Mikroorganizmalar.....	51
3.1.3. Atılımlı Elektrik Akım (PEF) Jeneratörü.....	51
3.2. Metot.....	54
3.2.1. Mikroorganizmaların hazırlanması.....	54
3.2.2. Kırmızı şaraba atılımlı elektrik akımı uygulanması.....	54
3.2.3.Fiziksel ve kimyasal analizler.....	55
3.2.3.1. Asitlik.....	55
3.2.3.2. Titrasyon Asitliği.....	55
3.2.3.3. °Briks.....	56
3.2.3.4. Kondaktivite Ölçümü.....	56
3.2.3.5. Renk Ölçümü.....	56
3.2.3.6. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini.....	56
3.2.3.7. Toplam Antioksidan Kapasitesi Tayini.....	57
3.2.3.8. Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarı Tayini.....	57
3.2.3.9. Mineral Madde Tayini.....	58
3.2.4. Mikrobiyolojik analizler.....	59
3.2.5. Duyusal analizler.....	59
3.2.6. Verilerin Analizi.....	60

4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	61
4.1. Kırmızı Şarapta Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler.....	61
4.1.1. Atılımlı elektrik akımı (PEF) uygulamasında elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının kırmızı şarabın fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisi.....	61
4.1.2. Atılımlı elektrik akımı (PEF) uygulamasında elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin kırmızı şarabın fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisi.....	79
4.1.3. Atılımlı Elektrik Akımı (PEF) uygulamasında elektrik alan şiddetinin kırmızı şarabın duyuşsal özellikleri üzerine etkisi.....	97
5. TARTIŞMA ve ÖNERİLER.....	99
KAYNAKLAR.....	109

**TABLULAR DİZİNİ**

Tablo 4.1. Elektrik alan şiddeti ve sıcaklığın değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta mineral madde ölçümü.....	72
Tablo 4.2. Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta mineral madde ölçümü.....	90

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Laboratuvar ölçekli OSU-4A PEF sistemi şematik diyagramı.....	14
Şekil 1.2. Eş zamanlı akış sağlayan sürekli uygulama odacıkları.....	17
Şekil 1.3. Hücre zarının elektrik akımı altında göstermiş olduğu yapısal değişiklik.....	22
Şekil 1.4. Hücre zarı elektroporasyonu.....	24
Şekil 3.1. Deneylede kullanılan laboratuvar ölçekli PEF sistemi.....	53
Şekil 3.2. İki kutuplu kare şeklinde uygulanan elektrik akım dalgası.....	53
Şekil 4.1. Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta pH ölçümü.....	62
Şekil 4.2. Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta °Briks ölçümü.....	63
Şekil 4.3. Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta kondaktivite ölçümü.....	64
Şekil 4.4: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta % titrasyon asitliği ölçümü.....	65

Şekil 4.5: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde L* değerinin belirlenmesi.....	66
Şekil 4.6: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde a* değerinin belirlenmesi.....	66
Şekil 4.7: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde b* değerinin belirlenmesi.....	67
Şekil 4.8: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta toplam fenolik madde miktarı ölçümü.....	68
Şekil 4.9: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta (%) toplam antioksidan kapasite ölçümü.....	69
Şekil 4.10: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta toplam monomerik antosiyanin miktarı ölçümü.....	70
Şekil 4.11: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta <i>E.coli</i> O157:H7'nin inaktivasyonu.....	75

- Şekil 4.12: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta *C.lipolytica*'nın inaktivasyonu..... 76
- Şekil 4.13: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta *S.cerevisiae*'nin inaktivasyonu..... 77
- Şekil 4.14: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta *H.anomala*'nın inaktivasyonu..... 78
- Şekil 4.15: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta *L.bulgaricus*'un inaktivasyonu..... 79
- Şekil 4.16. Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta pH ölçümü..... 82
- Şekil 4.17. Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta °Briks ölçümü..... 82
- Şekil 4.18. Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta kondaktivite ölçümü..... 83

Şekil 4.19: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta % titrasyon asitliği ölçümü.....	83
Şekil 4.20: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde L* değerinin belirlenmesi.....	84
Şekil 4.21: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde a* değerinin belirlenmesi.....	84
Şekil 4.22: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde b* değerinin belirlenmesi.....	85
Şekil 4.23: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta toplam fenolik madde miktarının ölçümü.....	86
Şekil 4.24: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta toplam antioksidant kapasitenin ölçümü.....	87
Şekil 4.25: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta toplam monomerik antosiyanin miktarının ölçümü.....	88

Şekil 4.26: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta <i>E.coli</i> O157:H7'nin inaktivasyonu.....	93
Şekil 4.27: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta <i>C.lipolytica</i> 'nın inaktivasyonu.....	94
Şekil 4.28: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta <i>S.cerevisiae</i> 'nin inaktivasyonu.....	95
Şekil 4.29: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta <i>H.anomala</i> 'nın inaktivasyonu.....	96
Şekil 4.30: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta <i>L.bulgaricus</i> 'un inaktivasyonu.....	97
Şekil 4.31: Elektrik alan şiddetinin değişken parametre olduğu atılımlı elektrik akımı ile proses edilen kırmızı şarapta yapılan duyusal değerlendirmenin sonucu.....	98

## 1. GİRİŞ

Şarap bilinen en eski fermente alkollü içkidir. *Vitis vinifera* genotipindeki üzümlerin ezilip preslenmesiyle elde edilen taze üzüm suyunun (şıranın) maya ile alkol fermantasyonuna bırakılması ve olgunlaştırılması ile üretilir. Genel olarak üzümünden üretilmekle beraber elma ve portakal gibi, çeşitli meyvelerden de şarap üretilebilmektedir. Şarabın kalitesi kullanılan üzüme, fermantasyon tekniklerine ve olgunlaştırma şekline bağlı olarak değişmektedir. Üzümün kalitesini ise kullanılan çeşit, yetiştirildiği iklim ve yetiştirme koşulları yani sıcaklık, gübreleme ve kullanılan gübrenin tipi belirler. Örneğin havanın serin olması üzümlerin olgunlaşmasını olumsuz yönde etkileyerek şeker miktarının düşük, asit miktarının ise yüksek olmasına yol açar (Tunçel 1999; Iocco ve ark., 2001).

Kırmızı şaraplar, siyah üzümlerin kabuklu olarak fermantasyona bırakılmasıyla üretilir. Kabuktan istenen miktarda renk ekstrakte edilinceye kadar cibre fermantasyonu devam ettirilir. İlk aşamalarda maya üremesini hızlandırmak için havalandırma gereklidir. Daha sonra şıra kapalı tanklara alınır ve alkol fermantasyonu için anaerobik koşullar yaratılır. Ortaya çıkan CO<sub>2</sub> *Acetobacter* gibi aerobik mikroorganizmaları inhibe eder. Aktif fermantasyon kırmızı şaraplar için cibre fermantasyonundan sonra 24-27°C'de 3-5 gün, beyaz şaraplar için 10-21°C'de 7-14 gün sürer. Daha yüksek sıcaklıklar şarap mayasını inhibe ederek laktik ve asetik asit bakterileri gibi bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişmesine yol açar. Çok düşük sıcaklıklar ise şarap mayasının aktivitesini yavaşlatarak yabani mayalar, laktik asit bakterileri ve diğer mikroorganizmaların gelişmesine neden olur. Fermantasyon sırasında açığa çıkan ısı, sıcaklığı yükselteceğinden şıranın özel olarak soğutulması gerekli olabilir. Mayanın

çoğalma hızını ve alkol fermantasyonunun hızını kontrol etmek için CO<sub>2</sub>'in sistemden kaçmasını önleyen basınçlı tanklar kullanılabilir. Yaklaşık olarak 7 atmosfer basınçta maya üremesi durur, alkol fermantasyonu ise 30 atmosfer basıncı ile durdurulur. Aktif fermantasyondan sonra fermente olan genç şarap süzülüp, düşük CO<sub>2</sub> basıncı altında 2. fermantasyon için depo tankına aktarılır. Burada 21-29°C de 7-11 gün tutularak, sek şarap isteniyorsa kalan şeker fermente edilir. Şarap tankın dibindeki tortudan ayrılır ve soğutulur, birkaç gün bekletilir ve filtre edilerek olgunlaştırma amacıyla tahta veya plastik kaplanmış beton tanklara alınır. Tanklar tamamen doldurulur ve hava girmeyecek şekilde kapatılır. Olgunlaştırma süresi şarap tipine göre değişkenlik gösterip, aylarca veya yıllarca sürebilir. Olgunlaştırma sırasında esterler gibi çeşitli bileşikler oluşur ve şarap aroması gelişir. Genellikle istenen lezzeti sağlamak amacıyla olgunlaştırma sırasında veya sonrasında iki veya daha fazla şarap karıştırılarak paçal yapılır. Olgunlaştırmadan sonra şarap durultulur ve filtre edilerek fiçılarda veya şişelerde depolanır. Şişelenmiş şaraplar bazen 60 °C'de 30 dakika tutularak pastörize edilebilir (Tunçel 1999).

Şarap üretiminde şıra fiçılara konulduktan sonra fermantasyon kendiliğinden gerçekleşebilmektedir. Şıranın kendiliğinden Fermantasyonu sırasında ortamda *Candida*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Brettanomyces*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces* ve *Hansenula* gibi yabancı mayalar; üzümün ve kullanılan ekipmanın kontaminasyonu sonucunda *Kloeckera* ve *Hansenula* cinsine ait mayalar bulunabilir (Usseglio-Tomasset ve Ciolfi 1981; Romano ve Suzzi 1993; Gil ve ark., 1996; Zambonelli ve ark., 1989). Başlangıçta bu koşullarda şarap yapımı için uygun özelliklere sahip birkaç maya vardır. *Saccharomyces* cinsine bağlı bu mayalar daha sonra fermantasyonun sonlandırılmasında görev alırlar (Martini ve ark., 1980; Rosini

1982). Maya florası ister doğal olsun, isterse saf kültür kullanılsın, fermantasyonu gerçekleştirecek yeterli maya populasyonunun ortamda bulunması gerekir. Şarap yapımında kullanılan “saf maya kültürü” terimi, maya kültürünün ilavesinden önce üzüm şırası steril olmadığı için tam olarak doğru değildir (Tunçel 1999).

Şaraplarda çeşitli mayalar ve bakteriler tarafından bozulmalar meydana gelmektedir. Şarapta *Hanseniaspora uvarum* mayasının bazı suşları tarafından ester üretimine bağlı olarak bozulma meydana gelebilmektedir. Bu suşların bazıları *S. cerevisiae*'nin gelişimini geciktirme etkisine sahip öldürücü toksinler üretebilmektedir (Sponholz ve ark., 1990). Şıralarda ve şarapların yüzeyinde mayalar tarafından meydana getirilen bir diğer bozulma çeşidi ise genellikle *Candida*, *Metschnikowia*, *Pichia* ve *Hansenula* cinsleri tarafından film oluşumuna bağlı olarak meydana gelmektedir. *Pichia membranaefaciens* ve *Pichia anomala* türleri film oluşturan mayalara örnek olarak verilebilir (Benda 1962). *Zygosaccharomyces bailii* üzümlerde, şarap mahzenlerinde yaygın olarak bulunurken (Peynaud ve Domerg 1959); şarabı tatlandırmada kullanılan üzüm suyu konsantrelerinde ana kontaminant olarak bulunmaktadır (Kroemer ve Krumbholz 1931; Krumbholz 1931; Sachetti 1932; Somavilla ve ark., 1975; Minarik 1983). Temas yüzeylerinde etkili temizlik dezenfeksiyon uygulamaları şaraplarda *Dekkera/Brettanomyces* gelişimini sınırlayabilmektedir. Düşük pH değerleri ( $\leq 3.5$ ), uygun dozda kükürt dioksit kullanımı (0.8 ppm moleküler form) ve düşük yıllandırma sıcaklıkları (10-15°C) şaraplarda *Dekkera/Brettanomyces* aktivitesini sınırlamada kullanılabilen uygulamalardır. SO<sub>2</sub> gibi kimyasal koruyucuların tedbirli kullanımı da şarap yapım prosesinde mikrobiyal bozulma riskini azaltmaktadır, fakat suşların SO<sub>2</sub> hassasiyeti değişmektedir (Du Toit ve Pretorius 2000).

Mayalar dışında laktik asit ve asetik asit bakterileri de şaraplarda bozulmaya neden olan bakterilerdir. Asetik asit bakterileri de üzüm şıralarında, fermantasyon sırasında ve depolanan şarapta potansiyel bozulma etmenidir. Genellikle *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* veya *Gluconobacter oxydans* türleri tarafından asetikasyon olarak adlandırılan bozulma meydana gelir. Bazı asetik asit bakterileri şekerlerden keto asitler oluşturur. Bu maddeler SO<sub>2</sub>'yi bağlayarak antimikrobiyal etkisini azaltır veya ortadan kaldırır (Tunçel 1999). Laktik asit bakterileri malolaktik fermantasyonda anahtar rol oynasalar da şarabın kalitesinde çeşitli kusurlara neden olurlar. Örneğin, heterofermentatif suşlardan *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides* bozulma indikatörü olarak değerlendirilen D-laktik asidi üreterek şarabın asitliğinin artmasına (Wibowo ve ark., 1985); *L. brevis* mannitol üreterek mannitol bozulmasının meydana gelmesine (Wood 1961; Martinez ve ark., 1963); *Streptococcus mucilaginosus* var. *vini* (Hochstrasser 1955), *Pediococcus cerevisiae* (Mayer 1974) ve *Leuconostoc* türleri rope oluşturulmasına neden olmaktadır. Ayrıca malolaktik fermantasyon sonrasında *Pediococcus* ve *Lactobacillus* türlerinin gelişimiyle diasetilin konsantrasyonunun artması; *Lactobacillus hilgardii*, *L. brevis* ve *L. cellobiosus* ve diğer bazı heterofermentatif laktik asit bakterilerinin asetil tetra hidropiridin üretimine bağlı olarak fare idrarına benzer bir koku oluşturması (Tucknott ve Davis 1976; Heresztyn 1986), *L. mesenteroides*'in gliserolden akrolein oluşturup şarapta acılığa neden olması (Hirano ve ark., 1962), *Lactobacillus plantarum*'un 4 adet suşunun ve 1 adet *L. brevis* suşunun şarapta tartarik asidi metabolize etmesi (Radler ve Yannissis 1972), *Leuconostoc oenos*'un bütün suşlarının ve *Lactobacillus*'un bazı heterofermentatif suşlarının sorbik asidi sorbinole indirgeyerek sardunya çiçeği kokusu oluşumuna neden olması gibi (Radler 1976) çeşitli bozulmalar görülmektedir.

Şarapta mikrobiyal bozulmayı önlemek için, dolumdan önce veya sonra kalan mikroorganizmaların aktivitesinin durdurulması çok önemlidir (Tunçel 1999). Şarap imalathanesindeki koşullar ürünlerin tam sterilitesinin sağlanmasını zorlaştırır. Mikrobiyal stabilizasyonu sağlamak için çeşitli yollara başvurulabilir. Bunlar;

*1) Besinsel ve çevresel abiyotik koşulların sağlanması:* Abiyotik koşullar mikrobiyal gelişim için esansiyel olan bir veya daha fazla besin maddesinin (karbonhidrat, azot kaynakları) elimine edilmesiyle veya şaraptaki mikrobiyal gelişim için zararlı olan çevresel faktörlerin (pH, alkol konsantrasyonu, sıcaklık ve aerobiklik) modifiye edilmesiyle sağlanabilir (Delfini ve Formica 2001).

*2) Mikroorganizmaların inaktivasyonu:* Isı (pastörizasyon, sıcak dolum), yüksek enerji iyonlaştırıcı radyasyon (Lacroix ve Van Sınay 1992), yüksek hidrostatik basınç uygulamalarıyla ve yasal olarak kullanımına izin verilen antiseptiklerin (SO<sub>2</sub>, sorbik asit, dimetildikarbonat ve fumarik asit) kullanımıyla mikroorganizmaların inaktivasyonu sağlanabilmektedir. Pastörizasyon ve sıcak dolum her şarap için uygun değildir. Isı şarapta yıllanmayla ilişkili istenmeyen reaksiyonların hızlanmasına neden olabilmektedir (Tunçel 1999; Delfini ve Formica 2001).

*3) Mikroorganizmaların fiziksel olarak uzaklaştırılması:* Şırada veya şarapta hücrelerin uzaklaştırılması (dekantasyon, santrifüj ve filtrasyon işlemleri) şıranın veya şarabın sıcaklıkla veya antiseptik uygulamayla mikrobiyolojik stabilizasyonunda esansiyel ön uygulamalardır (Delfini ve Formica 2001).

### 1.1. Şarap Muhafazasında Kükürt Dioksit Kullanımı

Kükürt dioksit ( $\text{SO}_2$ ) şarap yapımında yüzyıllardır kullanılan bir bileşendir. Yanan kükürt dumanları ilk kez Mısırlılar tarafından kullanılmıştır. Daha sonra testileri, şarap fiçilerini temizlemek için kullanılmıştır. Bunu izleyen yüzyıllarda kükürt dioksit (E 220) çok yaygın kullanılan bir koruyucu haline gelmiştir. Yanan kükürt yerine sülfid veya bisülfid kullanılmıştır. Bu bileşen istenmeyen bakteri ve mayaların gelişimini önleyerek Fermantasyon prosesinin gelişmesini sağlamaktadır. Şıra ve şaraplara ilave edilmesi Orta Çağda yaygınlaşmış olup; kötü ve aşırı kullanımı reddedilmiştir.  $\text{SO}_2$ 'in içeceklerde ilk modern kullanımı 15.yy'da kaydedilmiştir. Günümüzde,  $\text{SO}_2$  birçok gıda maddesini korumak için kullanılmakta olup; şarap yapımında kullanımı oldukça yaygındır. Şarap üreticilerinin çoğu kükürtdioksit gazını suda çözerek veya potasyum metabisülfid şeklinde kullanmaktadır (Romano ve Suzzi 1993; Acar ve Cemeroglu 1998; Tunçel 1999; Garde-Cerdán ve ark., 2008).

Şarap yapımında,  $\text{SO}_2$  kullanılması iyi kalitede ürün elde etmek için biyokimyasal ve kimyasal özelliklerin stabilizasyonunu, mikroorganizmaların kontrolünü ve duyuşal özelliklerin korunmasını sağlamaktadır. Ayrıca  $\text{SO}_2$  şarabın üretim, taşıma ve pazarlama sırasında duyuşal özelliklerinin korunmasını sağlar. Bu fonksiyonun etkinliği mevcut olan moleküler  $\text{SO}_2$  konsantrasyonuna ve şarabın pH'sının (Ough ve Crowell 1987) ve sıcaklığının (Ough 1985) dikkatli bir şekilde kontrolüne bağlıdır (Romano ve Suzzi 1993).

Şarap yapımında çeşitli basamaklarda  $\text{SO}_2$  eklenir. Fakat genellikle alkol fermantasyonu öncesinde şıraya veya daha sonraki basamaklarda mahzende ambalajlama sırasında şaraba ilave edilmektedir (Romano ve Suzzi 1993). Ancak  $\text{SO}_2$

mayaların asetaldehit üretimine uyarıcı etki yaptığı için (Rose ve Pilkington 1989), SO<sub>2</sub>'nin fermantasyon tamamlanana kadar ilave edilmemesinin daha iyi olacağı öne sürülmüştür (Usseglio-Tomasset 1986).

SO<sub>2</sub> şıraya ve şaraba üretim sırasında istenmeyen mayaları ve bozulmaya neden olan bakteri türlerini kontrol etmek amacıyla da ilave edilmektedir. Bu bileşen mikroorganizmalar üzerine hücredeki bazı enzimlerin, özellikle oksidasyon enzimlerinin inaktive edilmesi ve ortamın pH değerinin düşmesine neden olarak etki etmektedir. Kullanılan SO<sub>2</sub> konsantrasyonuna çok önem verilmelidir. Çünkü istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi inhibe edilirken; istenen fermantasyon mayalarının ve malolaktik bakterilerin inhibe edilmemesi gerekmektedir. Genel olarak SO<sub>2</sub> bakteriler üzerine maya ve küflerden daha etkilidir. Bazı mayalar kükürt bileşiklerine karşı zamanla direnç kazanmaktadırlar. Bu şekilde kükürde dayanıklılık kazanmış mayalara sülfidit mayaları denir ve bu mayalar şarap üretiminde kullanılır. Nitekim şıra kükürtlendikten sonra sülfidit mayası aşılınca, diğer mikroorganizmaların üremesi engellendiği halde, sadece mayalar çalışarak alkol oluşturmaktadır (Chichester ve Taner 1972; Acar ve Cemeroğlu 1986).

SO<sub>2</sub>'nin şarapta antioksidan veya antimikrobiyal ajan olarak etkinliği çözeltideki moleküler SO<sub>2</sub>'nin miktarına bağlıdır (Ingram 1948; Joslyn ve Braverman 1954). Fermantasyon sırasında üzüm suyunda toplam SO<sub>2</sub> konsantrasyonu hem bağlı hem de serbest formları içerir. Ancak, çoğunluğu bağlıdır ve antimikrobiyal özelliği düşüktür. Serbest moleküler SO<sub>2</sub> antimikrobiyal aktivite gösterir ve bu aktif formun konsantrasyonu pH'dan ve bisülfidit anyonunu bağlayan maddelerden etkilenir. Gerçekte kullanılan miktardan çok, kalıntı SO<sub>2</sub> miktarı daha önemlidir. Çünkü ilave edilmiş SO<sub>2</sub> zamanla uzaklaşarak, geride belli miktarda bir kalıntı bırakır. Özellikle SO<sub>2</sub> ilave edilen

bir gıda ürünü ısıtıldığında SO<sub>2</sub> süratle uzaklaşır ve geride ya hiç SO<sub>2</sub> kalmaz ya da sadece çok düşük düzeyde kalır. Ayrıca şıralarda SO<sub>2</sub> glukoz, ksiloz ve arabinoz (fruktoz etkisizdir) gibi şekerlerle ve galakturonik asit, L-askorbik asit ve antosiyaninlerle reaksiyona girer. Şıraya ilave edilen toplam SO<sub>2</sub>'nin %50-70 kadarı şeker bileşenleri tarafından bağlanabilir. Yaralanmış üzümlerden ekstrakte edilen şıraların küfler (*Botrytis cinerea*) ve asetik asit bakterileri tarafından üretilen maddelere bağlı olarak SO<sub>2</sub>'yi yüksek derecede bağlama özelliği bulunabilmektedir. Alkol fermantasyonu sırasında, mayalar asetaldehit, pürivik asit ve 2-ketoglutarik asit üreterek şıranın SO<sub>2</sub> bağlama gücünü artırır. Bu nedenlerden dolayı istenen antimikrobiyal etkiyi sağlamak ve istenen moleküler SO<sub>2</sub> konsantrasyonunu elde etmek için yeterli miktarda toplam SO<sub>2</sub> kullanılması gerekmektedir. Şıranın veya şarabın kompozisyonuna bağlı olarak ilave edilmesi gereken 0.5-1 mg/L moleküler SO<sub>2</sub> üreten toplam SO<sub>2</sub> genellikle 100-200 mg/L'dir (Kielhöfer 1963; Fornachon 1965; Bloulin 1966; Rankine ve Pocock 1969; Burroughs 1975; Hammond ve Carr 1976; King ve ark., 1981; Romano ve Suzzi 1993; Acar ve Cemeroğlu 1998; Lustrato ve ark., 2003).

SO<sub>2</sub>'nin olumlu etkilerinin yanı sıra çeşitli riskleri de vardır (Lustrato ve ark., 2003). Yapılan bir çalışmada SO<sub>2</sub>'nin oral yolla alınmasında sıçanlar için LD<sub>50</sub>'nin 1-2 mg/kg vücut ağırlığı düzeyinde olduğu saptanmıştır. Ancak insanlar SO<sub>2</sub>'ye karşı çok farklı reaksiyon göstermektedir (Acar ve Cemeroğlu 1998). Genellikle, SO<sub>2</sub>'nin insanlar için toksisitesi düşüktür (Lueck 1980). Bazı insanlar 50 mg/kg vücut ağırlığı düzeyinde sülfite karşı hiçbir reaksiyon göstermezken; bazı insanlarda çok az miktarlarda alınması halinde bile baş ağrısı, mide bulantısı gibi semptomlara neden olabilmektedir. Kükürde duyarlılığın insanların mide asidite düzeyi ile ilgili olduğu ve mide asitliği az veya çok olanların bu konuda daha hassas oldukları belirtilmektedir. Gıda bileşenlerine bağlanmış

kükürt bileşiklerinin serbest haldeki kükürt bileşikleri kadar bu semptomların görülmesinde etkili olduğu ancak, olumsuz etkilerinin biraz daha geç hissedildiği ileri sürülmektedir. Kükürt dioksitin sağlık açısından en önemli yan etkisi bazı bireylerde, astım nöbetleri oluşmasına neden olmasıdır (Luck 1985). Bu bireylerde SO<sub>2</sub>'nin küçük konsantrasyonları (Ör: <10 mg/L) solunduğunda veya tüketildiğinde hırıltılı soluma, kızarma, karıncalanma, tansiyon düşüklüğü ve bronşların kasılması gibi alerjik tepkiler görülmektedir (Ough 1983; Yang ve Purchase 1985; Tensches ve ark., 1988).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre bir insanın gıdalarla günlük almasına izin verilen SO<sub>2</sub> miktarı 0.7 mg/kg vücut ağırlığıdır. Bu dozun biraz üzerindeki dozlar spesifik alkol dehidrogenaz enziminin azalmasına neden olarak rahatsızlığa sebebiyet verir (Stevenson ve Simon 1981). Şarap üretiminde şıraya fermantasyon başında minimum miktarlarda SO<sub>2</sub> ilavesi yapılmasına rağmen; son üründe rezidüel seviyede SO<sub>2</sub> bulunabilir. Bu durum bazı tüketiciler tarafından bu şarabın tadının beğenilmemesine neden olabilir (Lustrato ve ark., 2003). Son 30 yıldır SO<sub>2</sub>'nin neden olduğu sağlık problemleri ve olumsuz organoleptik özellikler yüzünden Uluslararası Bağcılık ve Şarap Örgütü (OIV) tarafından şarap, meyve, meyve suları ve likörleri vb. ürünlerde kullanımının minimum seviyede tutulması gerektiği savunulmaktadır. Bu nedenlerden dolayı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Tarım ve Gıda Örgütü (FAO) gıda maddelerinde SO<sub>2</sub>'nin kullanımını mümkün olduğunca sınırlamıştır. Hatta SO<sub>2</sub> kullanımının tamamen baskılanmasını düşünmektedirler (Usseglio-Tomasset 1985; Valouyko ve ark., 1985; Marques Gomes ve Da Silva Babo 1985; Aerny 1986a,b; Cerruti 1993; Lustrato ve ark., 2003; Garde-Cerdan ve ark., 2007, 2008 ).

Avrupa Birliği (EC) uyum yasaları çerçevesinde 1987'den bu yana SO<sub>2</sub>'nin maksimum seviyesi kırmızı şaraplarda 175 mg/L'den 160 mg/L'ye; beyaz ve rosé

şaraplarda 225 mg/L'den 210 mg/L'ye düşürülmüştür. İlave olarak, 5 mg/L ve daha yüksek konsantrasyonda şeker içerenlerde maksimum doz 210 mg/L'yi geçerek 260 mg/L'ye kadar çıkabilmektedir (Lustrato ve ark., 2003; García-Ruiz ve ark., 2008). Diğer taraftan Birleşik Devletler ve son zamanlarda Avrupa Birliği, şarap üreticilerinden eğer ürettikleri şarapta 10 mg/L'yi geçen miktarda sülfür varsa etiketlemede belirtmelerini istemektedir. Aslında son zamanlarda, çoğu şarabın etiketinde “*sülfür içermektedir*” ibaresi bulunmaktadır (García-Ruiz ve ark., 2008).

Mayalar üzüm suyunun metabolizması sırasında SO<sub>2</sub> üretir (Eschenbruch 1974). Bu nedenle SO<sub>2</sub> içermeyen bir şarabın üretilmesi mümkün değildir. *S.cerevisiae*'nin SO<sub>2</sub> üretimi suşlarının bir karakteristiğidir. Karşılaştırılabilir koşullar altında Suzzi ve ark. (1985) *S.cerevisiae*'nin 1700 suşu arasında büyük çoğunluğun (%80) 10 mg/L'den daha az SO<sub>2</sub> ürettiğini ve sadece 4 suşun 30 mg/L'den daha fazla ürettiğini belirtmiştir (Romano ve Suzzi 1993). Ayrıca *S. cerevisiae* suşları SO<sub>2</sub> bağlayıcı metabolitleri düşük konsantrasyonlarda üretir. Bu nedenle bu suşlar fermantasyonun sürdürülmesinde veya şaraptaki toplam SO<sub>2</sub> içeriğinin azaltılması amacıyla kullanılmaktadır (Romano ve ark., 1992).

SO<sub>2</sub>'ye alternatif olarak kullanılacak, tam olarak onun yerini tutan bilinen bir bileşik yoktur. Çünkü SO<sub>2</sub>'nin şarap yapımında çeşitli fonksiyonları vardır. Ancak SO<sub>2</sub>'nin yerine geçebilen ya da en azından SO<sub>2</sub>'yi tamamlayıcı özellikte, sağlığa zararsız, şaraptaki SO<sub>2</sub> miktarının düşürülmesine olanak sağlayabilen; istenmeyen mikroorganizmaları inhibe eden koruyucu maddelerin, alternatif sistemlerin ve tekniklerin geliştirilmesi bir amaç haline gelmiştir (Romano ve Suzzi 1993; Lustrato ve ark., 2003; García-Ruiz ve ark., 2008).

## 1.2. Atılımlı Elektrik Akımı

Son yıllarda tazeye en yakın şekilde muhafaza edilen gıda ürünlerine olan talep gıdaların korunmasında yeni alternatif metotlarla ilgilenilmesine neden olmuştur. Aslında ısısal işlemler uzun raf ömürlü güvenilir gıda üretimi için ana teknolojidir; ancak, ısısal işlemler gıda maddelerinin aroma, vitamin ve bazı fizikokimyasal özelliklerinin kaybolmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, ısıyla muhafazaya alternatif olan ve ısısal olmayan muhafaza yöntemleri olarak bilinen atılımlı elektrik akımı uygulaması (PEF), yüksek basınç uygulaması, radyasyon ve X-ışınları hakkında çeşitli araştırmalar yapılmaktadır (Barbosa-Cánovas ve ark., 1999; Dunn 2001; Hamilton ve Sale 1967; Mertens ve Knorr 1992; Zhang ve ark., 1995a).

Atılımlı elektrik akımı (PEF, pulsed electric fields) uygulaması mikroorganizmaları inaktive etmek suretiyle gıda pastörizasyonu için iyi bir potansiyel teşkil etmektedir. Isısal pastörizasyon prosesi ile karşılaştırıldığında gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmakta; tatta, renkte ve gıda bileşenlerinde kayba neden olmadan gıda ürünlerinin muhafazasını sağlamakta ve aynı zamanda diğer yöntemlere göre enerji tasarrufu sağlamaktadır (Dunn 2001; Dunn ve Pearlman 1987; Gould 1995; Jayaram ve ark., 1992; Knorr ve ark., 1994; Mertens ve Knorr 1992; Pothakamury ve ark., 1993; Qin ve ark., 1994, 1995; Qui ve ark., 1998; Zhang ve ark., 1994a).

PEF teknolojisinin esası, iki elektrot arasına yerleştirilmiş gıdaya mikro saniyelerle ifade edilen çok küçük zaman dilimlerinde uygulanan voltajın (20-80 kV) enzimler ve mikroorganizmalar üzerindeki etkisine dayanmaktadır (Martin-Belloso ve ark., 1997a,b, Min ve ark., 2007). Ortama yüksek voltajlı elektrik akımı verildiği zaman

büyük miktarda bir elektrik akımı sıvı gıdada bulunan ve elektrik akımı taşıyan taşıyıcı iyonların konsantrasyonuna bağlı olarak gıdaya geçmektedir (Dunn 2001; Mertens ve Knorr 1992; Zhang ve ark., 1995a). PEF uygulaması daha çok sıvı ve yarı sıvı gıdaların işlenmesine olanak vermektedir. Gıdanın iletkenlik katsayısının belirli bir dereceye kadar yüksek olması elektriksel iletimini kolaylaştırmakta ve buna bağlı olarak etkili inaktivasyon için gereken enerji miktarını düşürmektedir. Yapılan araştırmalar PEF teknolojisi ile gıda işleme yönteminin geleneksel pastörizasyon yöntemlerine göre enerji bakımından daha ekonomik olduğunu göstermiştir (Altuntaş 2007; Qin ve ark., 1995b). Bu nedenle, PEF prosesi özellikle düşük viskozite ve elektrik iletkenliğine sahip gıda ürünlerinde başarı ile uygulanmıştır. Mikrobiyal inaktivasyonda elde edilen başarıların yanı sıra, PEF prosesi sonucunda bazı meyve sularında ve sıvı yumurtada diğer ısı uygulamalarına göre rengin daha iyi korunduğu belirtilmiştir.

PEF uygulaması genellikle oda sıcaklığında veya oda sıcaklığının biraz altında veya üstündeki sıcaklıklarda gerçekleştirilmektedir. Uygulamada gıdanın elektrik akımına gösterdiği dirençten dolayı, elektrik akım şiddetine bağlı olarak ürünün sıcaklığında artış gerçekleşmekte ancak bu durum sisteme entegre edilmiş soğutucu ekipman ile engellenmektedir (Qin ve ark., 1995a).

PEF uygulaması ilk defa 1935 yılında Getchell tarafından saatte 100 galonluk bir kapasitedeki uygulama ile başlatılmıştır. Bu sistemde yüksek akımın uygulandığı odacıklar ağır cam ve zıt duvarlı karbon elektrotlarla dikey dikdörtgen tüplerden oluşmuştur. Çiğ süt 52°C'ye ısıtılmış ve 220 V'luk alternatif akımla muamele edilmiştir (Getchell 1935). Bu yıllarda, PEF uygulaması gerek sistemin kapasitesi gerekse sistemdeki ekipmanların sıcaklık kontrol mekanizmasının iyi olmaması yüzünden

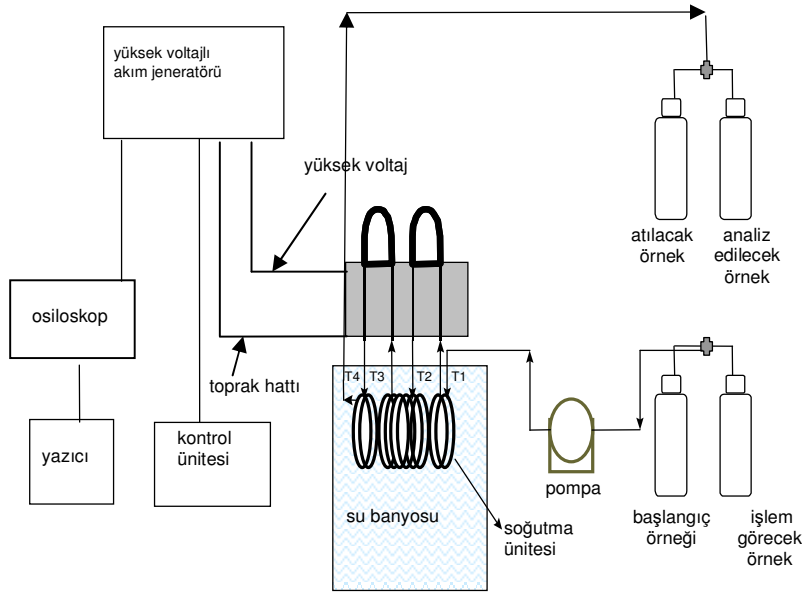
popülerite kazanamamıştır. Bununla birlikte eğer elektrik akımı uygulaması kısa aralıklı dalgalar şeklinde olursa minimal düzeyde ısı üretiminin gerçekleşeceği ve uygulamanın ısısal olmayacağı belirtilmiştir (Akın 2007).

### **1.2.1. Atılımlı Elektrik Akımı Ekipmanları**

PEF sistemi; elektrik enerjisinin oluşturulması için yüksek voltaj DC jeneratörü, jeneratör tarafından oluşturulan elektrik enerjisini depolayacak kapasitörler dizisi, pompalama sistemleri, enerjinin kapasitörlerden elektrotlara ulaşmasını sağlayacak yüksek voltaj anahtarı, örneğin tutulması ve proses edilmesi için gerekli olan uygulama odacıkları, soğutma ekipmanı (ısı değiştiriciler), ısı kontrol ünitesi, kontrol sistemi (bilgisayar) ve paketleme üniteleri gibi ekipmanlardan oluşur (Altuntaş ve ark., 2008; Ngadi ve ark., 2003).

Gerek laboratuvar ölçekli gerekse ticari ölçekli PEF sistemleri temel olarak 4 ana kısımdan oluşmuştur (Şekil 1.1). Bunlar:

- Elektrik akım jeneratörü,
- Yüksek akım işlem odacıkları,
- Sıvı gıdanın PEF sisteminde taşınımını sağlayan sıvı taşıma sistemi
- Sıcaklık ve atım görüntüleme sistemleri



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

### 1.2.1.1. Elektrik Akım Jeneratörü

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

### **1.2.1.2. Yüksek Akım İşlem Odacıkları**

Uygulama odacıklarının görevi gıdaya elektrik akımı vermektir. Odacıklarda karşılıklı olarak yerleştirilmiş elektrotlar bulunur ve materyal bu elektrotlar arasından geçerken yüksek voltajlı elektrik akımına maruz bırakılır. Odacıklar birbirine seri halde bağlanmış durumdadır ve iki odacık arasında iletimi sağlayan borular yerleştirilmiştir. Borular su banyosu içerisine daldırılmış konumdadır. Böylece sistemde fazla ısınma da engellenebilmektedir.

PEF ile yapılan üretimlerde homojenliği sağlamak için elektrik akımının değişmeyen bir seviyede uygulanması gerekmektedir (Fiala ve ark., 2001; Zhang ve ark., 1994b). Bu amaçla zaman içerisinde yeni tasarımların gelişmesi ile birlikte uygulama odalarının tasarımı, statik uygulama odasından sürekli uygulama odalarına doğru değiştirilmiştir (Altuntaş ve ark., 2008).

#### **1.2.1.2.1. Statik Odalar**

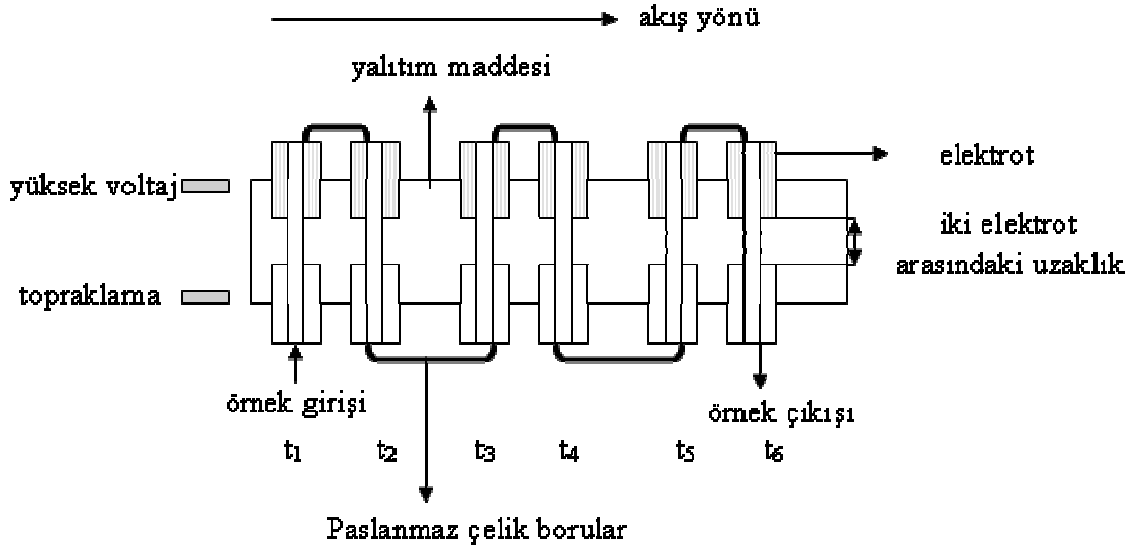
Statik uygulama odacıkları çoğunlukla laboratuvar ölçekli çalışmalarda tercih edilmektedir (Min ve ark., 2007). Statik uygulama odacıkları U-şeklinde biçimlendirilmiş polistiren odacık ve cam bobinli statik odacık olarak ikiye ayrılır.

### **1.2.1.2.2. Sürekli Akış Sağlayan Odalar**

Sürekli sistemler büyük miktarlardaki gıda prosesleri için uygundur ve statik sistemlere göre daha verimlidir. Çünkü gıdanın sistem içerisinde sirkülasyonu sağlanabilmektedir (Altuntaş 2007). Geliştirilen en son modellerden birisi olan sürekli akış sağlayan paralel akışlı odalar Yin ve ark. (1997) tarafından tasarlanmıştır. Bu sistemde yalıtkan madde arasına belli bir mesafede özel olarak yerleştirilen elektrotlar sistemde sızdırmazlığı sağlamakta olup; elektrotların birbirine olan uzaklığı uygulanan elektrik akımına oranlandığında gıdaya uygulanan elektrik alan şiddetine ulaşılmaktadır (Altuntaş ve ark., 2008) (Şekil 1.2).

### **1.2.1.3. Sıvı Gıdanın PEF Sisteminde Taşınımını Sağlayan Sıvı Taşıma Sistemi**

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



Şekil 1.2. Eş zamanlı akış sağlayan sürekli uygulama odacıkları (Evrendilek ve ark., 2004a).

#### 1.2.1.4. Sıcaklık ve Atım Görüntüleme Sistemleri

Laboratuvar ölçekli PEF sistemleri genellikle, içinde sıvı gıdanın aktığı paslanmaz çelik borulara bağlı (ör: K tipi) PEF uygulamaları sırasında sıcaklık değişimlerinin görüntülediği termokupllara sahiptir. Böylece uygulama öncesi ve sonrasında ürünlerin sıcaklıkları boruların hedef sıcaklığa ayarlanmış su banyolarına yerleştirilmesiyle kontrol edilir. Pilot ölçekli ve ticari ölçekli PEF sistemlerinde PEF uygulamaları öncesinde ve sonrasında borulu ısı değiştiricilerle sıcaklık kontrolü sağlanmaktadır. PEF uygulama odalarının girişinde ve çıkışında ve ısı değiştiricilerin çıkışında çift yönlü parçalarla birlikte sıcaklıkları gözlemlemek için bir seri direnç-

sıcaklık-detektör problemleri yerleştirilebilir. Atımlar yüksek voltajlı problemlerle, akım monitörleriyle ve osiloskoplarla görüntülenir (Min ve ark., 2003a).

### 1.2.2. PEF Proses Parametreleri

PEF prosesinde uygulanan elektrik alanın şiddeti ve uygulama süresi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir.

Bu amaçla aşağıda belirtilen parametreler kullanılmaktadır:

D: İşlem odasında iki elektrot arasındaki uzaklık (cm)

$\Phi$ : İşlem odacığı çapı (cm)

$\tau$ : Her bir atımın süresi-genişliği ( $\mu$ s)

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

n: Odacık sayısı

V: Uygulanan voltaj

I: Akım (A)

$t_c$ : Sirkülasyon zamanı (dak)

v: Sirkülasyon hacmi (mL)

Q: Gıdanın ortalama akış hızı (mL/dak)

$\sigma$ : Proses sıcaklığında gıdanın elektrik iletkenliği (Siemens/m)

$\rho$ : Proses sıcaklığındaki gıdanın yoğunluğu( $g/cm^3$ )

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

$E_p$ : Uygulanan elektrik alan şiddeti ( $kV/cm$ )

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

$t_r$  = Her bir uygulama odasında kalış süresi ( $\mu s$ )

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

$Q_v$ : Gıdanın ortalama akış hızı

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

$n_p$  = Her bir uygulama odacığında verilen atım sayısı

$$n_p = t_r f$$

$N$ : Toplam işlem zamanı

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

$W$ : Saniyedeki deki enerji girişi

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

$T$ : Ardışık iki uygulama odacığında meydana gelen sıcaklık artışı

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

PEF prosesi esnasında kontrol edilebilen önemli parametreler şunlardır:

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

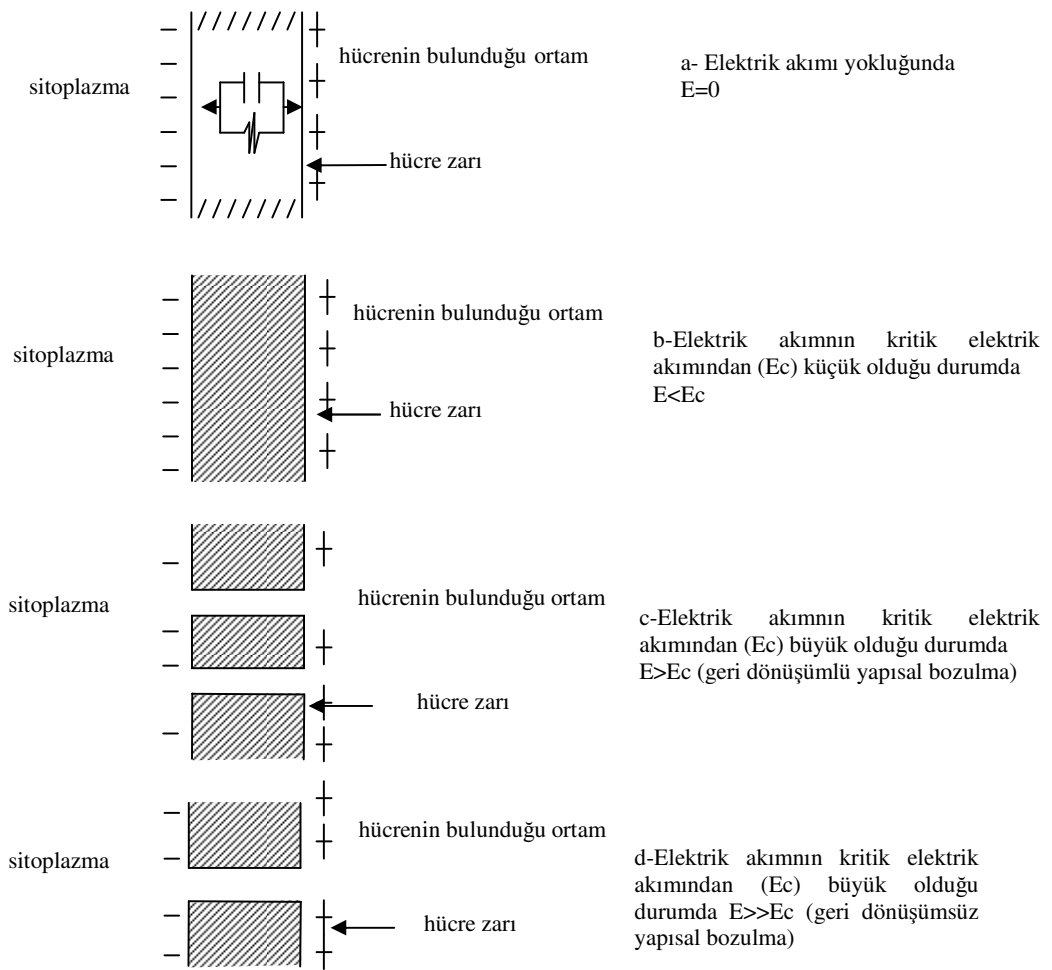
### **1.2.3. PEF prosesinin mikrobiyal inaktivasyon mekanizmaları**

PEF'in mikrobiyal hücreler üzerindeki birincil etkileri membran potansiyelinin ve mekanik stresin uyarılmasına bağlı olarak yapısal dayanıklılığın kaybedilmesini içermektedir. İkincil etkiler ise elektrik alan tarafından hücre membranının bütünlüğünün bozulmasından, bölgesel ısınmadan ve membran stresinden sonra madde akışını içermektedir. Üçüncül etkiler ise sitozol ve dış ortam arasındaki dengesiz osmotik basınca bağlı olarak hücrenin şişmesi veya büzülmesi ve ayrılmasını içermektedir (Min ve ark., 2007).

PEF prosesi tarafından gerçekleştirilen mikrobiyal inaktivasyon dielektrik yıkım teorisiyle açıklanabilir (Şekil 1.3). Elektriksel yıkım teorisine göre, elektrik enerjisinin hücre zarındaki porların formasyonuna neden olduğu ve porların iletken sıvı ile dolduğu

farz edilmektedir. Hücre membranının düşük dielektrik sabitine sahip bir maddeyle doldurulmuş olduğu kabul edilir. Bu haliyle membran bir kapasitöre benzetilebilir. Hücrenin bulunduğu ortamın elektriksel yükünde meydana gelen herhangi bir değişiklik olması durumunda hücre bu değişikliğe adapte olmaya çalışır. Bir hücre elektrik alana tabi tutulduğunda hücre içindeki iyonlar alan boyunca hareket eder. Bu durum iyonların membran tarafından alıkonmasına kadar devam eder. Sonuç olarak serbest yükler her iki membran yüzeyinde de birikir. Daha fazla yüzey yükünün birikmesi elektromekanik stres veya transmembran potansiyelinin (TMP) artmasına neden olur. Büyük hücrelerde aynı miktardaki dış elektrik alanda indüklenmiş potansiyel daha büyüktür. Bu durum büyük hücrelerin elektrik alanın etkisine karşı küçük hücrelerden daha hassas olmasına neden olur. Yapılan çalışmalarda dış elektrik alanın etkisi altında transmembran potansiyelinin uygulanan elektrik alandan 500 kat kadar büyük olabileceği görülmüştür. Transmembran potansiyeli ve hücre zarını çevreleyen ortamla ilgili yapılan çalışmalar membran yüzeyinde meydana getirilen yüklerin birbirlerini çektikleri ve zıt işaretlerde olduğunu göstermektedir. Bu çekim membran kalınlığının azalmasına neden olan sıkıştırma basıncının artmasına neden olur (Şekil 1.3b). Hücre zarında yıkımın başlaması için dışarıdan uygulanan elektrik enerjisinin  $E_c$  (mikrobiyal inaktivasyonun başlaması için gereken elektrik enerjisinin minimum değeri) değerine ulaşması gerekir. Hücre zarının yıkımının gerçekleştiği voltaj değerine kritik voltaj değeri ( $V_c$ ) denir. Mikroorganizmalarda kritik geçiş zar potansiyeli ve kritik elektrik alan direnci hücrenin çapı, şekli ve değişen dış şartlara bağlıdır. Uygulanan elektrik alanın  $E_c$  değerinden büyük olması durumunda por oluşumu ve membranda geri dönüşümlü yıkılma meydana gelir. Bu durumda porların boyutları da çok küçüktür (Şekil 1.3c). Uygulanan elektrik alan  $E_c$  değerini çok aşarsa porların sayısı artar ve büyüklüğü membran yüzeyine göre

genişler. Buna bağlı olarak hücre membranının büyük bölümü yıkıma uğrar (Şekil 1.3d). Böylece hücrenin mekaniksel yıkımına bağlı olarak geri dönüşümsüz yıkım meydana gelir (Coster ve Zimmermann 1975; Kinosita ve Tsong 1977a,b; Sale ve Hamilton 1967; Zimmermann 1986).

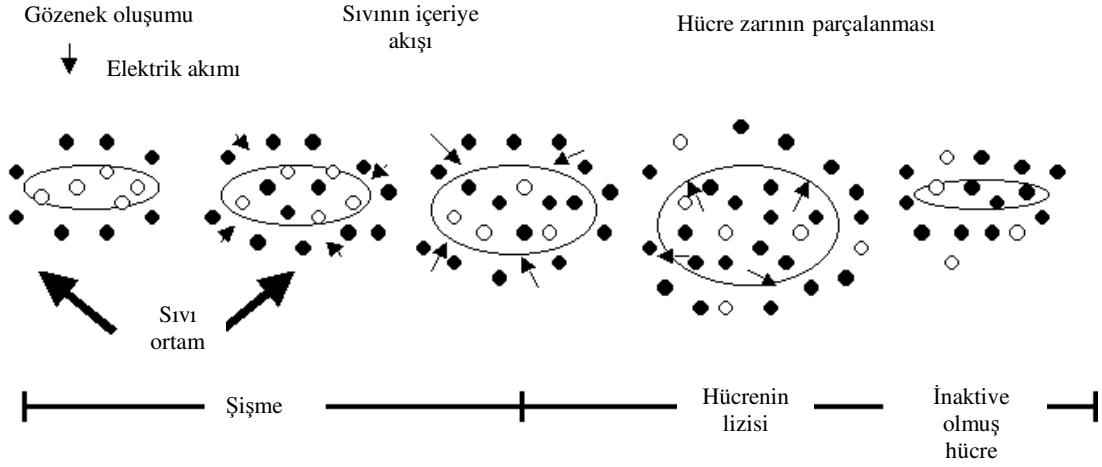


Şekil 1.3. Hücre zarının elektrik akımı altında göstermiş olduğu yapısal değişiklik (Zimmermann ve Benz 1980).

Biyolojik hücre zarlarının inaktivasyon mekanizması elektroporasyonla da incelenmiştir. Elektroporasyon, yüksek voltajlı elektrik akımına maruz bırakılan hücre zarının çift katmanlı lipit tabakası ve protein yapısında geçici olarak bozulmanın meydana geldiği bir olaydır. Hücre zarı elektrik akım etkisine maruz bırakıldığı zaman küçük moleküller için geçirgen hale gelir ve zar zinciri yapısında kırılmalar başlar (Anonim 2009).

Elektrik akım uygulaması ile hücre zarında elektroporasyon iki aşamada gerçekleşmektedir; birinci aşamada hücre zarı strese girer ve iyon konsantrasyonunu dengelemeye çalışır ve ikinci aşama olarak hücre zarı yüzeyinde porlar şekillenmeye başlar (Kinosita ve Tsong 1977a).

Elektroporasyon yoluyla çok sayıda geniş çaplı porların oluşumu elektrik alan şiddeti, uygulama zamanı ve atım genişliğinin artması ve de ortamın iyonik direncinin azalmasıyla elde edilir. Lipit (lipozom) yapısında iyonların ve su dipollerinin hidrofobik porlar boyunca elektroporetik hareketi elektroporasyon mekanizmasının başlangıcı olarak düşünülmektedir. Buna ek olarak yine hücre zarı üzerindeki protein kanalları, porlar ve pompalar yüksek voltaj uygulamasına karşı oldukça hassastırlar ve yine elektroporasyonun başlangıç unsurlarını oluştururlar (Chang ve ark., 1992; Tsong 1990).



Şekil 1.4. Hücre zarı elektroporasyonu (Vega-Mercado ve ark., 1996b).

#### 1.2.4. Mikroorganizmaların inaktivasyonu

PEF uygulamasının mikroorganizmaların inaktivasyonu üzerine etkisi çeşitli şartlara bağlıdır:

- PEF prosesine bağlı olan faktörler,
- Gıdaya bağlı olan faktörler,
- İnaktivasyonu hedeflenen mikroorganizmaya bağlı faktörler olarak sıralamak mümkündür (Barbosa-Cánovas ve ark., 1999).

#### **1.2.4.1. PEF Prosesine Bağlı Faktörler**

**1.2.4.1.1. Elektrik Alanın Büyüklüğü:** PEF teknolojisinde mikrobiyal inaktivasyonu etkileyen en önemli parametre uygulanan elektrik alanın büyüklüğüdür. Elektrik enerjisiyle mikrobiyal inaktivasyon ortamdaki iyon konsantrasyon dengesinin bozulması esasına göre gerçekleşir. Mikroorganizmalar belirli bir hücre zarı geçirgenlik potansiyeline sahip olmakla beraber; hücre içi ve hücre dışı iyon konsantrasyonunu dengede tutmak zorundadır. İyon dengesi bozulduğu zaman hücre zarı dengeyi sağlamak için iyon transferi yapmak zorunda kalır ve bu da hücre zarında deformasyona neden olur (Hulsheger ve Niemann 1980; Dunn 1996).

Kritik elektrik alan ( $E_c$ ) hücre boyutunun bir fonksiyonudur ve daha büyük hücreler için daha küçüktür. Bu durum transmembran potansiyelinin hücre boyutuyla orantılı olmasına bağlıdır (Grahl ve Märkl, 1996). Uygulanan elektrik alanın büyüklüğü kritik elektrik alan değeri üzerinde bir değere yaklaştığında mikrobiyal inaktivasyon artmaktadır (Gaskova ve ark., 1996; Schoenbach ve ark., 1997). Buna bağlı olarak Hulsheger ve Niemann (1980) elektrik alan büyüklüğü ve *Escherichia coli* nin inaktivasyonu arasında lineer logaritmik bir ilişki olduğunu belirtmiştir.

**1.2.4.1.2. Uygulama Süresi:** Uygulama süresinin artırılması daha fazla mikroorganizmanın inaktivasyonuna neden olur. Bunun nedeni ise mikroorganizmaların spesifik proses şartlarına daha fazla maruz kalmalarıdır (Altuntaş ve ark., 2008). PEF teknolojisinde uygulama süresi atım sayısı ile atım genişliğinin çarpılması sonucu elde

edilmektedir. Atım genişliği arttıkça, uygulama süresi de artmakta ve buna bağlı olarak mikrobiyal inaktivasyonda da artış görülmektedir. Fakat atım genişliği gereğinden fazla uzun olursa gıdanın sıcaklığı PEF uygulaması için istenmeyen bir seviyeye yükselecektir. Bu nedenle atım genişliğinin sıcaklığın istenen aralığı geçmeyecek şekilde artmasına neden olmayacak şekilde ayarlanması gerekmektedir (Sale ve Hamilton 1967; Zhang ve ark., 1995a).

**1.2.4.1.3. Uygulanan Dalga Modeli:** PEF prosesinde kare, logaritmik olarak azalan, titreşimli ve ani geri dönüşümlü dalga modelleri kullanılabilir. Kare ve ani geri dönüşümlü dalga modelleri monopolar (tek kutuplu) ve bipolar (çift kutuplu) olarak uygulanmaktadır. Kare dalga modeli logaritmik olarak azalan atım modeline göre daha fazla öldürücü etkiye sahip olup; kullanılan enerji bakımından daha verimlidir. Qin ve ark. (1994) tarafından statik uygulama odası kullanılarak yapılan bir çalışmada kare ve logaritmik olarak azalan dalga modeli kullanılan 12 kV/cm'lik elektrik alan uygulaması sonucunda kare dalga modelinin logaritmik olarak azalandan %60 daha fazla inaktivasyon sağladığı; kare dalga atım modelinde enerji verimliliği %91 iken; logaritmik olarak azalan modelde enerji verimliliğinin %64 olduğu belirtilmiştir. Zhang ve ark. (1997) tarafından portakal suyunun raf ömrünün değerlendirilmesine yönelik bir çalışmada kare, logaritmik olarak azalan ve ani geri dönüşümlü dalga modellerinin etkisini incelenmiştir. Sonuç olarak kare dalga modelinin en etkili dalga şekli olduğu belirtilmiştir.

Genel olarak bipolar dalga boyu uygulaması mikroorganizmalar üzerinde monopolar uygulamadan daha fazla inaktivasyon etkisine sahiptir. Çünkü bu

uygulamada elektrik alan kutuplaşmasında ve oryantasyonunda meydana gelen değişimler hücre zarındaki yüklü moleküllerin yöneliminde değişikliklere yol açar. Yüklü moleküllerin hareketlerindeki bu değişimler hücre zarının strese girmesine neden olur ve hücre zarında deformasyona yol açar (Anonim 2009; Ho ve ark., 1995; Qin ve ark., 1994). PEF prosesinde yüklü moleküllerin (ör: proteinler) elektrotların yüzeyine göç etmesiyle uygulama odasında elektrotların üzerinde koruyucu bir tabaka oluşabilmektedir. Bipolar atımlar bu koruyucu tabakanın oluşmasını engellemek için de kullanılmaktadır. Bu nedenle bipolar uygulama monopolar uygulamaya göre enerji bakımından daha verimlidir (Barbosa-Cánovas ve ark., 1999; Zhang ve ark., 1995c). Titreşimli azalan atımlar en az etkili olan dalga modelidir. Çünkü bu modelin uygulanması sonucunda hücre uzun sürede yoğun bir elektrik akımına maruz kalmaz. Böylece hücre zarında büyük bir alanda geri dönüşümsüz bir yıkılma gerçekleşmez (Jeyamkondan ve ark., 1999).

**1.2.4.1.4. Atım Genişliği:** Atım genişliği optimum düzeyde olursa inaktivasyonda artış meydana gelmektedir. Atım genişliğinin çok uzun olması özellikle kare şeklindeki atımların stabilitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Buna karşın atım genişliğinin kısa olması sistemin sürekli olarak elektrik akımı ile doldurulup boşalmasına neden olacağından kapasitöre ek bir yük getirmekte ve sistemin etkin olarak çalışmasını olumsuz yönde etkilemektedir (Altuntaş ve ark., 2008).

**1.2.4.1.5. Uygulama Sıcaklığı:** Yapılan çalışmalarda elektrik alan şiddeti sabit tutulduğunda uygulama sıcaklığının artırılmasıyla mikrobiyal inaktivasyonunun arttığı

görülmüştür. Ancak sıcaklık pastörizasyonda uygulanan sıcaklıkların altında tutulmalıdır. Elektrik akımı uygulanması sırasında gıdanın sıcaklığının yükselmesine yol açmakta olduğundan sistemde uygun bir şekilde soğutma sağlanmalıdır. Atımlar arasındaki sürenin yeterli seviyede ayarlanması, yüksek akış hızı ve soğutma cihazlarının kullanımıyla gıdalarda uygun sıcaklıklar sağlanmaktadır. PEF uygulamalarında bazı durumlarda inaktivasyonu artırmak ve özellikle yüksek viskoziteli gıdalarda akışı kolaylaştırmak amacı ile PEF prosesi orta derecede ısı uygulaması (20-50°C) ile kombine edilmektedir (Evrendilek ve ark., 2004b; Yeom ve ark., 2004; Ratanatriwong ve ark., 2001). Bu koşullarda *Escherichia coli* ve *Salmonella dublin*'in inhibisyonuna yönelik çalışmalar mevcuttur (Zhang ve ark., 1995a; Sensoy ve ark., 1997). Vega-Mercado ve ark. (1996a) tarafından bu kapsamda yapılan bir çalışmada 55°C'de PEF uygulaması sonucunda bezelye çorbasında *E. coli* konsantrasyonunda 6.5 log kob/mL azalma görülmüş; ancak sıcaklık 32°C'ye düşürüldüğünde 1 log kob/mL'den daha az bir azalma tespit edilmiştir. İnaktivasyonun etkililiğinin artmasının nedeni sıcaklığa bağlı olarak hücre membranının jelden sıvı-kristal faza geçmesidir (Stanley 1991). Bir mikrobiyal kültürde bakteriler doymuş ve uzun zincirli yağ asitlerini birleştirerek fosfolipitleri oluşturmaktadır. Gelişme sıcaklığı arttıkça faz geçiş sıcaklığı etkilenmektedir. Meydana gelen fosfolipitler düşük sıcaklıklarda katı jel yapı halindeyken; sıcaklık yükseldikçe daha düzensiz veya sıvı kristal yapılara dönüşmektedir. Atımlı elektrik akımı böylece sıvı kristal yapılarda etkili olarak tanımlanabilirken; faz geçiş sıcaklıklarında etkili değildir (Ohshima ve ark., 1997; Ho ve Mittal 1996). Sıcaklığın yükselmesi hücre membranının akışkanlığını artırmaktadır. Buna bağlı olarak; mikroorganizmayı çevreleyen ortamda organik asitler gibi maddeler

varsa bu maddelerin hücre içerisine transferi kolaylaşmakta ve inaktivasyon hızı yükselmektedir (Liu ve ark., 1997).

Bu nedenlerden dolayı, PEF uygulamasının orta dereceli sıcaklık uygulamasıyla kombinasyonu etkili sonuç vermektedir. Bu şekilde kombine uygulamalarda gıdanın sıcaklığı genellikle PEF uygulamasından önce yükseltilir. Böylece gıda ön ısıl işlem uygulanmadan PEF prosesi uygulanan gıdaya göre daha az termal yük alır (Heinz ve ark., 2003). Kombine uygulamaların ayrıca bitkisel gıdaların suyunun elde edilmesinde de geleneksel yöntemlere göre avantajları vardır. Lebovka ve ark. (2004) PEF (500-1100 V/cm) ile kombine 45-65°C'lik ısı uygulamasının havuç, patates ve elmaların üzerinde yumuşatıcı bir etkisi olduğunu belirtmiştir.

#### **1.2.4.2. Gıdaya Bağlı Faktörler**

**1.2.4.2.1. Gıdanın Viskozitesi:** Genel olarak PEF prosesi bir pompa yardımı ile pompalanabilen düşük viskoziteli gıdalara uygulanmaktadır. Çünkü gıdanın PEF uygulama odasında yeknesak bir akış göstermesi PEF uygulamasının yeknesak bir şekilde gerçekleşmesini sağlamaktadır. Bu özelliği taşımayan gıdalarda PEF prosesi öncesi ısı uygulaması ile viskozite düşürülmekte; dolayısı ile gıda peristaltik veya dişli pompa vasıtası ile belirli bir akış hızında pompalanabilmektedir (Ruhlmann ve ark., 2001).

**1.2.4.2.2. Gıdanın Elektrik İletkenliği (Kondaktivitesi) ve İyonik Direnci:** PEF uygulaması düşük elektriksel iletkenliğe (kondaktivite) sahip gıdalarda daha etkilidir. Kondaktivitenin düşmesi uygulama ortamı ve mikroorganizmanın stoplazması arasındaki kondaktivite farkının yükselmesini sağlamaktadır. Kondaktivite farkının yükselmesi sonucu PEF uygulaması süresince mikroorganizmaların membranlarından iyonik madde akışı artmakta ve buna bağlı olarak mikroorganizmaların membran yapısı zayıflamaktadır. Ancak kondaktivitenin çok aşırı düşük olmaması da gerekmektedir. Aksi takdirde elektrik akımını iletecek olan iyonların miktarı çok az olacağından elektrik akımının iletilmesi zorlaşmaktadır. Sabit enerji girişinde PEF uygulaması yapılan ortamın kondaktivitesinin artması mikroorganizmaların inhibisyonunda azalmaya neden olmaktadır. Çünkü kondaktivitenin yükselmesiyle uygulama odacıkları boyunca elektrik alan pikleri küçülmektedir. Ayrıca kondaktivitenin yükselmesi gıdanın iyonik direncinin artmasına; gıdanın iyonik direncinin artması da mikroorganizmaların inaktivasyon hızında azalmaya neden olmaktadır. Bir ortamın elektrik akımını iletme kabiliyeti sıcaklıkla değişmektedir. Bu nedenle, uygulama sıcaklığı artırıldığında ortamın iletkenliği artmaktadır (Pothakamury ve ark., 1996; Vega-Mercado ve ark., 1996b; Zhang ve ark., 1995b). Vega-Mercado ve ark. (1996b) 0.168 M ve 0.028 M çözeltiler arasında inaktivasyon oranının 2.5 log kob/mL farklılık gösterdiğini belirtmiştir.

**1.2.4.2.3. Gıdanın Asitliği:** PEF ile proses edilecek gıdaların yüksek asitliğe sahip olması mikroorganizma türüne bağlı olarak inaktivasyonun sağlanmasında artış sağlamaktadır (Dunn 1996). Vega-Mercado ve ark. (1996b) yaptıkları çalışmada PEF prosesi sırasında iyonik direnç ve pH'nın PEF ile proses edilecek olan uygulama

ortamına etkisini incelemiştir. Solüsyonunun iyonik direnci azaltıldığında inaktivasyon oranının tanımlanmayacak kadar düşük bir seviyeden yaklaşık olarak 2.5 log kob/mL seviyesine yükseldiğini belirtmişlerdir. Elektrik alan şiddeti 55 kV/cm olduğunda ve pH'nın 6.8'den 5.7'ye indirilmesi durumunda ise inaktivasyon oranının 1.45 log kob/mL'den 2.22 log kob/mL'ye arttığını aktarmışlardır. Raso ve ark. (1998) düşük pH değerinde PEF'in meyve sularında küf sporları üzerindeki ölümcül etkisinin arttığını belirtmiştir. Garcia ve ark. (2005) düşük pH'nın *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* O157:H7 ve *Yersinia enterocolitica*'nın PEF uygulamasında hücrenin boyut, şekil ve hücre zarının çeşidinden daha etkili olduğunu belirtmiştir.

**1.2.4.2.4. Gıdanın Su Aktivitesi:** Düşük su aktivitesine ( $a_w$ ) sahip bir ortamda PEF uygulamalarına karşı mikrobiyal direnç yüksektir. Çikolata liköründe veya model sistemde inoküle edilen *Enterobacter cloacae* inhibisyon seviyesinin likörün veya model sistemin su aktivitesi değerinin artmasına bağlı olarak yükseldiği belirtilmiştir (Min ve ark., 2002).

**1.2.4.2.5. Gıdada Antimikrobiyal Madde Varlığı:** PEF ile proses edilen gıdalarda antimikrobiyal madde bulunması mikrobiyal inaktivasyonu artırmaktadır (Altuntaş ve ark., 2008). Mosqueda-Melgar (2007) tarafından yapılan çalışmada %0.1 konsantrasyonunda tarçın kabuğu yağı ve 35 kV/cm elektrik alan şiddetinde, 100 Hz atım frekansında, 1000 µs uygulama süresinde, 4 µs atım genişliğinde ve 35.8±1.8°C uygulama sıcaklığındaki PEF'in kombine uygulamalarının domates suyuna inoküle

edilmiş *Salmonella enteritidis* inaktivasyonunda sinerjistik etki gösterdiği belirtilmiştir. Kombine uygulamanın yalnızca %0.1 tarçın kabuğu yağı uygulamasına göre 5 log kob/mL daha fazla inaktivasyona neden olduğu görülmüştür. PEF ile antimikrobiyal maddenin kombine uygulanmasına yönelik yapılan bir başka çalışmada; pH'sı 2.4 olan ve 1000 ppm benzoik asit içeren çözeltiliye *E.coli* inoküle edilmiş olup 12.5 kV/cm elektrik akımı uygulanmıştır (Liu ve ark., 1997). Uygulama sonucu 4 log kob/mL azalma görülmüştür.

#### **1.2.4.4. Mikroorganizmaya Bağlı Faktörler**

**1.2.4.3.1. Mikroorganizmanın Türü:** Sale ve Hamilton (1967) mikroorganizmaların PEF uygulamalarına olan hassasiyetlerinin farklı olduğunu belirtmiş olup; mikroorganizmaları PEF prosesine hassasiyetlerine göre sınıflandırmıştır. Buna göre PEF prosesinde mayaların bakterilerden ve bakterilerin vejetatif hücrelerinin spor formlarından ve küf askosporlarından hassas olduğu aktarılmıştır (Grahl ve Markl 1996; Raso ve ark., 1998; Sale ve Hamilton 1967). Hulsheger ve ark. (1983) bakteriler arasında gram pozitif türlerin gram negatiflere göre daha dayanıklı olduğunu belirtmiştir. Gram pozitif bakterilerin PEF'e karşı direncinin daha yüksek olması bu hücrelerin hücre duvarlarındaki peptidoglikan tabakadaki teikoik asitlerin sertliğine bağlıdır (Lado ve Yousef 2002). Bunların yanı sıra yapılan bazı araştırmalarda da düşük elektrik alan şiddetlerinde mayaların gram negatif bakterilerden daha dirençli olduğu görülmüştür.

**1.2.4.3.2. Mikroorganizmanın Büyüklüğü ve Morfolojisi:** Genel olarak kabul edilen husus mikroorganizmaların hücre büyüklükleri arttıkça PEF prosesi ile inaktivasyonlarının artacağı şeklindedir. Buna göre basil ve spiraller koklara göre daha kolay inaktive olmaktadır (Altuntaş ve ark., 2008). Wouters ve ark. (2001) farklı boyutlarda ve şekillerdeki *Lactobacillus* türlerinin PEF prosesine farklı reaksiyon gösterdiğini belirtmiştir. *S. cerevisiae* hücrelerinin PEF uygulamasına karşı diğer vejetatif hücrelerden daha az dirençli olduğu belirtilmiştir. Bu durum bu hücrelerin boyutlarının büyük olmasına bağlıdır (Barbosa-Cánovas ve ark., 1999).

**1.2.4.3.3. Mikroorganizmanın Büyüme Fazı:** Genel olarak mikroorganizmalar logaritmik faz döneminde lag fazına ve durağan faza göre strese daha duyarlıdır. Logaritmik gelişme döneminde hücrelerin bölünme hızı çok yüksektir. Metabolik faaliyetler ve enerji harcanması en yüksek seviyededir. Bu yüzden de hücre zarı elektrik alan uygulamasından çok çabuk etkilenir (Anonim 2009). Hulsheger ve ark. (1983) *E.coli* hücrelerinin logaritmik dönemde durağan dönemdeki hücelere göre elektrik alan uygulamasına daha fazla hassasiyet gösterdiğini belirtmiştir. *S. cerevisiae* ile yapılan bir çalışmada ise hücrelerin elektrik alana karşı en hassas oldukları evrenin aktif büyüme evresi olduğu gözlemlenmiştir. Durağan fazdaki *S. cerevisiae* hücrelerinin %25'i; 30 kV/cm'lik elektrik alan şiddetiyle inaktive olurken; logaritmik fazdaki hücrelerin 4 atımlık 11 kV/cm'lik elektrik alan uygulaması sonucunda yalnızca %5'inin hayatta kaldığı belirtilmiştir (Jakob ve ark., 1981).

**1.2.4.3.4. Mikroorganizma Yoğunluğu:** Gıdada bulunan mikroorganizma sayısı elektrik alana bağlı olarak mikrobiyal inaktivasyon üzerinde etkili olabilmektedir. Barbosa-Cánovas ve ark. (1999) tarafından SMUF içeren model gıda sistemlerine inoküle edilen *E.coli* inaktivasyonuna yönelik yapılan çalışmada 70 kV/cm elektrik alan şiddeti, 16 atım ve 2 µs atım genişliği kullanılmış olup; *E.coli* konsantrasyonunun  $10^3$  kob/mL'den  $10^8$  kob/mL'ye çıkarılmasının inaktivasyon oranını etkilemediği ortaya koyulmuştur. Elma suyunda *S. cerevisiae* ile yapılan bir çalışmada 25 µs atım genişliğine sahip 1 atımlık 25 kV/cm'lik elektrik alan şiddetine sahip PEF uygulaması yapılmıştır (Qin ve ark.,1996). *S. cerevisiae* konsantrasyonundaki artışın inaktivasyon oranını çok az etkilediği görülmüştür.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Atılımlı elektrik akımı (PEF) uygulamalarıyla gıdalarda ve model çözeltilerde mikroorganizmaların, sporların ve enzimlerin inaktivasyonunun sağlanabilmesi araştırmacıları bu uygulamayla proses edilen sıvı gıdaların kalite kriterlerine yönelik çalışmalar yapma yönünde cesaretlendirmiştir (Barbosa-Cánovas ve ark., 1999). Bu sebeplerden dolayı son yıllarda özellikle meyve suyu işleme teknolojisi alanında PEF uygulama çalışmaları hız kazanmıştır. Meyve sularının yüksek asitliğe ve düşük protein konsantrasyonuna sahip olmaları PEF uygulamasıyla pastörize edilmelerinde avantaj sağlamaktadır. Yüksek asitlik mikroorganizmaların inaktive edilmesinde PEF ile sinerjistik etki sağlamaktadır. Düşük protein içeriği ise elektrotların üzerinde PEF uygulamasının mikroorganizmaların inhibisyonu üzerindeki etkinliğini azaltan protein birikimine bağlı olarak tabakaların oluşmasına neden olmamaktadır (Raso ve ark., 1998). Çalışmalar genel olarak portakal suyu ve elma suyu üzerinde yoğunlaşmış olmakla birlikte kayısı, şeftali, soya sütü, bira, yabanmersini suyu, gazlı içecekler, bezelye çorbası, yoğurt bazlı ürünler, tam, yarım, yağsız ve çikolatalı sütlerin, ayran benzeri süt ürünlerinin, homojenize edilmiş sıvı yumurtaların vb. pastörizasyonunda etkili bir şekilde uygulanabilmektedir. Ayrıca, gıda kaynaklı patojen bakterilerden *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmalardan *Zygosaccharomyces bailii*, *Obesubacterium proteus*, *L. brevis*, *S. cerevisiae* ve polifenoloksidaz, peroksidaz gibi enzimlerin inaktivasyonu amacıyla çalışmalar da yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda bazı mikroorganizmalar için

kısa süreli PEF uygulamalarıyla yüksek inaktivasyon seviyelerinin sağlanması ve nihai üründe kayıpların olmaması PEF'in güvenli, daha uzun raf ömrüne sahip ve kalitesi yüksek ürün elde edilmesini sağlayabildiğini göstermektedir (Amiali ve ark., 2005; Anonim 2009; Barbosa-Cánovas ve ark., 1999; Beveridge ve ark., 2004; Cortes ve ark., 2005; Evrendilek ve ark., 1999, 2000, 2001, 2004a,b; Hermawan ve ark., 2004; Reina ve ark., 1998; Marsellés-Fontanet ve Martín-Belloso 2007; Yeom ve ark., 2000). Ayrıca PEF uygulamasıyla enerji kullanımı bakımından da verimlilik sağlanmıştır. PEF ile elma suyu uygulamasında kullanılan enerjinin; yüksek sıcaklık kısa süre (HTST) uygulamasında kullanılan enerjiden %90 daha düşük olduğu görülmüştür (Qin ve ark., 1996).

Bir ürünün PEF ile pastörize edilip edilmeyeceğinin tespit edilebilmesinde farklı aşamalara gereksinim duyulmaktadır. Bu aşamalar: (1) uygulama sonucunda istenen inaktivasyonu sağlayabilmek için gerekli parametrelerin belirlenmesine yönelik çalışmaların yapılması (2) çiğ gıdalara doğal mikrobiyal popülasyonların inokülasyonu (3) gıdaların mikrobiyal, kimyasal ve fiziksel karakteristiklerinin incelenmesi ve (4) duyuşal değerlendirme ve raf ömrü çalışmalarının yapılmasıdır (Barbosa-Cánovas ve ark., 1999).

Homojenize ve pastörize sütlerde PEF ile ilgili yapılan bir çalışmada süt numunelerine *Salmonella* Dublin inoküle edilmiş olup; bu numunelere 25 dak boyunca 36.7 kV'luk 40 atımlık uygulama yapılmıştır. Uygulama sonucunda patojen bakterilere rastlanmamıştır. İşlem gören süt numunesi soğutulmuş ve 7-9°C'de 8 gün boyunca depolanmıştır. Bu süre zarfında işlem görmemiş sütte bakteri popülasyonu mL'de

yaklaşık  $10^7$ 'ye kadar çıkarken; işlem görmüş sütte bu değer yaklaşık 400 civarında kalmıştır (Dunn ve Pearlman 1987).

Sıvı yumurtalardaki bir çalışmada 36 kV civarında pik voltajlarına sahip atımlarla PEF uygulaması yapılmıştır (Dunn ve Pearlman 1987). Bu araştırmada kullanılan numuneler yumurta sarısının bir bölümü alınmış sıvı yumurtalar, ısıyla pastörize edilmiş sıvı yumurta ürünleri ve koruyucu olarak potasyum sorbat ve sitrik asit ilave edilmiş yumurta ürünleridir. Çalışma kapsamında yer alan 8 üründe PEF'in etkisi ve pastörizasyon ve koruyucularla PEF'in hurdle etkisi değerlendirilmiştir. Karşılaştırmalar ürünlere gıda koruyucusu eklenmesi veya eklenmemesi, ısıyla pastörize edilmesi, düşük ( $4^{\circ}\text{C}$ ) ve yüksek ( $10^{\circ}\text{C}$ ) buzdolabı sıcaklıklarında depolanması ve farklı uygulama sıcaklıklarında ( $50$  ve  $60^{\circ}\text{C}$ ) proses edilmesine göre yapılmıştır. Bu çalışma raf ömrünün uzatılmasında hurdle etkinin önemini vurgulamıştır. Düşük sıcaklıkta depolanmış bir yumurta üründe  $2.7$  log kob/mL civarında olan mikrobiyal yük  $10^{\circ}\text{C}$ 'de depolama yapıldığında 4 gün boyunca düşük seviyelerde kalırken;  $4^{\circ}\text{C}$ 'de depolandığında daha yüksek seviyelere çıkmaktadır. Buna göre hurdle etkinin verimliliğinin düşük sıcaklıklarda depolanmada daha belirgin bir şekilde görüldüğü söylenebilmektedir.

Qin ve ark. (1996) koaksial uygulama odası kullanarak yaptıkları çalışmada elma suyunda *S. cerevisiae*'nin  $22-34^{\circ}\text{C}$ 'de 10 atımlık  $35$  kV/cm'lik elektrik alan şiddetine sahip PEF uygulaması sonucunda  $6$  log kob/mL düzeyinde azaldığını aktarmıştır.

UHT uygulaması yapılmış süt *E. coli*, *L. brevis*, *Pseudomonas fluorescens* veya *S. cerevisiae* ile inoküle edilmiş ve daha sonra  $10-30$  kV/cm'lik  $1-22$  Hz atım frekansında PEF uygulaması yapılmıştır. Elektrik alan şiddetinin eşiği  $10$  kV/cm'dir. Bu

eşiğin altında test edilen mikroorganizmaların arasında hiçbir mikroorganizmanın inhibisyonu gerçekleşmemiştir. Sütün yüksek yağ içeriği PEF'in öldürücü etkisini azaltmıştır. Farklı tiplerde mikrobiyal sporlar içeren UHT süte 22 kV/cm'lik PEF uygulaması yapılmıştır. PEF uygulamasının *Clostridium tyrobutyricum* ve *Bacillus cereus* endosporlarını ve *Beauveria nivea* askosporlarını belirgin bir şekilde inhibe etmediği görülmüştür (Grahl ve Markl 1996).

Simpson ve ark. (1996) konsantreden hazırlanmış ve 4°C'de depolanmış elma suyuna PEF uygulamış ve yapılan analizler sonucunda askorbik asit veya şekerlerde (glukoz, fruktoz ve sukroz) fiziksel ve kimyasal değişikliklere rastlamamıştır. Bunun yanı sıra kontrol numunelerinde ve PEF uygulanmış numunelerde pH'nın 4.1-4.36 aralığında olduğu; PEF uygulanmamış elma suyunun konduktivitesinin PEF uygulanmış olandan çok az yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum işlem görmemiş elma suyunda mineral konsantrasyonlarının (Ca, Mg, Na ve K) daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Konsantreden hazırlanmış ve işlem görmüş elma suyunda raf ömrü 4 hafta iken; taze sıkılmış ve işlem görmüş elma suyunda bu süre 3 haftaya kadar uzatılmıştır. PEF uygulanmış ve uygulanmamış konsantre ve taze sıkılmış meyve sularında yapılan duyu analizlerde de belirgin bir fark görülmemiştir.

Vega-Mercado ve ark. (1996c) PEF uygulaması yapıldıktan sonra buzdolabı sıcaklığında, oda sıcaklığında (22-24°C) ve yüksek sıcaklıkta (32-34°C) depolanmış bezelye çorbasında mikrobiyal ve kimyasal analizler ve raf ömrü çalışmaları yapmıştır. PEF uygulaması yapılmış ve buzdolabı sıcaklığında depolanmış bezelye çorbasının raf ömrünün 4 haftadan uzun olduğu; fakat hem 22 hem de 32°C'de bekletilmiş ürünlerin depolama için uygun olmadığı görülmüştür. İşlem görmüş bezelye çorbasında hemen

PEF prosesi sonrasında ya da buzdolabı sıcaklığında 4 haftalık depolama sonrasında fiziksel, kimyasal özelliklerde ve duyu analizlerde belirgin bir değişiklikle karşılaşmamıştır.

Harrison ve ark. (1997) 40 kV/cm'lik PEF uygulaması yapılan elma suyuna inokule edilen *S. cerevisiae* sayısının  $8 \times 10^7$ 'den  $4 \times 10^4$  kob/mL'ye düştüğünü belirtmiştir. Elma suyunda PEF uygulanmış *S. cerevisiae*'nin TEM mikrografikleri PEF uygulamasının maya hücrelerinin yıkımına neden olduğunu ve toplam ribozom gövdelerinin hemen hemen yok olmasına neden olduğunu göstermiştir.

Vega-Mercado ve ark. (1997)'nin yaptığı çalışmada ise konsantreden hazırlanmış ve PEF uygulanmış elma suyu oda sıcaklığında depolanmış (22-25°C) olup 8 haftadan uzun bir süre fizikokimyasal ve duyu özelliklerinde belirgin bir değişikliğe rastlanmamıştır. Aynı şekilde taze sıkılmış elma suyunun özelliklerinde de değişikliğe rastlanmadan 32 gün süreyle depolanabilmiştir.

Zhang ve ark. (1997) pilot işletme ölçekli PEF sistemi kullanarak portakal suyunda raf ömrü çalışması yapmıştır. Çalışmada donmuş konsantreden hazırlanmış portakal suyu kullanılmış olup farklı dalga formlarında inceleme yapılmıştır. Kare dalgalı atımların en etkili olduğu ve diğer dalga formlarına göre daha uzun raf ömürlü ürün elde edilmesini sağladığı görülmüştür. Bu çalışmanın bir bölümünde farklı sıcaklıklarda ısı ve PEF uygulamaları yapılmış meyve sularındaki C vitamininin kayıpları incelenmiştir. PEF uygulaması yapılmış portakal sularındaki C vitamini kayıplarının ısı uygulaması yapılmış olanlardan daha az olduğu görülmüştür. Renk ve aroma değerlendirmesi aşamalarında ise PEF uygulanmış numunelerde rengin daha iyi korunduğu ve bu numunelerin daha iyi bir aromaya sahip olduğu aktarılmıştır.

Rekonstitüe yabanmersini suyunda 35 kV/cm'de 195 µs parametrelerinde pilot ölçekli PEF uygulamasının mikroorganizmaların inhibisyonu üzerindeki etkileri Jin ve Zhang (1998) tarafından incelenmiştir. PEF uygulamasının toplam aerobik bakteri sayısını, küf ve maya sayısını 4 log kob/mL kadar azalttığı görülmüştür. PEF uygulanmış yabanmersini suyunun raf ömrünün 4°C'de 8 ay, 22°C'de 37 gün, 37°C'de ise 30 gün olduğu belirtilmiştir.

Raso ve ark. (1998) *Z.bailii* askosporlarını ve vejetatif hücrelerini inaktive etmek için elma, portakal, ananas, kızılcık ve üzüm sularında yaptığı çalışmada askosporların vejetatif hücrelere göre daha dayanıklı olduğunu; fakat uygulamanın hem vejetatif hücrelere hem de askosporlara karşı oldukça etkili olduğunu aktarmıştır. Her bir meyve suyunda üründen ürüne farklı bir şekilde 32-36.5 kV/cm'lik elektrik alan şiddeti aralığında 2 atımlık uygulama yapılmış olup; vejetatif hücrelerin veya askosporların 3.5 ve 5 log kob/mL arasında azalma gösterdiği belirtilmiştir.

Sharma ve ark. (1998) 32 kV/cm'de 92 µs'lik PEF uygulamasının peynir altı suyuyla kuvvetlendirilmiş portakal suyunda küf ve maya sayılarını  $1.4 \times 10^5$  kob/mL'den 40 kob/mL'nin altına düşürdüğünü aktarmıştır. PEF uygulaması yapılmış proteinle güçlendirilmiş portakal suyunun mikrobiyolojik olarak 4°C de 5 ay süreyle stabil kaldığı belirtilmiştir.

Yabanmersini suyunda 40 kV/cm'de 150 µs'lik PEF uygulaması toplam aerobik bakteri sayısını, küf ve maya sayısını 5 log kob/mL kadar azaltmıştır. PEF uygulaması bu üründe 4 °C'de 14 gün boyunca küf ve mayaların gelişimini önlemiştir (Jin ve ark., 1999).

Elma suyunda yapılan bir çalışmada 34 kV/cm ve 166 µs uygulama süresine sahip laboratuvar ölçekli PEF uygulaması inoküle edilen *E. coli* O157:H7 sayısını 4.5

log kob/mL azaltmıştır (Evrendilek ve ark., 2000). Benzer şekilde 35 kV/cm'de 94 µs uygulama süresine sahip pilot ölçekli PEF uygulaması elma suyunun ve elma şarabının mikrobiyal raf ömrünü önemli ölçüde artırmıştır. Benzer şekilde 35 kV/cm'de 94 µs'lik PEF uygulaması ve 60°C'de 30 s ısı uygulaması kombinasyonu yapılan elma şarabının raf ömrünün hem 4°C'de hem de 22°C'de 67 günden fazla olduğu belirtilmiştir.

*Leuconostoc mesenteroides*, *E. coli* ve *Listeria innocua* inokule edilen ve 30 kV/cm'de PEF uygulaması yapılmış portakal suyu incelenmiş ve her üç bakteride de 5 log kob/mL birimden fazla azalma görülmüştür. 50 kV/cm'de PEF uygulamasının portakal suyunda *S. cerevisiae* askosporlarında 2.5 log kob/mL birim azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (McDonald ve ark., 2000).

Pilot ölçekli PEF sisteminde 35 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinin 59 µs'de uygulamasının portakal suyunun mikrobiyal stabilitesindeki etkisi 94.6°C'de 30 s'lik ısı uygulamasıyla karşılaştırılabilir düzeydedir. PEF uygulamasının portakal suyunda endojen mikroorganizmaların sayısını azalttığı ve 4, 22 ve 37°C'de 112 gün boyunca mikroorganizmaların sayısını 1 log kob/mL seviyesinde sürdürdüğü görülmüştür (Yeom ve ark., 2000).

Aronsson ve ark. (2001)'nin yaptıkları çalışmada bir model besiyerinde PEF proses parametrelerinin *E. coli*, *L. innocua*, *L. mesenteroides* ve *S. cerevisiae*'nin inaktivasyonundaki etkilerini incelemiştir. Bu çalışmada elektrik alan şiddeti 25-35 kV/cm, atım genişliği 2-4 µs ve atım sayısı 20-40 aralıklarında ayarlanmıştır. Model besiyerindeki mikroorganizmalar 30 kV/cm'lik elektrik alan büyüklüğüne sahip, 20 atımlık 4 µs uygulama süresine maruz bırakıldıklarında *S. cerevisiae* 6 log kob/mL azalarak en fazla hassasiyeti göstermiştir. Bu koşullarda *E. coli* ise 5.4 log kob/mL azalma göstermiştir. *L. innocua* ve *L. mesenteroides* bu proses koşullarına en fazla

dayanıklılığı gösterip yalnızca 3 log kob/mL azalma göstermiş olup; elektrik akım şiddeti 35 kV/cm, atım genişliği 4  $\mu$ s ve atım sayısı ise 40 olduğunda ise bu mikroorganizmalarda sırasıyla 8 ve 7 log kob/mL azalma görülmüştür.

Hem PEF (32 kV/cm elektrik alan şiddetinde, 500 atım/s frekansta, 1.4  $\mu$ s atım genişliğinde ve 47  $\mu$ s uygulama süresinde) uygulaması ve hem de ısı uygulaması (60°C–32 s) ile kombine PEF uygulaması 4 veya 22°C’de depolanan yabanmersini suyuna 97 günlük raf ömrü sağlamıştır. Her iki uygulama da yaban mersini suyunun rengini değiştirmemiştir (Evrendilek ve ark., 2001).

Ticari ölçekli PEF uygulamasının portakal suyundaki endojen mikroorganizmaların üzerindeki etkileri 40 kV/cm’de 97  $\mu$ s’lik proses parametrelerinde incelenmiştir (Min ve ark., 2003a). Ticari ölçekli PEF uygulaması portakal suyunda toplam aerobik bakteri sayısını, küf ve maya sayısını 6 log kob/mL azaltmıştır. Ticari ölçekli PEF sistemiyle uygulama yapılmış taze portakal suyunun 4°C’de 196 günlük mikrobiyolojik raf ömrüne (< 4 log kob/mL toplam aerobik bakteri, küf ve maya sayısı) sahip olduğu belirtilmiştir.

Domates suyunda ticari ölçekli PEF uygulaması (40 kV/cm’de 57  $\mu$ s) endojen mikroorganizmaları 6 log kob/mL düzeyinde inhibe etmiştir. PEF uygulanmış meyve sularının 4°C’de 112 günlük mikrobiyolojik raf ömrüne (< 4 log kob/mL toplam aerobik bakteri, küf ve maya sayısı) sahip olduğu görülmüştür. 4°C’de 112 günlük depolama sırasında PEF uygulanmış domates suyunda mikrobiyal gelişimin 92°C’de 90 s’lik ısı uygulamasından daha hızlı olduğu anlaşılmıştır. Bu durumun PEF tarafından sporların ısı uygulamasına göre daha az inhibe olmasına bağlı olarak gerçekleştiği ve hayatta kalan sporların depolama sırasında çimlenmesine bağlı olduğu belirtilmiştir (Min ve ark., 2003b).

Beveridge ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada pepton, bira ve şarapta PEF uygulamasıyla *Z. bailii* ve *L. brevis*'in inaktivasyonları karşılaştırılmıştır. *L. brevis*'in peptonda yalnızca 1.9 log kob/mL azalma gösterdiği belirtilmiş olup; bu ortamda PEF uygulamasına daha dirençli olduğu belirtilmiştir. Bunun yanı sıra %4.1 oranında alkol içeriğine sahip olan birada 200 atımla; şarapta ise 90 atımla tamamen inaktive olduğu görülmüştür. *Z. bailii*'nin ise *L. brevis*'den daha duyarlı olduğu aktarılmıştır. Bu mikroorganizma peptonda yaklaşık 6 log kob/mL kadar azalma göstermiş; birada 60 atımla şarapta ise 30 atımla tamamen inaktive olmuştur.

Sıvı yumurtada inokule edilmiş *S. Enteritidis*'de PEF ve 55°C'de 3.5 dak ısı uygulamasının kombinasyonu sonucu 4.3 log kob/mL azalma sağlanmıştır. Kombine uygulama viskozitede, elektriksel konduktivitede, renkte, pH'da ve °Briks derecesinde hiçbir uygulama yapılmamış kontrollere göre önemli değişikliklere neden olmamıştır. Kombine uygulama yapılmış sıvı yumurtada raf ömrünün 4°C'de kontrollere ve yalnızca ısı uygulanmış örneklerle göre daha uzun raf ömrüne sahip olduğu belirtilmiştir (Hermawan ve ark., 2004).

Amiali ve ark. (2005) sıvı yumurtada PEF uygulamasının *E. coli* O157:H7 ve *S. Enteritidis* üzerindeki etkilerini incelemiştir. Öncelikle sıvı yumurtaya 10<sup>8</sup> kob/mL *E. coli* O157:H7 veya *S. Enteritidis* inokule edilmiş olup; daha sonra 10, 20 veya 30°C uygulama sıcaklıklarında 20 veya 30 kV/cm elektrik alan şiddetinde PEF uygulamaları yapılmıştır. Bu uygulamalarda 2 µs atım genişliğe sahip, 105 atımlık çift fazlı ani geri dönüşümlü dalga modeli kullanılmıştır. Bakteriyel inaktivasyonun elektrik alan büyüklüğü, atım sayısı ve işlem sıcaklığının artmasıyla arttığı aktarılmıştır. *E. coli* O157:H7'de en fazla 3.9 log kob/mL azalma görülürken; *S. Enteritidis*'de ise en fazla 3.6 log kob/mL azalma görülmüştür.

Sepulveda ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada pilot ölçekli PEF sistemini HTST sütte 35 kV/cm'lik elektrik alan şiddetine, 2.3 µs'lik atım genişliğine sahip, 65°C uygulama sıcaklığında ve en az 10 s süren PEF uygulaması için kullanılmıştır. HTST pastörizasyon uygulamasından hemen sonra PEF uygulamasının sütün raf ömrünü 60 güne uzattığı belirtilmiştir. Raf ömrünün uzaması (78 gün) HTST pastörizasyondan 8 dak sonra PEF uygulaması yapılmasıyla daha belirgin bir hale gelmiştir.

Marsellés-Fontanet ve Martín-Belloso (2007)'nin yaptıkları çalışmada üzüm suyu 40°C uygulama sıcaklığının altında proses edilmiş olup; bu prosesle renk, aroma ve tatta belirgin değişikliklere neden olan oksidoreduktaz özellikte olan polifenoloksidaz ve peroksidaz enzimlerinin doğal aktiviteleri azaltılmıştır. Uygulama süresi, elektrik akım şiddeti ve atım frekansının bu enzimlerin rezidüel aktivitesi üzerinde belirgin bir etkisi görülmüştür. Bu aktivite bahsedilen parametreler arttıkça azalmıştır. Atım genişliği de belirgin bir meyil göstermeden peroksidaz inaktivasyonunu etkilemiştir. Bu açıklamalara göre 630 Hz atım frekansında, 5 µs'lik atım genişliğinde ve 35 kV/cm'lik elektrik akım şiddetine sahip uygulama sonrasında hiç polifenoloksidaz aktivitesi gözlenmemiştir. Bunun yanı sıra aynı uygulama süresinde 1000 Hz atım frekansında 30.2 kV/cm'lik uygulamayla peroksidaz aktivitesinde %58.13'lük azalma görülmüştür. Farklı atım genişlikleri kullanılan uygulamalar arasındaki farklılıklar küçük olmasına rağmen en kısa atım genişliği en düşük peroksidaz aktivitesini vermiştir.

Kavun ve karpuz sularına *S. Enteritidis*, *E. coli* ve *L. monocytogenes* inoküle edilerek, bu mikroorganizmalar üzerinde PEF prosesinin etkileri Mosqueda-Melgar ve ark. (2007) tarafından incelenmiştir. Bu çalışmada kavun ve karpuz sularına inoküle edilmiş bu mikroorganizmalara 35 kV/cm elektrik alan şiddetinde, bipolar moda, kare dalga modeline ve 4 µs atım genişliği parametrelerine sahip PEF uygulaması yapılmıştır.

Ayrıca bu mikroorganizmalara farklı seviyelerde uygulama süresi ve atım frekansı uygulanarak bu parametrelerdeki farklılıkların mikroorganizmalar üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Uygulama süresinin atım frekansından daha etkili olduğu görülmüştür. Kavun suyunda 1440  $\mu$ s uygulama süresi ve 217 Hz atım frekansı parametrelerinde *S. Enteritidis*, *E. coli* ve *L. monocytogenes* popülasyonlarının sırasıyla  $3.71 \pm 0.17$ ,  $3.7 \pm 0.3$  ve  $3.56 \pm 0.26$  log kob/mL azaldığı; karpuz suyunda 1727  $\mu$ s uygulama süresi ve 188 Hz atım frekansı parametrelerinde ise bu oranların  $3.56 \pm 0.12$ ,  $3.6 \pm 0.4$  ve  $3.41 \pm 0.13$  log kob/mL olduğu belirtilmiştir. Bu araştırma sonucunda aynı proses koşullarında her iki meyve suyunda da 3 mikroorganizmanın da konsantrasyonlarında azalma görüldüğü; ancak *L. monocytogenes* in PEF'e *S. Enteritidis* ve *E. coli*'den daha dayanıklı olduğu aktarılmıştır.

Pina Pérez ve ark. (2007) PEF in tamponlanmış peptonlu suda (BPW) ve toz bebek maması formülasyonunda (IFM) inoküle edilmiş olan *Enterobacter sakazakii* üzerindeki etkisini incelemiştir. PEF prosesi için elektrik alan şiddeti 10-40 kV/cm ve uygulama süresi ise 60-3895  $\mu$ s olarak ayarlanmıştır. Tamponlanmış peptonlu su (3 g/L) ve IFM *E.sakazakii* ( $10^9$  kob/mL) ile inoküle edildikten sonra PEF prosesi uygulanmıştır. 40 kV/cm'de 360  $\mu$ s (atım genişliği: 2.5  $\mu$ s) PEF uygulamasından sonra BPW de *E.sakazakii* konsantrasyonunda 2.7 log kob/mL azalma görülürken; aynı koşullarda PEF uygulaması yapılan IFM deki *E.sakazakii* konsantrasyonunda 1.2 log kob/mL azalma görülmüştür. Elektrik akım şiddetinin ve uygulama süresinin artmasıyla her iki ortamda da inaktivasyonunun arttığı görülmüştür.

*Penicillium expansum* inoküle edilen vişne suyu, kayısı ve şeftali nektarlarında PEF in inhibitör etkileri çimlenme organının uzaması, spor çimlenme hızına göre ışık ve scan elektron mikroskopuyla (SEM) Evrendilek ve ark. (2008) tarafından

değerlendirilmiştir. Meyve suyu ve nektarların  $10^5$ - $10^6$  kob/mL seviyesinde *P.expansum* sporlarıyla inokülasyonu sonrasında; örnekler 0-34 kV/cm elektrik akım şiddeti ve 0-218  $\mu$ s uygulama süresi aralıklarında laboratuvar ölçekli PEF jeneratörüyle proses edilmiştir. Sonuçlar elektrik alan büyüklüğünde ve uygulama süresinde artışın çimlenme oranı uzamasını ve spor çimlenme hızını tamamen inhibe ettiğini belirtilmiştir. Işık ve SEM incelemeleri ise küf konidiyumunda sitoplazmanın koagülasyonu, büzülme ve protoplazma sızıntısı gibi belirgin morfolojik değişiklikler olduğunu göstermiştir. Buna göre meyve suları ve nektarlarda PEF prosesinin *P.expansum*'un inaktive edilmesinde etkili olduğu belirtilmiştir.

Mosqueda-Melgar ve ark. (2008) kavun ve karpuz sularında patojen mikroorganizmaları yok etmek için PEF ile antimikrobiyal maddelerin kombine olarak kullanımına yönelik bir çalışma yapmıştır. Bu amaçla kavun ve karpuz sularına inoküle edilmiş *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis* ve *L. monocytogenes*'e PEF ile sitrik asit (%0.5-2.0) veya tarçın kabuğu yağı (%0.05-0.30) uygulamaları yapılmıştır. Ayrıca bu uygulamaların ürünlerin raf ömrü üzerindeki etkileri de değerlendirilmiştir. *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis* ve *L. monocytogenes* popülasyonlarının sırasıyla %2 ve %1.5 konsantrasyonunda sitrik asit veya %0.2 konsantrasyonunda tarçın kabuğu yağı içeren ve 193 Hz atım frekansında, 4  $\mu$ s atım genişliğine, 1709  $\mu$ s uygulama süresine ve 35 kV/cm elektrik alan şiddetine sahip PEF uygulaması ile proses edilmiş kavun suyunda ve 193 Hz atım frekansında, 4  $\mu$ s atım genişliğine, 1682  $\mu$ s uygulama süresine ve 35 kV/cm elektrik alan şiddetine sahip PEF uygulaması ile proses edilmiş karpuz suyunda 5 log kob/mL daha fazla azaldığı görülmüştür. Aynı zamanda bu uygulamaların mezofilik, psikrofilik popülasyonları ve maya ve küf popülasyonlarını inaktive edebildiği, ürünlerin raf ömrünün 5°C'de 91 günden daha uzun olmasına neden olduğu belirtilmiştir. Bu

ürünlerin işlem öncesi ve işlem sonrası tat ve kokusunda herhangi bir farklılık görülmemiştir.

Ratanatriwong ve ark. (2008) nın yaptıkları çalışmada öncelikle sütlaca benzer pirinç pudingi olarak formüle edilmiş bir ürün hazırlanmış ve hazırlanan bu ürüne PEF prosesi uygulanmadan önce uygun parametreler belirlenmiş, sonrasında PEF prosesi uygulanmış ve PEF uygulanmış bu üründe raf ömrünün değerlendirilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Sütlac 30 s'lik orta dereceli ısı uygulaması ve PEF ile proses edilmiştir. Kullanılan PEF proses parametrelerinden ise elektrik alan şiddeti 33 kV/cm, akış hızı 100 L/h, atım genişliği 1.47  $\mu$ s ve atım frekansı ise 500 atım/s olarak belirlenmiştir. Örnekler aseptik olarak paketlenmiş olup; 94 gün boyunca 4°C'de muhafaza edilmişlerdir. Raf ömrü çalışması boyunca pH, renk, toplam aerobik bakteri sayısı (TPC) ve toplam maya ve küf sayısı (TMY) ölçülmüştür. pH, TPC ve TMY sonuçlarına göre 55°C'de PEF uygulanmış ürünlerin raf ömrünün kontrol örneklerine göre belirgin bir şekilde uzun olduğu görülmüştür. İşlem görmüş ve kontrol örneklerindeki renk değerlerinin ise birbirinden belirgin bir şekilde farklı olmadığı belirtilmiştir.

Isı ile kombine olarak gerçekleştirilen PEF uygulamasında 1700  $\mu$ s uygulama süresi, 35 kV/cm elektrik alan şiddeti, bipolar dalga boyu, 100 Hz atım frekansı ve 4  $\mu$ s atım genişliği veya 90°C'de 30 veya 60 s ısı uygulaması yapılmış çilek sularında aromanın ve aromayı sağlayan enzimlerin aktivitelerinin değerlendirildiği bir araştırma yapılmıştır (Aguiló-Aguayo ve ark., 2009a). Bu prosesler sonucunda ürünler 56 gün süresince depolanmıştır. Depolama süresinde prosese uğramış örneklerde proseslerin tipik çilek aromasını veren lipoksigenaz (LOX) ve  $\beta$ -glukozidaz ( $\beta$ -GLUC) enzimlerinin uçucu bileşik üretimindeki aktiviteleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. İlk 28

günlük depolama boyunca PEF uygulanmış çilek suyunun ısı uygulanmış çilek suyuna göre daha fazla rezidüel LOX aktivitesine sahip olduğu aktarılmıştır. Bundan başka  $\beta$ -GLUC'ın PEF prosesinin hemen sonrasında aktivitesini arttırdığı belirtilmiştir. Aroma bileşenlerinden etil butanoat ve 1-butanol konsantrasyonlarının PEF prosesi sonrasında termal prosese göre daha iyi korunduğu görülmüştür. Termal proses uygulanmış örneklerde 35. günden sonra 1-butanol miktarında artış gözlenmiş olup; bu artış üründe istenmeyen bir aromaya neden olmuştur. Bu nedenle, depolama boyunca PEF ile proses edilen çilek suyunda aroma stabilitesinin termal olarak proses edilmiş örneklere göre daha iyi olduğu aktarılmıştır.

Aguiló-Aguayo ve ark. (2009b) tarafından yapılan bir başka çalışmada 1700  $\mu$ s uygulama süresi, 35 kV/cm'lik elektrik alan şiddeti, bipolar moda, 100 Hz atım frekansına ve 4  $\mu$ s atım genişliğine sahip PEF uygulamasının çilek suyunda renk, viskozite, pektin metilesteraz ve poligalakturanaz aktiviteleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. PEF uygulaması 63 günlük depolama süreci boyunca 90°C'de 60 s veya 30 s ısı uygulamalarıyla karşılaştırılmıştır. PEF uygulaması yapılmış çilek suyunda  $L^*$  değerleri ve viskozite değerlerinin ısı işlem uygulanmış olanlardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Buna ilaveten, PEF uygulaması yapılmış meyve suyunun ısı işlem uygulanmış olanlara göre daha düşük 5-(hidroksimetil)-2-furfural (HMF) konsantrasyonuna ve esmerleşme indeksine sahip olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan, 63 gün boyunca PEF uygulaması yapılmış olan meyve suyunun daha düşük rezidüel pektin metilesteraz (PME) aktivitesini sürdürdüğü (%13.1); 60 s ısı uygulaması yapılanlarda bu oranın %22.2, 30 s ısı uygulaması yapılanlarda ise %48.8 oranında kaldığı aktarılmıştır. Poligalakturanaz aktivitesi bakımından ise PEF prosesi uygulanmış olan meyve suyunun (%73.7) 90°C'de 60 s (%76.2) veya 30 s ısı işlem uygulanmış

olanlardan (%96.8) daha düşük seviyede olduğu görülmüştür. Buna göre, depolama sırasında PEF uygulamasının esmerleşme ve viskozite kaybını minimize etme bakımından ısı işlem prosesine alternatif bir proses olduğu belirtilmiştir.

Puértolas ve ark. (2009) şarapta bozulmaya neden olan mikroorganizmalardan *Dekkera anomala*, *Dekkera bruxellensis*, *Lactobacillus hilgardii* ve *Lactobacillus plantarum*'a şırada ve şarapta 24°C'de 10-350 kJ/kg'lık spesifik enerji ve 16-31 kV/cm elektrik alan şiddeti aralığında PEF uygulamasının inaktivasyon derecesini incelemiştir. Şırada ve şarapta bozulmaya neden olan florada %99.9 azalmanın görüldüğü optimum uygulamada elektrik alan şiddetinin 29 kV/cm ve spesifik enerjinin ise 186 kJ/kg olduğu belirtilmiştir.

PEF prosesinin enzimlerin üzerindeki etkilerini değerlendirmek üzere gıda endüstrisinde peynirlerin olgunlaştırılmasında ve diğer süt ürünlerinde kullanılan pepsin enziminin model seçildiği bir çalışma Zhao ve Yang (2009) tarafından yapılmıştır. Pepsin çözeltileri 0-500 µs uygulama süresi aralığında 25.2, 30.4 ve 35.6 kV/cm elektrik alan şiddetlerinde PEF prosesine uğratılmıştır. Pepsini inaktive etmek için her bir elektrik alan şiddetinde ayrı bir kritik uygulama süresinin olduğu belirtilmiştir. Pepsin proteinin çökmesi 35.6 kV/cm elektrik alan şiddetinde ve 300 µs uygulama süresinde belirgin bir şekilde görülmüştür. Protein çökme oranının PEF prosesi uygulama süresinin artmasıyla arttığı belirtilmiştir.

Yukarıda açıklanan bilgiler ışığında bu çalışma kapsamında PEF prosesinin kırmızı şarapların pastörizasyonu amacıyla kullanım olanağı araştırılacak ve PEF prosesinin kırmızı şarapların fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkileri incelenecek olup, kırmızı şaraplara inoküle edilen *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus bulgaricus*, *Candida lipolytica* (*Yarrowia lipolytica*), *Saccharomyces*

*cerevisiae* ve *Hansenula anomala* üzerine olan inhibitif etkileri araştırılacaktır. Elde edilen sonuçlara göre PEF prosesinin kırmızı şaraplarda fermantasyonun sonlandırılması aşamasında tek başına veya kükürt ile kullanımı konusunda tavsiyelerde bulunulması hedeflenmektedir.

### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Kırmızı Şarap**

Araştırmada kullanılan kırmızı şaraplar Dimes Gıda Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi'nden (Tokat, Türkiye) temin edilmiştir.

##### **3.1.2. Mikroorganizmalar**

Araştırmada kullanılan mikroorganizmalardan *Candida lipolytica* (*Yarrowia lipolytica*), *Lactobacillus bulgaricus*, *Hansenula anomala* ve *Saccharomyces cerevisiae* Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nün kültür koleksiyonundan elde edilmiştir. *Escherichia coli* O157:H7 (EDL 931 04054), kültürü Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Tıp Refik Saydam Kültür Koleksiyonu (RSKK) Laboratuvarı'ndan (Ankara, Türkiye) liyofilize formda satın alınmıştır.

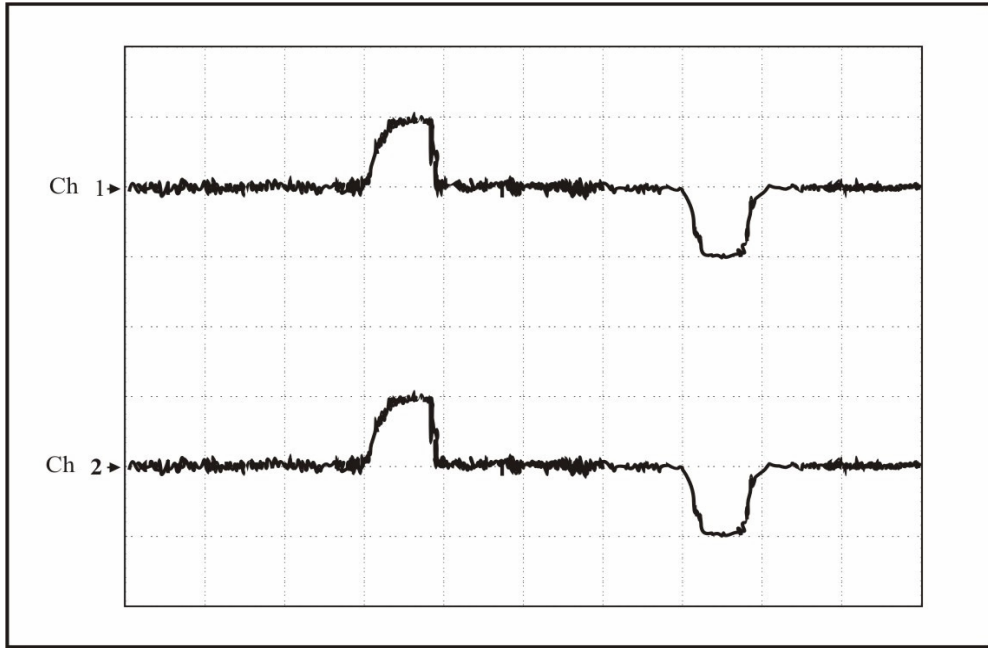
##### **3.1.3. Atımlı Elektrik Akım (PEF) Jeneratörü**

Deneylerde laboratuvar ölçekli sürekli OSU-4A (Şekil 3.1) atımlı elektrik akımı jeneratörü kullanılmıştır. PEF atım jeneratörüne monte edilmiş ve birbirine paralel olarak bağlanmış 0.23 cm çapa sahip ve birbirlerinden 0.292 cm uzaklığa sahip elektrotları içeren; elektrik akımı ve gıdanın birbirine paralel olarak akışını sağlayan 6

adet uygulama odacığı ürünün prosesinde yer almıştır. Her bir uygulama odacığından önce ve sonra sıvı örneğin uygulama odacıklarına taşınımını sağlayan ince paslanmaz çelik boruların dış kısmına yerleştirilmiş olan K-tipi sıcaklık ölçüm cihazları ile giriş ve çıkış sıcaklıkları (T2-T1, T4-T3 ve T6-T5) ölçülmüştür (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, ABD). Uygulanan elektrik akımının frekansı, her bir atımın dalga genişliği ve ard arda gelen iki dalga arasındaki genişlik atım jeneratörü (Model 9310 Pulse Generator, Quantum Composer Inc., Bozeman, MT, ABD) vasıtasıyla ayarlanmıştır. İki kutuplu kare dalga boyu uygulanmış olup; uygulanan dalga boyunun elektrik akım şiddeti ve akıma karşı oluşturulan direnci osiloskop vasıtasıyla ölçülmüştür (Model TDS 210 Two Channel Digital Real Time Oscilloscope, Tektronix Inc., Beaverton, Oregon, ABD) (şekil 3.2). Gıdanın sabit akış hızında uygulama odacıklarına taşınımı için dişli pompa (EW-07002-23 model, Cole Palmer, Inst., Company, Vernon Hills, IL, ABD) kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Deneylerde kullanılan laboratuvar ölçekli PEF sistemi.



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

## 3.2 Metot

### 3.2.1. Mikroorganizmaların Hazırlanması

Çalışmada kullanılan *E. coli* O157:H7 (EDL 931 04054) kültürü sıvı triptik soy broth (TSB) besiyerine aktarılıp 3 pasaj yapılarak aktiveştirilmiştir. Aktiveştirilen kültürler bir gece  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edildikten sonra şarap örneklerine inoküle edilmiştir. Yatık agarda elde edilen *S.cerevisiae*, *H.anomala* ve *C.lipolytica* (*Y.lipolytica*) mayaları yeast ekstrakt peptone glukoz (YPG) brothda bir gece  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de aktiveştirildikten sonra şarap örneklerine inoküle edilmiştir. *L.bulgaricus* De Man Rogosa Sharpe (MRS) broth besiyerinde  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de aktiveştirildikten sonra şarap örneklerine inoküle edilmiştir.

### 3.2.2. Kırmızı Şaraba Atımlı Elektrik Akımı Uygulanması

Kırmızı şarabın PEF ile prosesi için değişik parametreler denenmiş olup ürünün pompa vasıtası ile akışı, viskozitesi ve kondaktivitesi göz önünde bulundurularak optimum parametreler belirlenmiştir. Çalışmalar iki ayrı grupta ele alınmış olup; birinci grupta elektrik alan şiddeti (kV/cm) ve uygulama sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ) bağımsız değişken olarak alınırken; ikinci bölümde ise elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi ( $\mu\text{s}$ ) bağımsız değişken olarak ele alınmıştır. Bu amaçla öncelikle akış hızı 40 mL/dak, atım genişliği 3  $\mu\text{s}$ , iki atım arasındaki zaman aralığı 20  $\mu\text{s}$ , atım frekansı 500 atım/s, uygulama süresi 164  $\mu\text{s}$  olarak belirlenmiş olup birinci grup uygulamalarda bu parametreler sabit iken elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığı değişken olarak

alınmış olup 10, 20 ve 30°C sıcaklıkların tamamında 0 (kontrol), 17, 24 ve 31 kV/cm uygulamaları gerçekleştirilmiştir. İkinci grup uygulamalarda ise elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi bağımsız değişken olarak alınmıştır. Uygulama sıcaklığı 20°C'ye ayarlanmış olup atım frekansının değiştirilmesiyle farklı uygulama süreleri elde edilmiştir. 109, 131 ve 164 µs uygulama sürelerinin tamamında 0 (kontrol), 17, 24 ve 31 kV/cm uygulamaları gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.3. Fiziksel ve Kimyasal Analizler**

#### **3.2.3.1. Asitlik**

PEF prosesi öncesi ve sonrası homojen olarak alınan 10 mL örneklerin asitliği Orion 420 A model pH metre (İnolab WTW, ALMANYA) ile ölçülmüştür.

#### **3.2.3.2. Titrasyon Asitliği**

Homojen olarak proses öncesi ve sonrası alınan 5 mL kırmızı şarap örneklerine 5 mL su ilave edilip homojen bir karışım haline getirdikten sonra 0.5 mL fenolftalein ayracı eklenip 0.1 N NaOH ile pH 8.3'e gelene kadar titre edilmiştir. Titrasyonda harcanan NaOH kaydedilip sonuçlar AOAC (1990)'ye göre hesaplanmıştır.

### **3.2.3.3. °Briks**

Suda çözünen toplam kuru madde (°Briks) tayini için proses öncesi ve sonrası alınan örnekler 507-1 model refraktometre (Nippon Optical Works Co. Ltd, JAPAN) kullanarak analiz edilmiştir. Sonuçlar °Briks derecesi olarak belirtilmiştir.

### **3.2.3.4. Kondaktivite Ölçümü**

Kondaktivite için proses öncesi ve sonrası alınan örnekler Sension 5 model, (HACH, CO, ABD) el kondaktivitesi yardımı ile ölçülmüş ve sonuçlar mS/cm olarak belirtilmiştir.

### **3.2.3.5. Renk Ölçümü**

Renk ölçümü Hunter Lab Color Flex Spektrofotometresi (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston VA, ABD) kullanılarak yapılmış olup; proses öncesi ve sonrasında alınan örneklerin renk ölçümleri için sonuçlar CSI sisteminde L\* (0: koyuluk, 100: açıklık), a\* (-: yeşillik, +: kırmızılık) ve b\* (-: mavilik, +: sarılık) değerleri olarak verilmiştir.

### **3.2.3.6. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini**

Toplam fenolik madde miktarı Spanos ve Wrolstad (1990)'ın belirttikleri Folin Ciocalteu belirteci kullanılan spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır. PEF prosesi

öncesi ve sonrasında alınan şarap örnekleri 760 nm dalga boyunda 0.5 veya daha az absorbans gösterecek şekilde seyreltilip; 0.45 µm membrandan filtre edilmiştir. Seyreltilmiş örnekten 1 mL tüpe alınmış olup; üzerine 5mL 0.2 N Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilip karıştırılmıştır. Daha sonra 4 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi ilave edilip tüp içeriği karıştırıldıktan sonra 50±5°C'ye ayarlanmış su banyosu içine yerleştirilerek 5 dakika beklenmiştir. Daha sonra hemen soğutulup, 760 nm'de absorbans ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerlerinden fenolik madde miktarını saptayabilmek için 100, 200, 300, 400 ve 500 mg/L'lik gallik asit çözeltilerinden standart eğri hazırlanmıştır.

#### **3.2.3.7. Toplam Antioksidan Kapasitesi Tayini**

Toplam antioksidan kapasitesi tayininde kontrol ve proses edilmiş şarap örneklerinden alınan 0.1 mL numunelere pH'sı 7.4'e ayarlanmış olan Tris-HCl tamponu ilave edilmiştir. Daha sonra 1 mL DPPH (etanaolde çözülmüş) eklenerek hızla karıştırılmıştır. Şarap örneğinde 30 dak. beklendikten sonra; kontrol örneğinde ise hiç bekletilmeden 517 nm dalga boyunda UV spektrofotometreyle absorbans ölçülmüştür. Ölçülen değerler formülde yerine konularak %antioksidan aktivite değeri bulunmuştur (Moon ve Terao 1998).

#### **3.2.3.8. Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarı Tayini**

Toplam monomerik antosiyanin miktarının saptanması tayininde kontrol ve proses edilmiş şarap örnekleri pH'sı 1.0 e ayarlanmış 0.025 M KCl ile seyreltilerek hızla

karıştırılmış ve 2 dakika bekledikten sonra 520 nm ve 700 nm dalga boylarında absorbanları okunmuştur. Aynı işlemler pH'sı 4.5 a ayarlanmış sodyum asetat çözeltisiyle seyreltme yapıldıktan sonra da uygulanmış ve okunan absorban değerleri formülde yerine konularak toplam monomerik antosiyanin miktarı hesaplanmıştır (Lee ve ark., 2005).

### 3.2.3.9. Mineral Madde Tayini

Bu yöntemle PEF prosesi öncesi ve sonrasında alınan şarap örnekleri içinde bulunan ve elektrotlardan geçebilecek metal iyon miktarının tespiti amacıyla Tarım ve Köyişleri Konya İl Kontrol Laboratuar Müdürlüğü'ndeki ICP-MS (Agilent, Japonya) cihazında Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Se, Cd, Sn, Hg ve Pb elementlerinin tespiti için analize tabi tutulmuştur. Bu amaçla mikrodalga vesseline 1 mL şarap örneği konulmuş ve üzerine yakmayı kolaylaştırmak amacıyla 0.5 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiştir. Daha sonra 2.5 mL %65'lik nitrik asit eklenmiştir. Yaklaşık 30 dakika bekleme süresinden sonra parçalanma reaksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı kontrol edilmiştir. Parçalanma reaksiyonu tamamlandıktan sonra vessel içindeki numune 140°C'de 20 dakika boyunca mikrodalga fırında (CEM MARS 5, ABD) yakılmış ve yakma işlemi sonrasında vesselden alınan örnek önce 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilip, polietilen tüpte ultra saf suyla 10 mL'ye tamamlandıktan sonra mineral madde konsantrasyonlarının okunması için cihaza verilmiştir. Ölçülen değerden seyreltme faktörü göz önünde bulundurularak minerallerin konsantrasyonları ppm düzeyinde hesaplanmıştır (Anonim, 2007).

### 3.2.4. Mikrobiyolojik Analizler

PEF uygulaması öncesi ve sonrası şarap örneklerinden alınan örnekler %0.1 peptonlu su ile seyreltilerek uygun dilüsyonlardan 0.1 mL alındıktan sonra mayalar için yeast ekstrakt pepton glukoz (YPG) agara, *E. coli* O157:H7 için plate count agara (PCA) ve *L.bulgaricus* için De Man Rogosa Sharpe (MRS) agara yayma yöntemiyle ekim yapılmış ve mayalar için petriler sırasıyla  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 3-5 gün, *E.coli* O157:H7 ve *L.bulgaricus* için  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Sayım sonuçları log kob/mL olarak verilmiştir.

### 3.2.5. Duyusal Analizler

PEF prosesi öncesi ve hemen sonrasında alınan şarap örnekleri üzerine rastgele belirlenmiş üç basamaklı sayıların yazılı olduğu polipropilen kaplara konularak, üzerinde iki örnek tadımı arasında ağızda kalan tadın ve burunda kalan kokunun giderilmesini sağlamak için bir miktar su ve kahve içeren bardakların bulunduğu tepsiyle birlikte panelistlere sunulmuştur. Panelistlerden örneklerin görsel inceleme, koklayarak inceleme ve tadarak inceleme bölümlerinden oluşan bir duyusal değerlendirme formunu doldurmaları istenmiştir. Bu formda görsel inceleme bölümü bulanıklık-berraklık, matlık-parlaklık, renk yoğunluğu, parçacık-partikül durumu ve yoğunluk-şarap gözyaşı parametrelerinden; koklayarak inceleme bölümü koku-aroma parametresinden; tadarak inceleme ise şarap tadı, acı tat varlığı, ekşi tat varlığı ve ağızda bıraktığı his parametrelerinden oluşmaktadır ve her bir parametrenin değerlendirilmesi 1'den 10'a puanları içeren 10'luk hedonik skalaya göre yapılmıştır.

### 3.2.6. Verilerin Analizi

Veri analizinde elektrik alan şiddeti, uygulama süresi, ve uygulama sıcaklığı bağımsız değişken olarak ele alınmış olup her bir değişkenin ölçülen özellikler veya mikrobiyal inaktivasyon üzerindeki etkisi test edilmiştir. Verilerin analizinde tek yönlü ANOVA kullanılmış olup uygulamalar arasındaki farklılıklar Tukey's çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Minitab (13.1 versiyon) istatistik programı kullanılmıştır ( $\alpha:0.05$ ).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

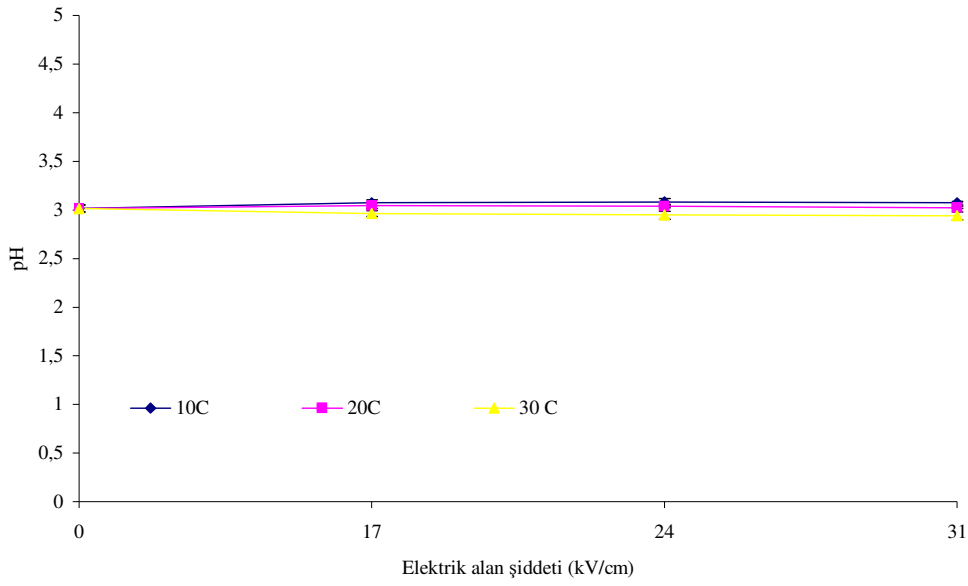
### 4.1. Kırmızı Şarapta Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler

#### 4.1.1. Atımlı elektrik akımı (PEF) uygulamasında elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının kırmızı şarabın fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisi

Bu çalışma kapsamında elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığı değişken parametreler olarak ele alınmıştır. Kontrol örneklerinde ve PEF prosesi uygulanmış örneklerde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmış ve meydana gelebilecek değişimler incelenmiştir. Kırmızı şarap elektrik alan şiddetinin bir fonksiyonu olarak 0 (kontrol), 17, 24 ve 31 kV/cm'lik elektrik alan şiddetlerinde ve proses uygulama sıcaklığının bir fonksiyonu olarak 10, 20 ve 30°C uygulama sıcaklıklarında proses edilmiştir.

10, 20 ve 30°C sıcaklık uygulamalarında atımlı elektrik akımı ile proses edilen kırmızı şarap örneklerinde PEF prosesi öncesi ve sonrası şarap örneklerinin pH değerleri ölçülmüştür. Buna göre kontrol örneklerinin pH değeri  $3.01 \pm 0.04$  olarak tespit edilmiştir. Uygulamadaki en düşük elektrik alan şiddeti olan 17 kV/cm'de uygulama sıcaklığının 10°C'ye ayarlandığı proses sonucunda ölçülen pH değeri  $3.07 \pm 0.03$ , 20°C'ye ayarlandığı proses sonucu ölçülen pH değeri  $3.05 \pm 0.03$  ve 30°C'ye ayarlandığı proses sonucu ölçülen pH değeri ise  $2.96 \pm 0.03$ 'dür. Uygulamadaki en yüksek elektrik alan şiddeti olan 31 kV/cm değerinde 10, 20 ve 30°C sıcaklık uygulamaları sonrasında

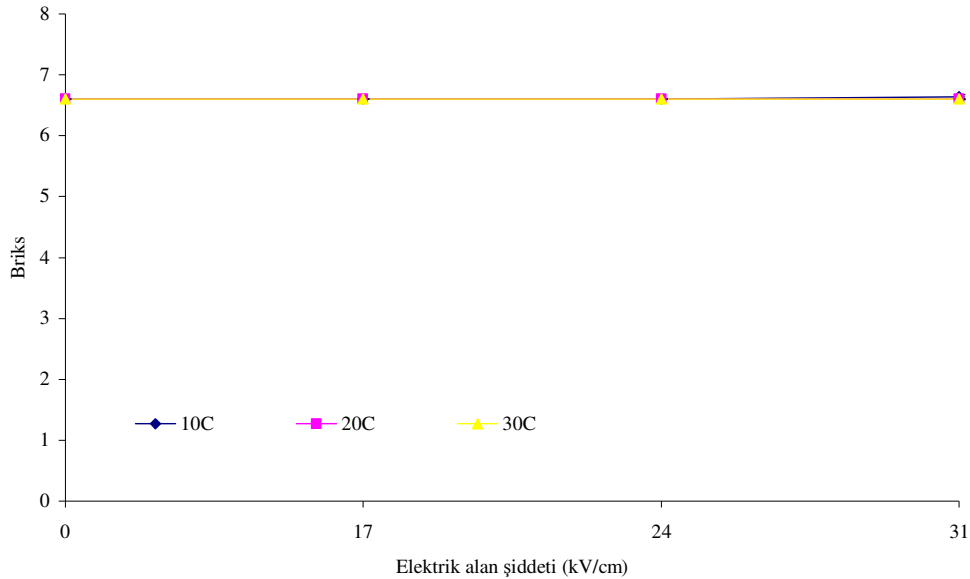
pH değerleri sırasıyla  $3.07 \pm 0.02$ ,  $3.02 \pm 0.01$  ve  $2.94 \pm 0.04$  olarak tespit edilmiştir. Buna göre artan elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığına rağmen proses edilen kırmızı şarabın pH değerleriyle ile kontrol örnekleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta pH ölçümü.

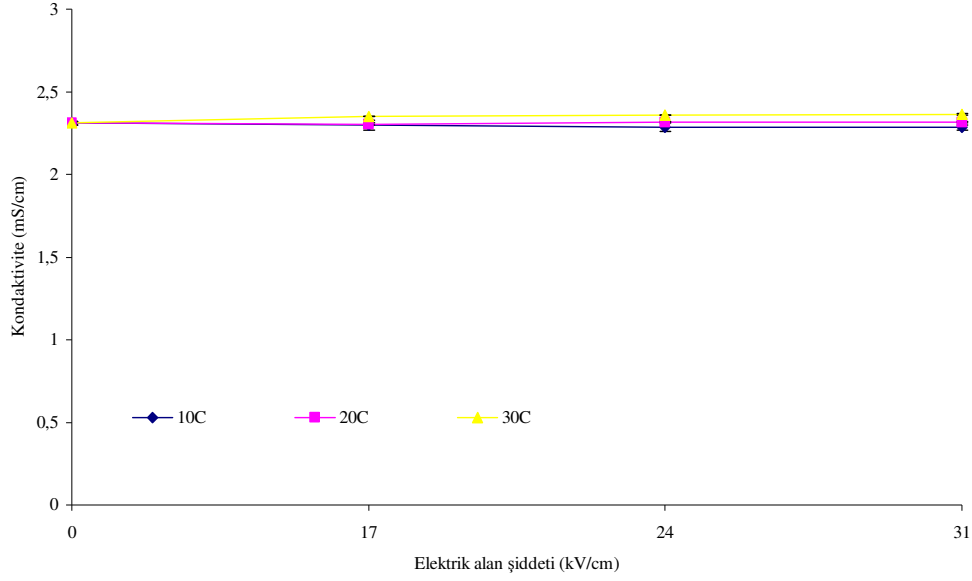
Benzer şekilde PEF uygulaması öncesi ve sonrasında kırmızı şarabın °Briks değeri ölçülmüş ve kontrol örneklerinde °Briks değeri  $6.60 \pm 0.00$  olarak tespit edilmiştir. Sıcaklığının proseteki en yüksek uygulama sıcaklığı olan  $30^\circ\text{C}$ 'ye ayarlandığı durumda şarap örneklerinde 17 kV/cm elektrik alan şiddetinde °Briks değeri  $6.60 \pm 0.00$ , 24 kV/cm elektrik alan şiddetinde °Briks değeri  $6.60 \pm 0.00$  ve 31 kV/cm elektrik alan şiddetinde ise °Briks değeri  $6.60 \pm 0.00$  olarak ölçülmüştür. Elektrik alan şiddetinin 31 kV/cm'e

ayarlandığı 10, 20 ve 30°C sıcaklık uygulamalarında °Briks değerleri sırasıyla  $6.63 \pm 0.04$ ,  $6.60 \pm 0.00$  ve  $6.60 \pm 0.00$  olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre kırmızı şaraba uygulanan proste uygulama sıcaklığı sabitken elektrik alan şiddeti artırıldığında ya da sabit elektrik alan şiddetinde uygulama sıcaklığı artırıldığında °Briks değerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.2).



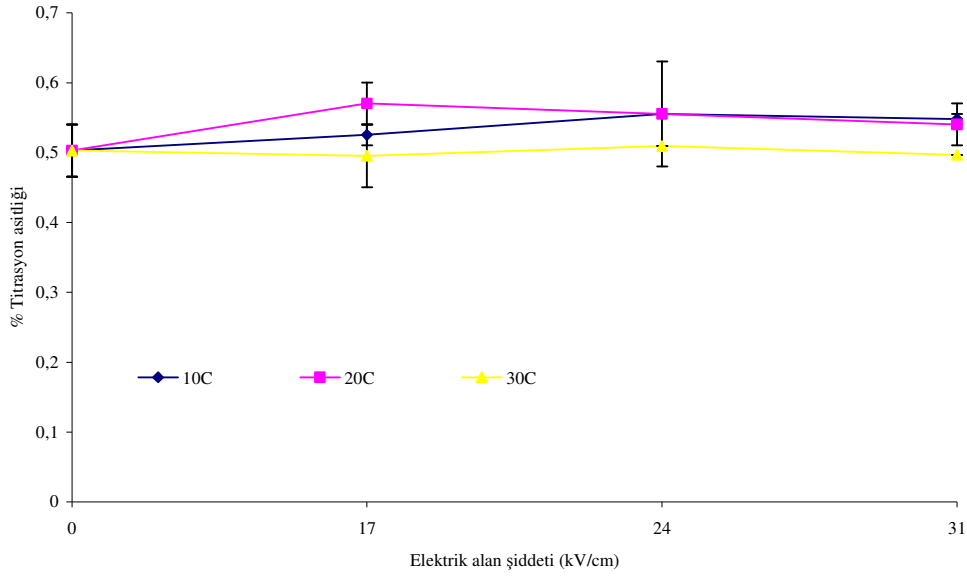
Şekil 4.2. Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta °Briks ölçümü.

Kontrol örneklerinde kondaktivite değeri  $2.31 \pm 0.01$  mS/cm olarak bulunmuş olup; uygulama sıcaklığı 30°C'ye ayarlandığında 17, 24 ve 31 kV/cm'lik elektrik alan şiddetlerinde kondaktivite değerleri sırasıyla  $2.29 \pm 0.02$ ,  $2.32 \pm 0.01$  ve  $2.37 \pm 0.01$  mS/cm olarak ölçülmüştür ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.3).



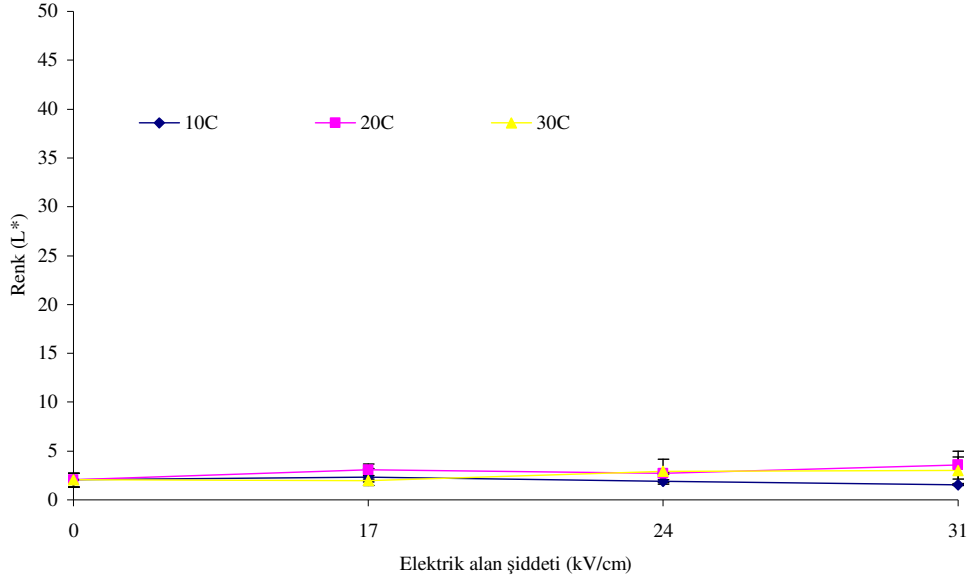
Şekil 4.3: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta kondaktivite ölçümü.

Uygulanan elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının fonksiyonu olarak titrasyon asitliği (%TA) ölçümlerinde kontrol örneklerinin TA değeri  $0.50 \pm 0.04$  olarak bulunmuş olup elektrik alan şiddeti 31 kV/cm'e ayarlandığında uygulama sıcaklığı 10°C iken, titrasyon asitliği değeri  $0.55 \pm 0.01$ , uygulama sıcaklığı 20°C iken titrasyon asitliği değeri  $0.54 \pm 0.03$  ve uygulama sıcaklığı 30°C iken titrasyon asitliği değeri  $0.50 \pm 0.00$  olarak tespit edilmiştir ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.4).

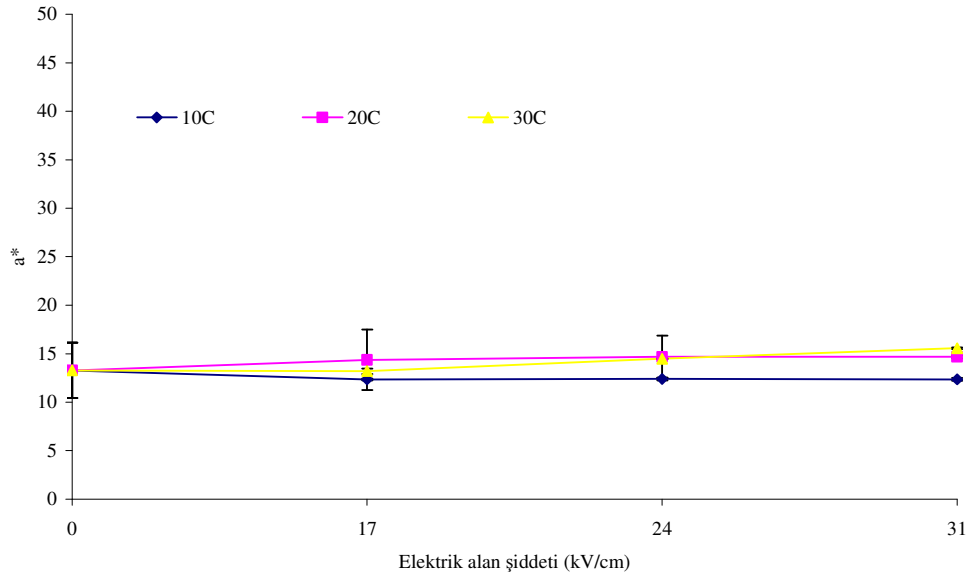


Şekil 4.4: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atıllı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta %titrasyon asitliği ölçümü.

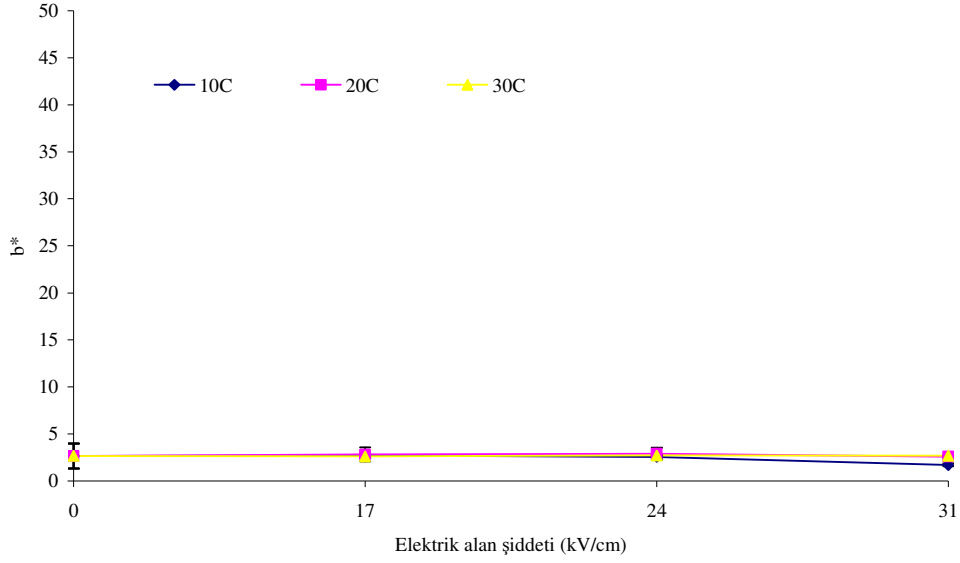
PEF uygulaması öncesi kırmızı şarap örneklerinin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri sırasıyla  $2.02 \pm 0.71$ ,  $13.28 \pm 2.84$  ve  $2.64 \pm 1.34$  olarak saptanmıştır. Uygulama sıcaklığının en yüksek olduğu  $30^\circ\text{C}$ 'de 17, 24 ve 31 kV/cm elektrik alan şiddetlerinde proses edilen örneklerin renk ölçümünde elde edilen  $L^*$  değerleri sırasıyla  $2.15 \pm 0.03$ ,  $3.15 \pm 0.05$  ve  $3.39 \pm 0.04$ ;  $a^*$  değerleri sırasıyla  $13.20 \pm 0.29$ ,  $14.48 \pm 0.06$  ve  $15.56 \pm 0.07$ ;  $b^*$  değerleri ise sırasıyla  $2.60 \pm 0.21$ ,  $2.70 \pm 0.07$  ve  $2.69 \pm 0.04$  olarak ölçülmüştür (Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7). Buna göre PEF prosesi uygulanmış şarap örneklerinde artan elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığına bağlı olarak  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim olmadığı görülmüştür ( $p > 0.05$ ).



Şekil 4.5: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde  $L^*$  değerinin belirlenmesi.

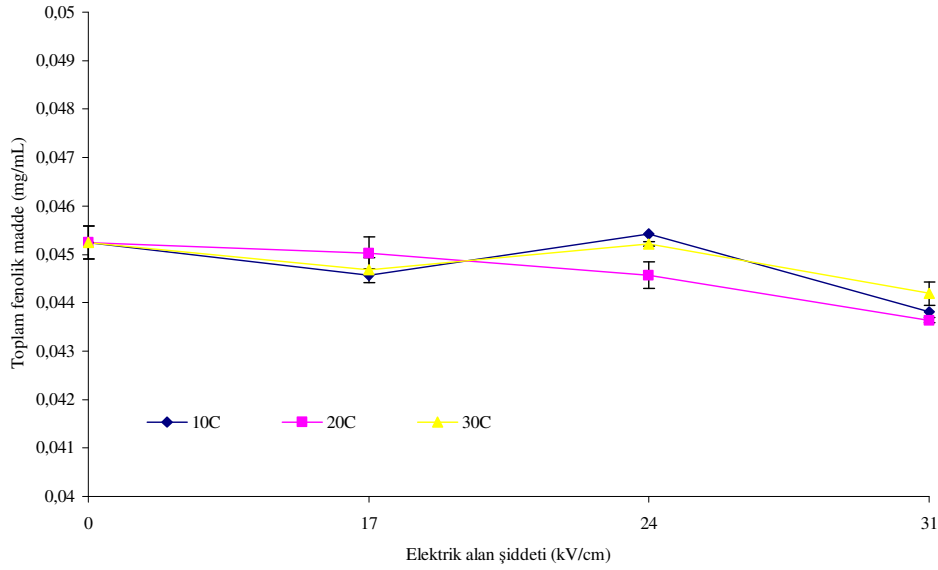


Şekil 4.6: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde  $a^*$  değerinin belirlenmesi.



Şekil 4.7: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde b\* değerinin belirlenmesi.

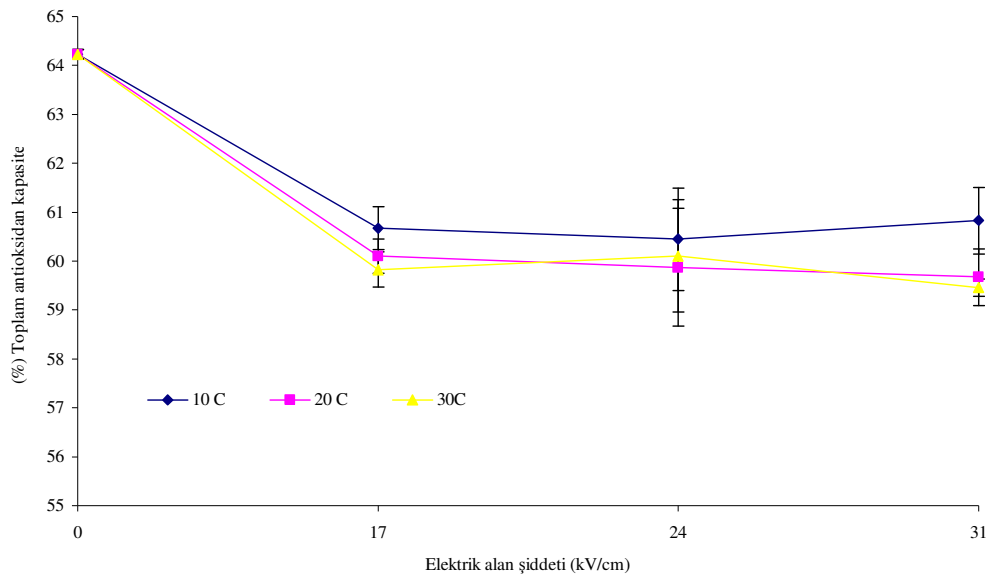
Uygulanan PEF prosesinin kırmızı şarabın fenolik madde içeriğinde değişikliğe neden olup olmadığının tespiti için PEF prosesi öncesi ve sonrası örneklerde toplam fenolik madde miktarı tayin edilmiştir. Kontrol örneklerinin toplam fenolik madde miktarı  $0.04524 \pm 0.00$  mg/mL olarak tespit edilmiştir. Proses uygulama sıcaklığı  $30^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlandığında elektrik alan şiddeti 17 kV/cm iken şarap örneklerinde toplam fenolik madde miktarı  $0.04467 \pm 0.00$  mg/mL, 24 kV/cm iken  $0.04522 \pm 0.00$  mg/mL ve 31 kV/cm iken  $0.04419 \pm 0.00$  mg/mL olarak bulunmuştur ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atıllı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta toplam fenolik madde miktarı ölçümü.

Artan elektrik alan şiddeti ve sıcaklığa bağlı olarak şarap örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinde kontrol örneklerine göre bir düşüş yaşanmış ve düşüş elektrik alan şiddetinin uygulanmasına paralel olarak artmıştır ( $p \leq 0.05$ ). Uygulanan elektrik alan şiddetiyle beraber kontrol örneklerinde meydana gelen azalmada uygulanan sıcaklıklar ve elektrik alan şiddetleri arasında fark tespit edilmemiştir ( $p > 0.05$ ). Kontrol örneklerinde şarabın toplam antioksidan kapasitesi (%)  $64.23 \pm 0.09$  olarak ölçülmüştür. Elektrik alan şiddeti 17 kV/cm'e çıkarıldığı zaman uygulama sıcaklığı 10°C iken toplam antioksidant kapasite  $60.67 \pm 0.44$ 'e; 20°C iken  $60.10 \pm 0.35$ 'e ve 30°C iken  $59.83 \pm 0.36$ 'ya düşmüştür ( $p > 0.05$ ). Elektrik alan şiddeti 31 kV/cm iken uygulama sıcaklığı 10°C'ye ayarlandığı zaman şarabın toplam antioksidan kapasitesinin  $60.83 \pm 0.68$ ; 20°C'ye ayarlandığında  $59.67 \pm 0.58$  ve 30°C'ye ayarlandığında ise  $59.46 \pm 0.18$  olduğu görülmüştür. Uygulama sıcaklığı 30°C'ye ayarlandığında elektrik

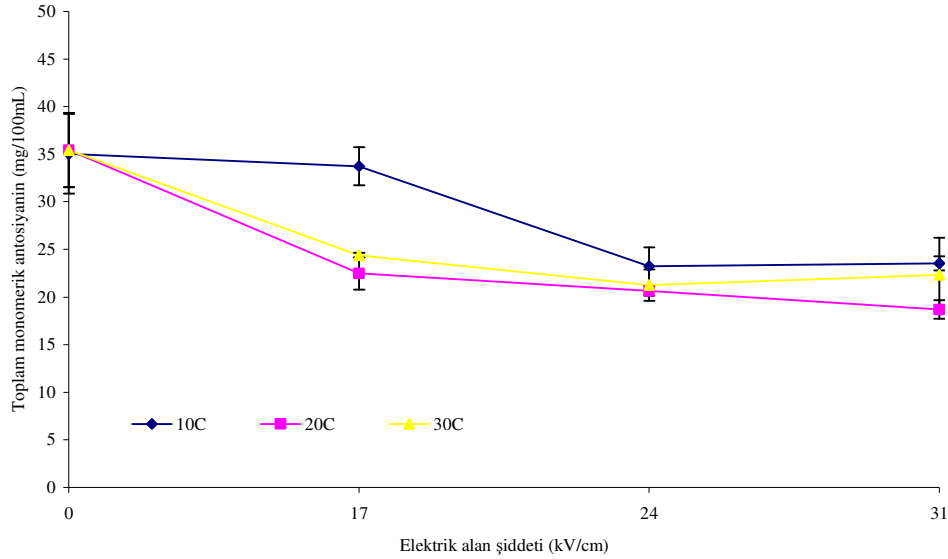
alan şiddeti 17 kV/cm iken toplam antioksidan kapasite  $59.83 \pm 0.36$ ; 24 kV/cm iken toplam antioksidan kapasitesi  $60.11 \pm 1.15$  olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre şarap örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinin artan elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığına bağlı olarak azaldığı görülmüştür (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta (%) toplam antioksidan kapasite ölçümü.

Benzer şekilde şarap örneklerinin PEF prosesi öncesi ve sonrası toplam monomerik antosiyanin miktarı ölçülmüş ve kontrol örneğinde  $35.44 \pm 3.91$  mg/100 mL olarak tespit edilmiştir. Kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında elektrik alan şiddetinin artışı monomerik antosiyanin miktarının azalmasına neden olmuştur. Fakat elektrik alan şiddetleri ve sıcaklık uygulamaları kendi aralarında karşılaştırıldığında önemli bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Uygulanan 31 kV/cm elektrik alan şiddetinde 10, 20 ve 30°C

sıcaklık uygulamalarında toplam monomerik antosiyanin miktarı sırasıyla  $23.54 \pm 0.75$ ,  $18.70 \pm 0.98$  ve  $22.35 \pm 3.87$  mg/100 mL olarak ölçülmüştür. Uygulama sıcaklığı  $30^\circ\text{C}$ 'ye ayarlandığında elektrik alan şiddeti 17 kV/cm iken toplam monomerik antosiyanin miktarı  $24.39 \pm 0.26$ ; 24 kV/cm iken ise  $21.26 \pm 1.65$  mg/100 mL'dir. Buna göre şarap örneklerinde artan elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığına göre toplam monomerik antosiyanin miktarının azaldığı görülmüştür ( $p \leq 0.05$ )(Şekil 4.10).



Şekil 4.10: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta toplam monomerik antosiyanin miktarı ölçümü.

Kırmızı şarapta farklı elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığı parametrelerinin metal iyon konsantrasyonlarının (mineral madde) üzerindeki etkisinin tespit edilmesi amacıyla Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Se, Cd, Sn, Hg ve Pb iyonlarının ölçümleri yapılmıştır. Bu amaçla hem kontrol örneklerinde hem de farklı sıcaklık ve

elektrik alan şiddeti uygulamalarında örneklerde en fazla miktarda tespit edilen mineral maddenin potasyum olduğu görülmüştür. Kontrol örneklerinde tespit edilen potasyum miktarı  $2000 \pm 86.13$  ppm'dir. Bununla birlikte en yüksek elektrik alan şiddeti olan 31 kV/cm ve en yüksek sıcaklık değeri olan  $30^{\circ}\text{C}$  parametrelerinin birlikte uygulandığı proseste potasyum değeri  $2000 \pm 75.65$  ppm olarak tespit edilmiştir. Uygulanan elektrik alan ve sıcaklıktaki artışın üründe tespit edilen potasyum konsantrasyonunda önemli bir değişime neden olmadığı görülmüştür ( $p > 0.05$ ). Potasyumdan sonra kontrol örneklerinde en yüksek miktarda tespit edilen mineral magnezyumdur. En yüksek magnezyum konsantrasyonu kontrol örneklerinde tespit edilmiş ve  $363.73 \pm 45.38$  ppm olarak ölçülmüştür. 31 kV/cm'de en yüksek sıcaklık değeri uygulaması olan  $30^{\circ}\text{C}$  sonucunda magnezyum konsantrasyonunun  $366.90 \pm 21.90$  ppm olduğu görülmüştür ( $p > 0.05$ ). Potasyum ve magnezyum iyonlarından sonra kontrol örneklerindeki en yüksek ölçümler sırasıyla fosfor ( $196.43 \pm 17.03$  ppm), kalsiyum ( $177.88 \pm 19.73$  ppm), sodyum ( $73.00 \pm 9.72$  ppm), mangan ( $10.77 \pm 1.25$  ppm) ve demir ( $7.19 \pm 0.89$  ppm) iyonlarında yapılmıştır. Farklı elektrik alan şiddeti ve sıcaklık uygulamalarının bu iyonların konsantrasyonu üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür ( $p > 0.05$ ). Ölçümü yapılan diğer metal iyonları ise iz miktarda tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atılimlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta mineral madde ölçümü.

		Elektrik alan şiddeti (kV/cm)			
		0	17	24	31
Mineral madde	Uygulama sıcaklığı(°C)	Metal iyon konsantrasyonu (ppm)			
	10	33.00±9.72 <sup>a</sup>	33.08±2.44 <sup>a</sup>	28.51±6.39 <sup>a</sup>	32.04±8.54 <sup>a</sup>
Na	20	33.00±9.72 <sup>a</sup>	30.56±7.26 <sup>a</sup>	32.36±9.50 <sup>a</sup>	34.40±7.36 <sup>a</sup>
	30	33.00±9.72 <sup>a</sup>	21.07±28.67 <sup>a</sup>	32.57±21.05 <sup>a</sup>	30.76±8.18 <sup>a</sup>
	10	363.73±45.38 <sup>a</sup>	364.15±9.75 <sup>a</sup>	354.80±36.70 <sup>a</sup>	356.80±42.50 <sup>a</sup>
Mg	20	363.73±45.38 <sup>a</sup>	348.80±36.50 <sup>a</sup>	360.15±49.25 <sup>a</sup>	374.50±70.60 <sup>a</sup>
	30	363.73±45.38 <sup>a</sup>	362.90±35.10 <sup>a</sup>	361.80±26.70 <sup>a</sup>	366.90±21.90 <sup>a</sup>
	10	196.43±17.03 <sup>a</sup>	193.80±8.46 <sup>a</sup>	193.90±8.02 <sup>a</sup>	195.80±7.45 <sup>a</sup>
P	20	196.43±17.03 <sup>a</sup>	195.60±10.00 <sup>a</sup>	194.10±9.88 <sup>a</sup>	196.60±11.04 <sup>a</sup>
	30	196.43±17.03 <sup>a</sup>	203.80±7.93 <sup>a</sup>	198.70±6.90 <sup>a</sup>	196.90±9.04 <sup>a</sup>
	10	2000.00±86.13 <sup>a</sup>	2039.50±88.50 <sup>a</sup>	2120.00±85.50 <sup>a</sup>	2119.00±88.95 <sup>a</sup>
K	20	2000.00±8.13 <sup>a</sup>	2161.00±615.85 <sup>a</sup>	2150.00±76.90 <sup>a</sup>	2141.00±84.05 <sup>a</sup>
	30	2000.00±8.13 <sup>a</sup>	1990.00±1085.05 <sup>a</sup>	1971.00±80.15 <sup>a</sup>	2000.00±75.65 <sup>a</sup>
	10	177.88±19.73 <sup>a</sup>	176.90±8.70 <sup>a</sup>	179.68±30.43 <sup>a</sup>	172.09±18.42 <sup>a</sup>
Ca	20	177.88±19.73 <sup>a</sup>	176.26±16.35 <sup>a</sup>	174.36±20.55 <sup>a</sup>	172.44±31.36 <sup>a</sup>
	30	177.88±19.73 <sup>a</sup>	155.38±66.03 <sup>a</sup>	177.85±49.25 <sup>a</sup>	174.37±48.44 <sup>a</sup>
	10	10.77±1.25 <sup>a</sup>	8.46±2.30 <sup>a</sup>	9.26±0.68 <sup>a</sup>	9.65±0.84 <sup>a</sup>
Mn	20	10.77±1.25 <sup>a</sup>	9.43±1.68 <sup>a</sup>	9.68±1.19 <sup>a</sup>	9.07±1.81 <sup>a</sup>
	30	10.77±1.25 <sup>a</sup>	8.38±3.98 <sup>a</sup>	10.01±2.78 <sup>a</sup>	10.87±2.70 <sup>a</sup>
	10	7.19±0.89 <sup>a</sup>	7.69±0.23 <sup>a</sup>	7.19±0.85 <sup>a</sup>	7.20±0.09 <sup>a</sup>
Fe	20	7.19±0.89 <sup>a</sup>	7.39±0.51 <sup>a</sup>	7.05±0.77 <sup>a</sup>	7.44±0.71 <sup>a</sup>
	30	7.19±0.89 <sup>a</sup>	7.13±2.23 <sup>a</sup>	7.94±1.63 <sup>a</sup>	7.85±1.52 <sup>a</sup>

	10	0.09±0.02 <sup>a</sup>	0.03±0.02 <sup>a</sup>	0.03±0.02 <sup>a</sup>	0.04±0.02 <sup>a</sup>
Cu	20	0.09±0.02 <sup>a</sup>	0.03±0.01 <sup>a</sup>	0.04±0.03 <sup>a</sup>	0.03±0.02 <sup>a</sup>
	30	0.09±0.02 <sup>a</sup>	0.09±0.08 <sup>a</sup>	0.05±0.04 <sup>a</sup>	0.05±0.04 <sup>a</sup>
	10	0.34±0.04 <sup>a</sup>	0.27±0.02 <sup>a</sup>	0.18±0.04 <sup>a</sup>	0.20±0.04 <sup>a</sup>
Zn	20	0.34±0.04 <sup>a</sup>	0.18±0.03 <sup>a</sup>	0.23±0.02 <sup>a</sup>	0.22±0.02 <sup>a</sup>
	30	0.34±0.04 <sup>a</sup>	0.35±0.18 <sup>a</sup>	0.28±0.14 <sup>a</sup>	0.21±0.09 <sup>a</sup>
	10	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
As	20	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	30	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	10	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>
Se	20	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.02 <sup>a</sup>	0.03±0.02 <sup>a</sup>
	30	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>
	10	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
Cd	20	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	30	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	10	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>z</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
Sn	20	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	30	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	10	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>
Hg	20	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>
	30	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>
	10	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>
Pb	20	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>
	30	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>a</sup>

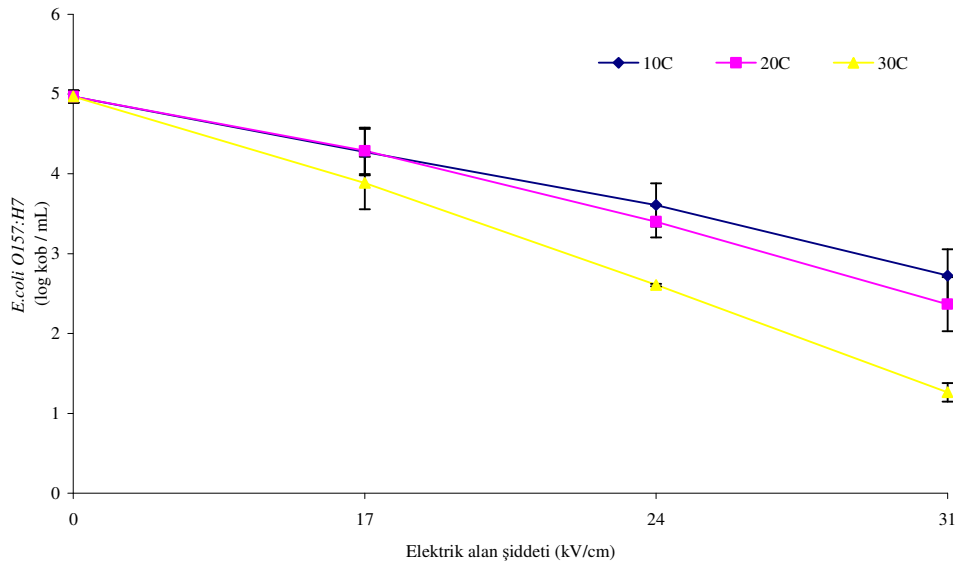
\* Aynı satır içerisinde farklı üstsel harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır ( $p \leq 0.05$ ).

Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının bağımsız değişkenler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasının mikrobiyolojik özellikler üzerindeki etkisinin incelendiği bölümde ise kırmızı şarap örnekleri *E. coli* O157:H7, *C. lipolytica*, *S. cerevisiae*, *H.anomala* ve *L.bulgaricus* ile inoküle edilmiştir. Söz konusu mikroorganizmalarla inoküle edilen şarap örneklerinin uygulanan 0 (kontrol), 17, 24 ve 31 kV/cm elektrik alan şiddeti değerlerinin her birinde 10, 20 ve 30°C sıcaklıklarda proses edilmesi sonucunda elde edilen mikrobiyal inaktivasyon kontrol örneklerindeki başlangıç mikroorganizma sayılarıyla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

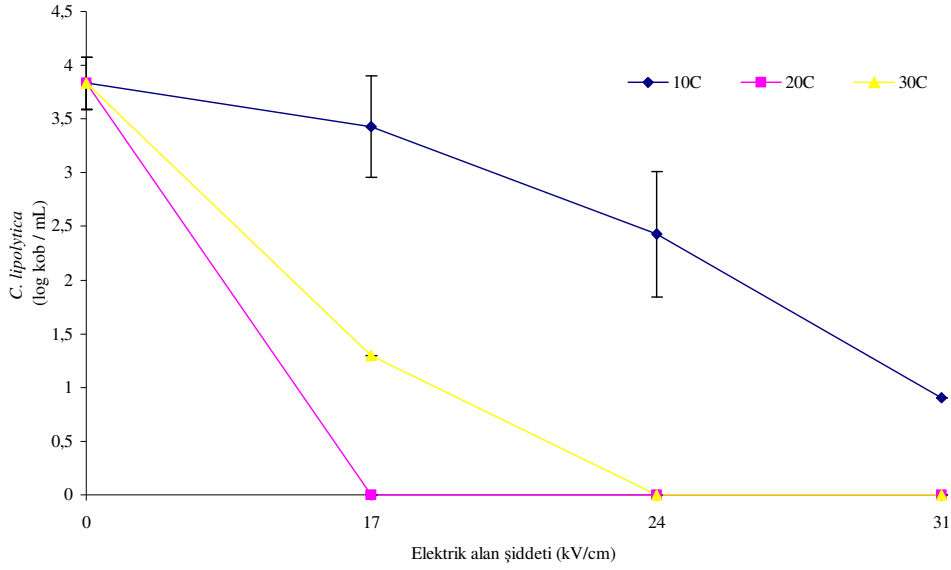
Uygulanan elektrik alan şiddetinin farklı sıcaklık değerlerinde *E. coli* O157:H7 sayısı üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amacıyla öncelikle kırmızı şarabın kontrol örneklerindeki *E. coli* O157:H7'nin başlangıç sayısı belirlenmiştir. Sıcaklık uygulamalarından önce başlangıç *E. coli* O157:H7 sayısı  $4.97 \pm 0.08$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. 17 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinde en yüksek sıcaklık değeri uygulaması olan 30°C sonucunda mikroorganizma sayısı  $3.89 \pm 0.33$  log kob/mL; 24 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinde 30°C sıcaklık uygulaması sonucunda  $2.61 \pm 0.02$  log kob/mL olarak saptanmıştır. Uygulanan en yüksek elektrik alan şiddeti olan 31 kV/cm'de ise 10°C sıcaklık uygulaması sonrasında tespit edilen mikroorganizma sayısı  $2.73 \pm 0.33$  log kob/mL; 20°C sıcaklık uygulaması sonrası tespit edilen mikroorganizma sayısı  $2.37 \pm 0.34$  log kob/mL ve 30°C sıcaklık uygulaması sonrası tespit edilen ise  $1.26 \pm 0.12$  log kob/mL'dir. Bu sonuçlara göre kırmızı şarap örneklerinde *E.coli* O157:H7'nin başlangıç popülasyonundaki en fazla azalmanın 30°C sıcaklık uygulamasında ve 31 kV/cm elektrik alan şiddetinde olduğu görülmüştür ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 4.11). *E.coli* O157:H7'nin inaktivasyonunda elektrik alan şiddeti ve sıcaklığın birlikte

artması sinerjistik etki göstererek mikrobiyal inaktivasyonun daha fazla artmasına neden olmuştur.

Kırmızı şaraba inoküle edilen *C.lipolytica*'nın kontrol örneklerinde başlangıç sayısı  $3.83 \pm 0.24$  log kob/mL olarak belirlenmiştir. 10, 20 ve 30°C sıcaklık uygulamalarında 31 kV/cm elektrik alan uygulamasından sonra canlı kalan *C.lipolytica* sayısı sırasıyla  $0.90 \pm 0.00$ ,  $0.00 \pm 0.00$  ve  $0.00 \pm 0.00$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Mikrobiyal inaktivasyon elektrik alan şiddeti ve sıcaklığın artmasıyla artmış olup; istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 4.12).

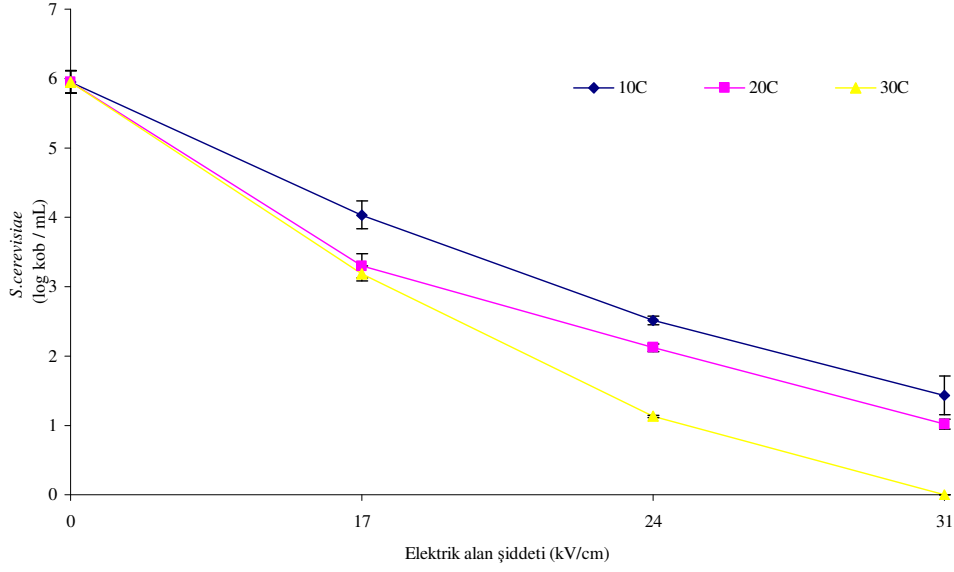


Şekil 4.11: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta *E.coli* O157:H7'nin inaktivasyonu.



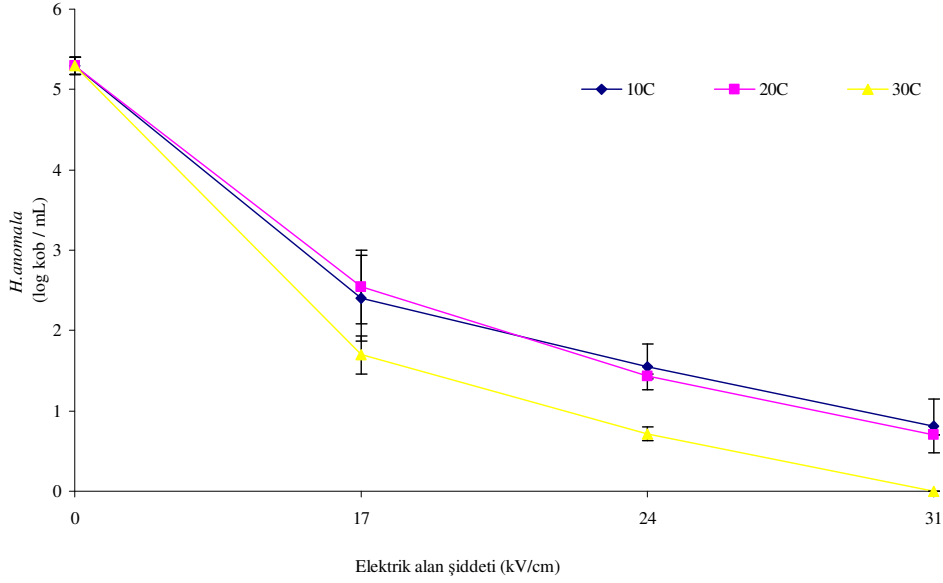
Şekil 4.12: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta *C.lipolytica*'nın inaktivasyonu.

Kırmızı şaraplara inoküle edilen *S.cerevisiae* inaktivasyonunda kontrol örneklerindeki *S.cerevisiae*'nin başlangıç sayısı  $5.95 \pm 0.16$  log kob/mL olarak belirlenmiştir. Öncelikle 10°C sıcaklık değerinde farklı elektrik alan şiddetlerindeki uygulamaların sonuçları karşılaştırılmış; bu sıcaklık değerinde mikrobiyal yükte en yüksek azalma 31 kV/cm elektrik alan şiddetinde görülmüştür. Elektrik alan şiddetinin 31 kV/cm olduğu durumda sıcaklığın 30°C'ye çıkarılmasıyla canlı *S.cerevisiae* popülasyonu tamamen inhibe edilmiştir ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 4.13).



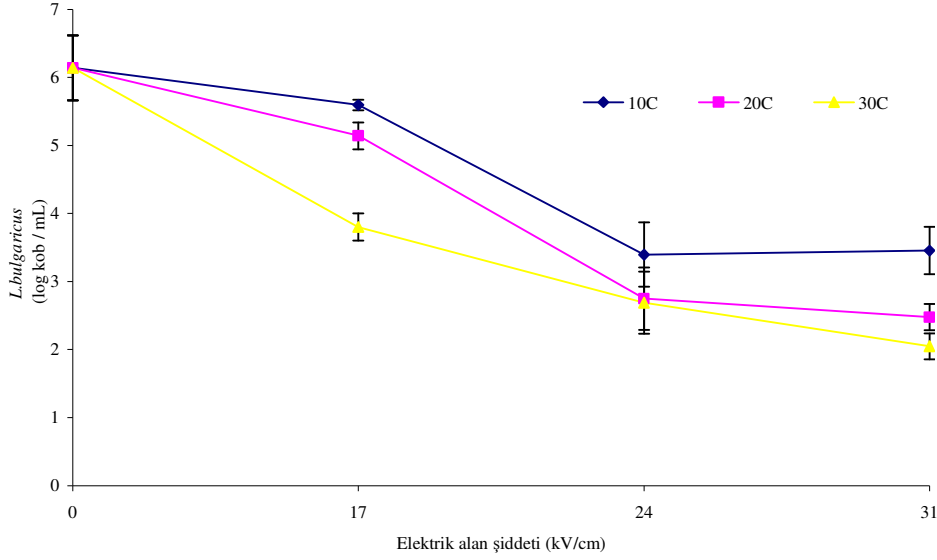
Şekil 4.13: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta *S.cerevisiae*'nin inaktivasyonu.

Kırmızı şaraba inoküle edilen *H.anomala*'nın 10, 20 ve 30°C sıcaklık uygulamaları öncesinde başlangıç mikroorganizma konsantrasyonu  $5.29 \pm 0.10$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. PEF prosesindeki sıcaklık değeri 30°C'ye çıkarıldığında 17 kV/cm elektrik alan şiddeti uygulamasında canlı kalan *H. anomala* sayısı  $1.70 \pm 0.23$  log kob/mL; 24 kV/cm uygulamasında  $0.72 \pm 0.09$  log kob/mL ve 31 kV/cm uygulamasında ise  $0.00 \pm 0.00$  log kob/mL olarak ölçülmüştür ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 4.14).



Şekil 4.14: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta *H.anomala*'nın inaktivasyonu.

*L.bulgaricus* da kırmızı şaraba inoküle edilmiş olup; aynı sıcaklık ve elektrik alan değerlerinde inaktivasyonu incelenmiştir. Kontrol örneklerindeki *L.bulgaricus*'un başlangıç popülasyonu  $6.14 \pm 0.48$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Uygulanan elektrik alan şiddeti sabit kaldığında ve uygulama sıcaklığı  $10^\circ\text{C}$ 'den  $30^\circ\text{C}$ 'ye çıkarıldığında diğer mikroorganizmalarda olduğu gibi *L.bulgaricus*'un da inaktivasyonunun arttığı görülmüştür. *L.bulgaricus* sayısı 31 kV/cm elektrik alan şiddetinde ve  $30^\circ\text{C}$  sıcaklık uygulaması sonrasında  $2.05 \pm 0.19$  log kob/mL olarak ölçülmüştür ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 4.15).



Şekil 4.15: Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta *L.bulgaricus*'un inaktivasyonu.

#### 4.1.2. Atımlı elektrik akımı (PEF) uygulamasında elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin kırmızı şarabın fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisi

Çalışmanın bu kısmında elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi değişken parametreler olarak ele alınmıştır. Kontrol örneklerinde ve PEF prosesi uygulanmış örneklerde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmış ve meydana gelebilecek değişimler incelenmiştir. Kırmızı şarap elektrik alan şiddetinin bir fonksiyonu olarak 0 (kontrol), 17, 24 ve 31 kV/cm'lik elektrik alan şiddetlerinde ve proses uygulama süresinin bir fonksiyonu olarak 109, 131 ve 164  $\mu$ s uygulama sürelerinde proses edilmiştir.

PEF prosesinde 109, 131 ve 164  $\mu$ s uygulama süresi öncesinde kırmızı şarap kontrol örneklerinin tespit edilen pH değeri  $2.930\pm 0.05$  dir. Uygulamadaki en düşük elektrik alan şiddeti değeri olan 17 kV/cm'de uygulanan 109  $\mu$ s'lik proses sonucunda ölçülen pH değeri  $2.790\pm 0.01$ , 131  $\mu$ s uygulama sonucunda ölçülen pH değeri  $2.780\pm 0.01$  ve 164  $\mu$ s uygulama sonucunda ölçülen pH değeri ise  $2.790\pm 0.01$ 'dir. Uygulamadaki en yüksek elektrik alan şiddeti olan 31 kV/cm değerinde 109, 131 ve 164  $\mu$ s uygulamaları sonrasında pH değerleri sırasıyla  $2.790\pm 0.01$ ,  $2.785\pm 0.005$  ve  $2.785\pm 0.005$  olarak tespit edilmiştir. Buna göre artan elektrik alan şiddeti ve uygulama süresine rağmen proses edilen kırmızı şarabın pH değerleriyle ile kontrol örneklerinin pH değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.16).

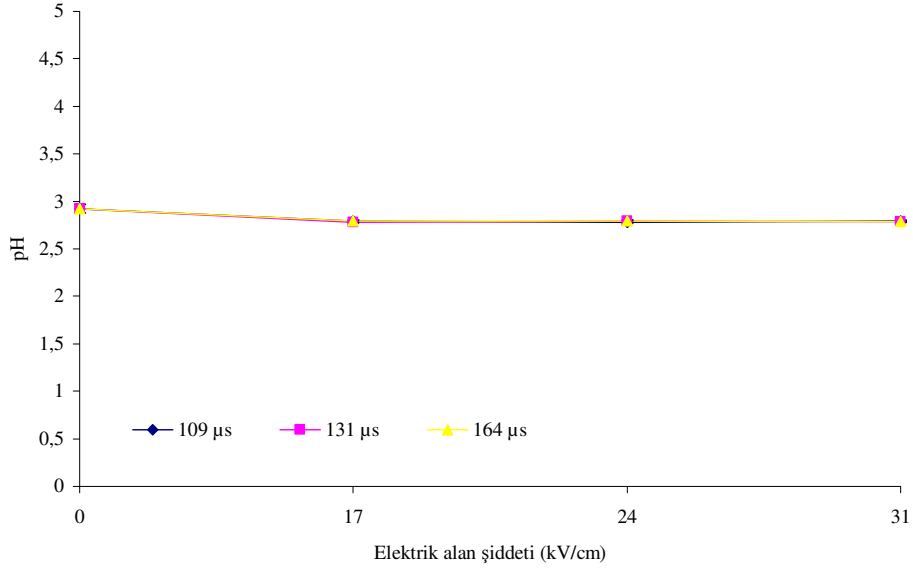
Kontrol örneklerinin °Briks değeri  $7.45\pm 0.05$  olarak tespit edilmiştir. Farklı uygulama süresi ve elektrik alan şiddeti değerlerinde proses edilen şarap örneklerinde 17 kV/cm elektrik alan şiddetinde uygulama süresi 164  $\mu$ s olduğunda °Briks değeri  $7.40\pm 0.00$ , 24 kV/cm elektrik alan şiddetinde uygulama süresi 164  $\mu$ s olduğunda °Briks değeri  $7.50\pm 0.00$  ve 31 kV/cm elektrik alan şiddetinde uygulama süresi 164  $\mu$ s olduğunda ise °Briks değeri  $7.40\pm 0.00$  olarak ölçülmüştür. İlave olarak 31 kV/cm'de 109, 131 ve 164  $\mu$ s uygulamalarındaki °Briks değerleri sırasıyla  $7.50\pm 0.00$ ,  $7.45\pm 0.05$  ve  $7.40\pm 0.00$  olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre kırmızı şaraba uygulanan proste uygulama süresi sabitken elektrik alan şiddeti artırıldığında ya da sabit elektrik alan şiddetinde uygulama süresi artırıldığında şarabın °Briks değerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim görülmemiştir ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.17).

Benzer şekilde kırmızı şarapta kondaktivite ölçümü yapılmış ve PEF uygulaması öncesi ve sonrasında önemli bir değişim saptanmamıştır. Şöyle ki; kondaktivite değerleri

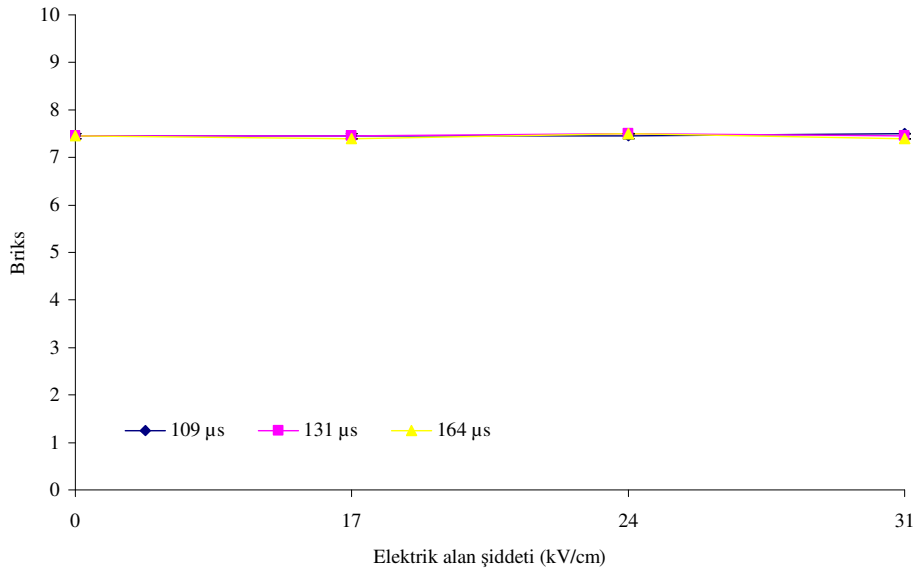
kontrol örneklerinde  $2.265 \pm 0.005$  mS/cm ve 31 kV/cm elektrik alan şiddetinde 109, 131 ve 164  $\mu$ s'lik uygulama sürelerinde ise sırasıyla  $2.26 \pm 0.00$ ,  $2.255 \pm 0.005$  ve  $2.255 \pm 0.005$  mS/cm olarak ölçülmüştür ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.18).

Titrasyon asitliği (%TA) değerlerine bakıldığı zaman uygulanan her bir elektrik alan şiddetinde artan uygulama süresinin veya sabit bir uygulama süresinde artan elektrik alan şiddeti değerinin kırmızı şarabın titrasyon asitliği değerinde önemli bir değişime yol açmadığı görülmektedir. Kontrol örneklerinde titrasyon asitliği değerleri  $0.2927 \pm 0.008$  olarak ölçülmüştür. 31 kV/cm elektrik alan şiddetinde 109  $\mu$ s uygulama süresi sonrasında titrasyon asitliği değeri  $0.29 \pm 0.00$ , 131  $\mu$ s uygulama süresi sonrasında  $0.30 \pm 0.00$  ve 164  $\mu$ s uygulama süresi sonrasında  $0.29 \pm 0.00$  olarak tespit edilmiştir ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.19).

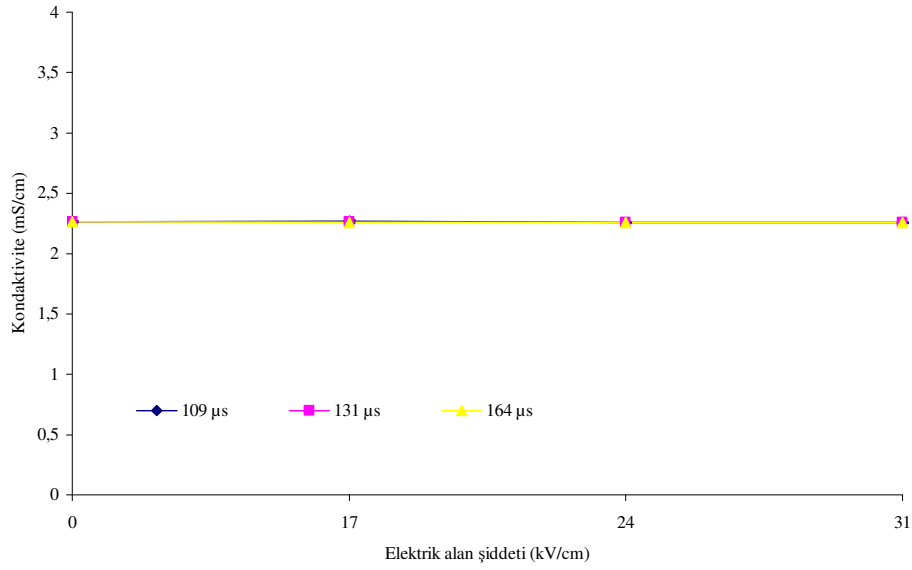
Renk ölçümünde kontrol örneklerinin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri sırasıyla  $13.57 \pm 1.27$ ,  $39.47 \pm 2.46$  ve  $20.22 \pm 3.79$  olarak saptanmıştır. Uygulanan elektrik alan şiddetinin en yüksek olduğu 31 kV/cm'de 109, 131 ve 164  $\mu$ s uygulama sürelerinde proses edilen örneklerin renk ölçümünde elde edilen  $L^*$  değerleri sırasıyla  $11.16 \pm 0.66$ ,  $12.05 \pm 0.51$  ve  $11.87 \pm 1.19$ ;  $a^*$  değerleri sırasıyla  $37.25 \pm 0.84$ ,  $37.59 \pm 1.03$  ve  $39.18 \pm 1.04$  ve  $b^*$  değerleri ise sırasıyla  $16.53 \pm 1.08$ ,  $15.39 \pm 1.00$  ve  $17.82 \pm 3.39$  olarak ölçülmüştür (Şekil 4.20, 4.21 ve 4.22). Buna göre PEF prosesi uygulanmış şarap örneklerinde artan elektrik alan şiddeti ve uygulama sürelerine bağlı olarak  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinde önemli bir değişim görülmemiştir ( $p > 0.05$ ).



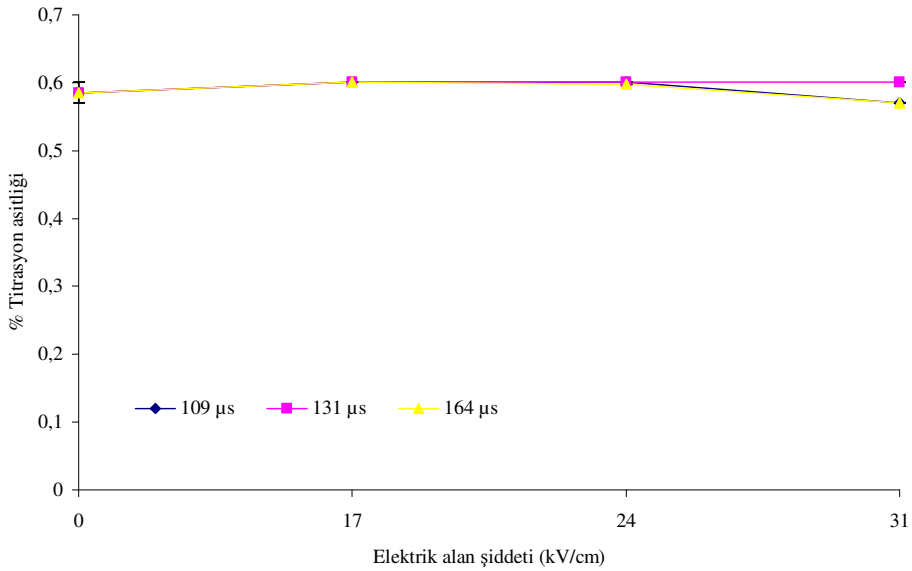
Şekil 4.16: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta pH ölçümü.



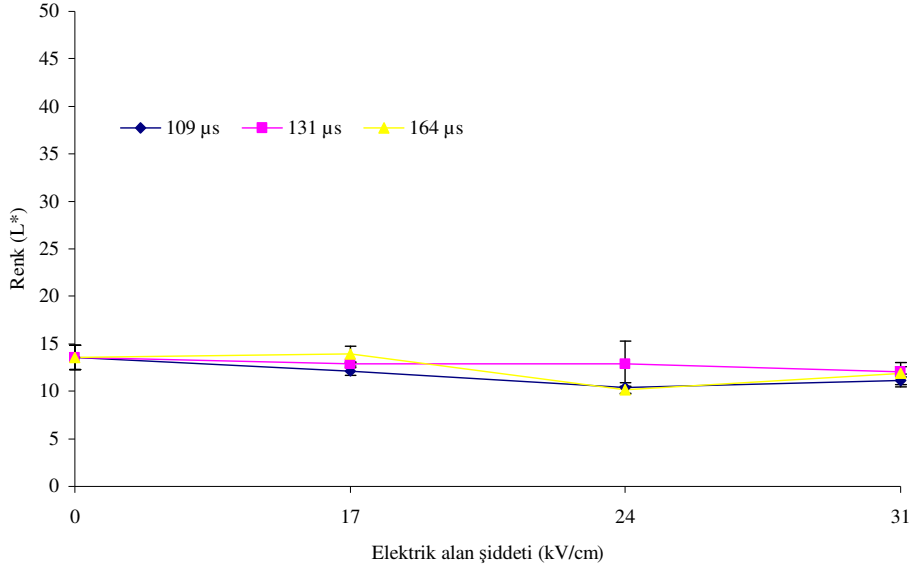
Şekil 4.17: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta °Briks ölçümü.



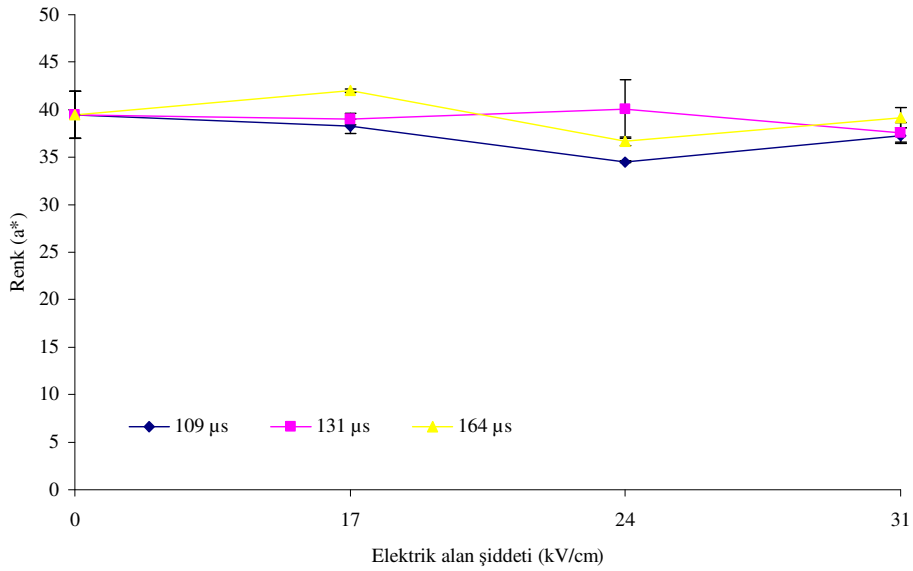
Şekil 4.18: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta kondaktivite ölçümü.



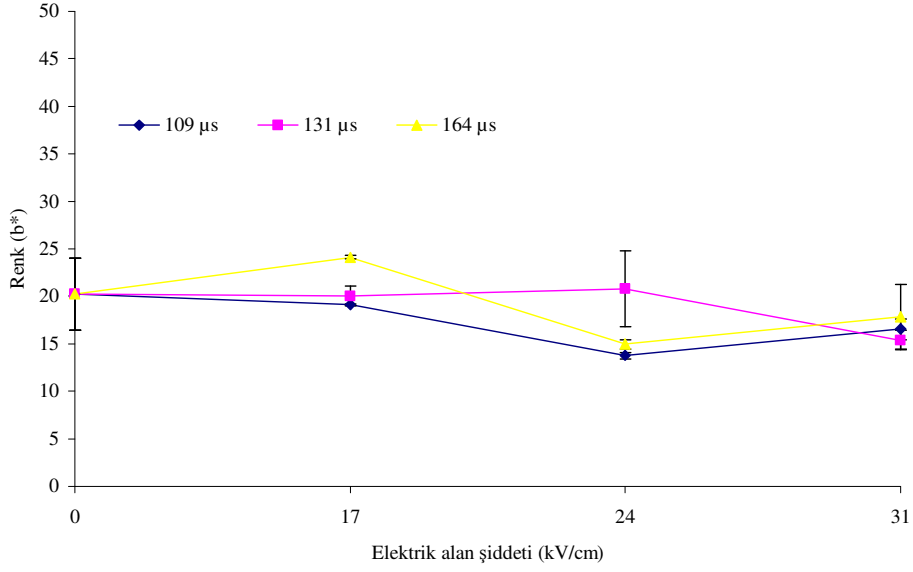
Şekil 4.19: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta %titrasyon asitliği ölçümü.



Şekil 4.20: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde  $L^*$  değerinin belirlenmesi.

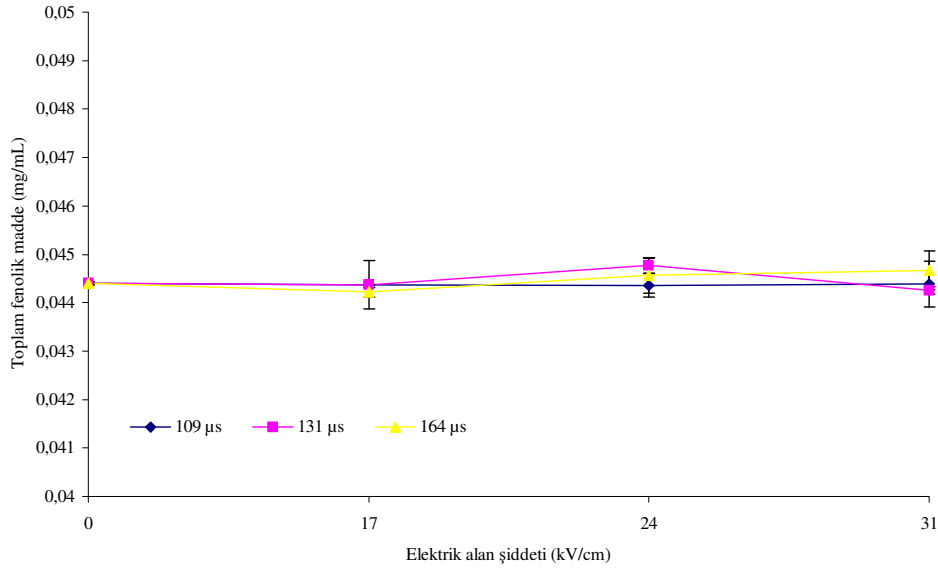


Şekil 4.21: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde  $a^*$  değerinin belirlenmesi.



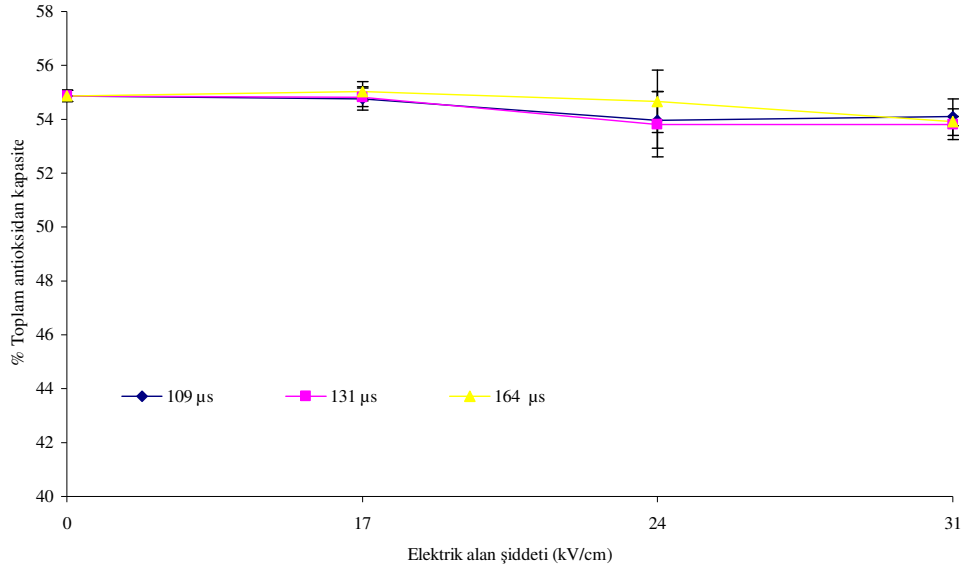
Şekil 4.22: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta renk ölçümünde  $b^*$  değerinin belirlenmesi.

PEF teknolojisi uygulamasının elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi değişkenlerinin kırmızı şarabın toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde analizde kontrol örneklerinin toplam fenolik madde miktarı  $0.04440 \pm 0.00$  mg/mL olarak tespit edilmiştir. Artan elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin şarap örneklerinin toplam fenolik madde miktarında önemli bir değişime yol açmadığı görülmüştür. Şöyle ki; proses uygulama süresi  $164 \mu s$ 'ye ayarlandığında elektrik alan şiddeti  $17$  kV/cm iken toplam fenolik madde miktarı  $0.04422 \pm 0.00$ ;  $24$  kV/cm iken  $0.04457 \pm 0.00$  ve  $31$  kV/cm iken ise  $0.04467 \pm 0.00$  mg/mL olarak ölçülmüştür ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.23).



Şekil 4.23: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta toplam fenolik madde miktarının ölçümü.

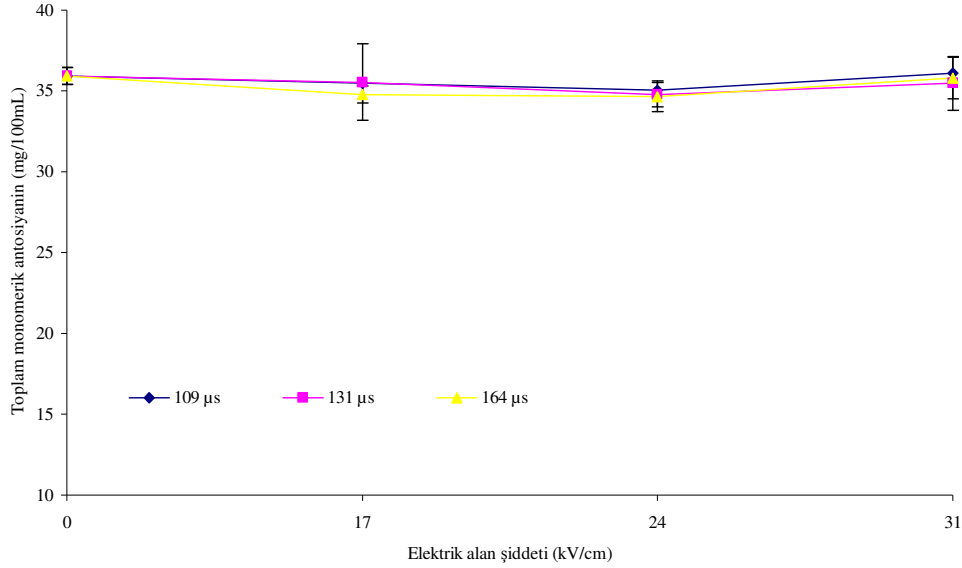
Toplam antioksidan kapasiteye (%) bakıldığı zaman uygulanan her bir elektrik alan şiddetinde artan uygulama süresinin veya sabit bir uygulama süresinde artan elektrik alan şiddetinin şarabın toplam antioksidan kapasitesinde önemli bir değişikliğe yol açmadığı görülmüştür. Kontrol örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi  $54.86 \pm 0.40$  olarak ölçülmüştür. Elektrik alan şiddeti 31 kV/cm iken 109 µs'lik proses sonucunda şarap örneklerinde tespit edilen toplam antioksidan kapasite  $54.09 \pm 0.68$ ; 131 µs'lik proses sonucunda  $53.81 \pm 0.58$  ve 164 µs'lik proses sonucunda  $53.92 \pm 0.18$ 'dir ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.24).



Şekil 4.24: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta (%) toplam antioksidan kapasitenin ölçümü.

PEF prosesinde 109, 131 ve 164  $\mu$ s uygulama süresi öncesinde kontrol şarap örneklerinin tespit edilen toplam monomerik antosiyanin miktarı  $35.94 \pm 0.53$  mg/100 mL'dir. 17 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinde uygulanan 109  $\mu$ s'lik proses sonucunda ölçülen toplam monomerik antosiyanin miktarı  $35.50 \pm 1.01$ , 131  $\mu$ s uygulama sonucunda ölçülen  $35.55 \pm 2.37$  ve 164  $\mu$ s uygulama sonucunda ölçülen ise  $34.78 \pm 0.54$  mg/100mL'dir. Elektrik alan şiddeti uygulamadaki en yüksek değeri olan 31 kV/cm'de sabit kaldığında 109, 131 ve 164  $\mu$ s'lik prosesler sonrasında toplam monomerik antosiyanin miktarı sırasıyla  $36.11 \pm 3.44$ ,  $35.47 \pm 1.65$  ve  $35.80 \pm 1.28$  mg/100 mL olarak tespit edilmiştir. Buna göre artan elektrik alan şiddeti ve uygulama süresine rağmen proses edilen kırmızı şarap ile kontrol örneklerinin toplam monomerik antosiyanin

miktarları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.25).



Şekil 4.25: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta toplam monomerik antosiyanin miktarının ölçümü.

Kırmızı şarabın farklı elektrik alan şiddeti ve uygulama sürelerinde proses edilmesi sonucunda mineral madde içeriğinde oluşabilecek değişimlerin gözlenmesi amacıyla yapılan analizlerde 15 adet mineral maddenin varlığı incelenmiş olup; bunlar arasında en yüksek konsantrasyona sahip olanın potasyum iyonu olduğu belirlenmiştir. Potasyum iyonunun kontrol örneklerindeki miktarı  $2407.75 \pm 101.25$  ppm'dir. 31 kV/cm'de 164 µs'lik proses sonucunda bu iyonunun konsantrasyonu  $2431.45 \pm 61.55$  ppm olarak tespit edilmiştir ( $p>0.05$ ). Yapılan analizler sonucunda potasyum iyonundan sonra kontrol örneklerinde en fazla miktarda sırasıyla magnezyum ( $363.75 \pm 45.38$  ppm),

fosfor ( $196.43 \pm 17.03$  ppm), kalsiyum ( $177.88 \pm 19.73$  ppm), sodyum ( $72.96 \pm 9.72$  ppm), mangan ( $10.77 \pm 1.25$ ) ve demir iyonları ( $7.19 \pm 0.89$  ppm) tespit edilmiştir. Farklı elektrik alan şiddetindeki farklı uygulama sürelerinin bu iyonların konsantrasyonu üzerinde önemli bir etkiye neden olmadığı görülmüştür ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4.2). Ölçümü yapılan diğer metal iyonları ise iz miktarda tespit edilmiştir.

Tablo 4.2: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akımı uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şarapta mineral madde ölçümü.

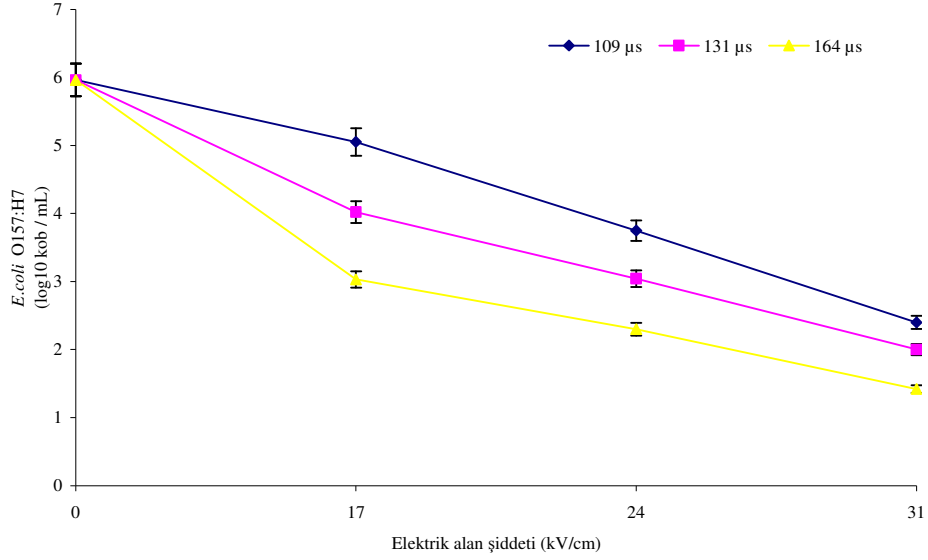
		Elektrik alan şiddeti (kV/cm)			
		0	17	24	31
Mineral madde	Uygulama süresi (µs)	Metal iyon konsantrasyonu (ppm)			
			109	72.96±9.72 <sup>a</sup>	79.90±5.90 <sup>a</sup>
Na	131	72.96±9.72 <sup>a</sup>	71.00±4.88 <sup>a</sup>	72.97±10.03 <sup>a</sup>	74.5±9.46 <sup>a</sup>
	164	72.96±9.72 <sup>a</sup>	74.99±5.41 <sup>a</sup>	72.76±9.00 <sup>a</sup>	72.17±8.07 <sup>a</sup>
Mg	109	363.73±45.38 <sup>a</sup>	375.90±25.90 <sup>a</sup>	350.80±27.30 <sup>a</sup>	339.17±52.23 <sup>a</sup>
	131	363.73±45.38 <sup>a</sup>	363.21±6.81 <sup>a</sup>	358.4±63.50 <sup>a</sup>	358.27±45.74 <sup>a</sup>
	164	363.73±45.38 <sup>a</sup>	384.00±59.30 <sup>a</sup>	356.20±60.90 <sup>a</sup>	367.04±32.07 <sup>a</sup>
P	109	196.43±17.03 <sup>a</sup>	28.10±27.70 <sup>a</sup>	196.35±10.55 <sup>a</sup>	190.16±30.94 <sup>a</sup>
	131	196.43±17.03 <sup>a</sup>	200.70±20.90 <sup>a</sup>	200.85±29.85 <sup>a</sup>	197.55±29.76 <sup>a</sup>
	164	196.43±17.03 <sup>a</sup>	200.85±34.25 <sup>a</sup>	196.85±28.35 <sup>a</sup>	192.56±27.94 <sup>a</sup>
K	109	2407.75±101.25 <sup>a</sup>	2488.50±74.50 <sup>a</sup>	2443.50±88.50 <sup>a</sup>	2465.15±351.85 <sup>a</sup>
	131	2407.75±101.25 <sup>a</sup>	2422.00±173.00 <sup>a</sup>	2457±118.00 <sup>a</sup>	2409.05±13.95 <sup>a</sup>
	164	2407.75±101.25 <sup>a</sup>	2451.50±67.50 <sup>a</sup>	2433±115.00 <sup>a</sup>	2431.45±61.55 <sup>a</sup>
Ca	109	177.88±19.73 <sup>a</sup>	185.60±12.20 <sup>a</sup>	174.10±12.60 <sup>a</sup>	179.27±63.14 <sup>a</sup>
	131	177.88±19.73 <sup>a</sup>	183.15±3.65 <sup>a</sup>	172.25±25.45 <sup>a</sup>	174.41±50.09 <sup>a</sup>
	164	177.88±19.73 <sup>a</sup>	187.65±26.15 <sup>a</sup>	174.35±23.45 <sup>a</sup>	172.26±48.65 <sup>a</sup>
Mn	109	10.77±1.25 <sup>a</sup>	11.82±0.45 <sup>a</sup>	10.92±0.80 <sup>a</sup>	10.82±3.75 <sup>a</sup>
	131	10.77±1.25 <sup>a</sup>	10.76±0.01 <sup>a</sup>	10.21±1.99 <sup>a</sup>	10.05±3.10 <sup>a</sup>
	164	10.77±1.25 <sup>a</sup>	11.27±1.31 <sup>a</sup>	10.08±1.69 <sup>a</sup>	10.61±2.88 <sup>a</sup>
Fe	109	7.19±0.89 <sup>a</sup>	7.77±0.20 <sup>a</sup>	7.30±0.55 <sup>a</sup>	7.22±1.66 <sup>a</sup>
	131	7.19±0.89 <sup>a</sup>	7.15±0.01 <sup>a</sup>	7.60±2.62 <sup>a</sup>	7.65±1.25 <sup>a</sup>
	164	7.19±0.89 <sup>a</sup>	7.68±0.78 <sup>a</sup>	7.91±1.73 <sup>a</sup>	7.13±1.11 <sup>a</sup>

	109	0.09±0.02 <sup>a</sup>	0.09±0.01 <sup>a</sup>	0.06±0.02 <sup>a</sup>	0.07±0.02 <sup>a</sup>
Cu	131	0.09±0.02 <sup>a</sup>	0.09±0.01 <sup>a</sup>	0.07±0.03 <sup>a</sup>	0.07±0.03 <sup>a</sup>
	164	0.09±0.02 <sup>a</sup>	0.08±0.01 <sup>a</sup>	0.07±0.02 <sup>a</sup>	0.05±0.02 <sup>a</sup>
	109	0.34±0.03 <sup>a</sup>	0.41±0.03 <sup>a</sup>	0.28±0.01 <sup>a</sup>	0.33±0.08 <sup>a</sup>
Zn	131	0.34±0.03 <sup>a</sup>	0.35±0.04 <sup>a</sup>	0.26±0.06 <sup>a</sup>	0.27±0.06 <sup>a</sup>
	164	0.34±0.03 <sup>a</sup>	0.33±0.02 <sup>a</sup>	0.33±0.03 <sup>a</sup>	0.26±0.05 <sup>a</sup>
	109	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
As	131	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	164	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	109	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>
Se	131	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.03 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>
	164	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>a</sup>	0.03±0.01 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>
	109	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
Cd	131	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	164	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	109	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
Sn	131	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	164	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
	109	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>
Hg	131	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>
	164	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>
	109	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>
Pb	131	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.01 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>
	164	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>

\* Aynı satır içinde farklı üstsel harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $p \leq 0.05$ ).

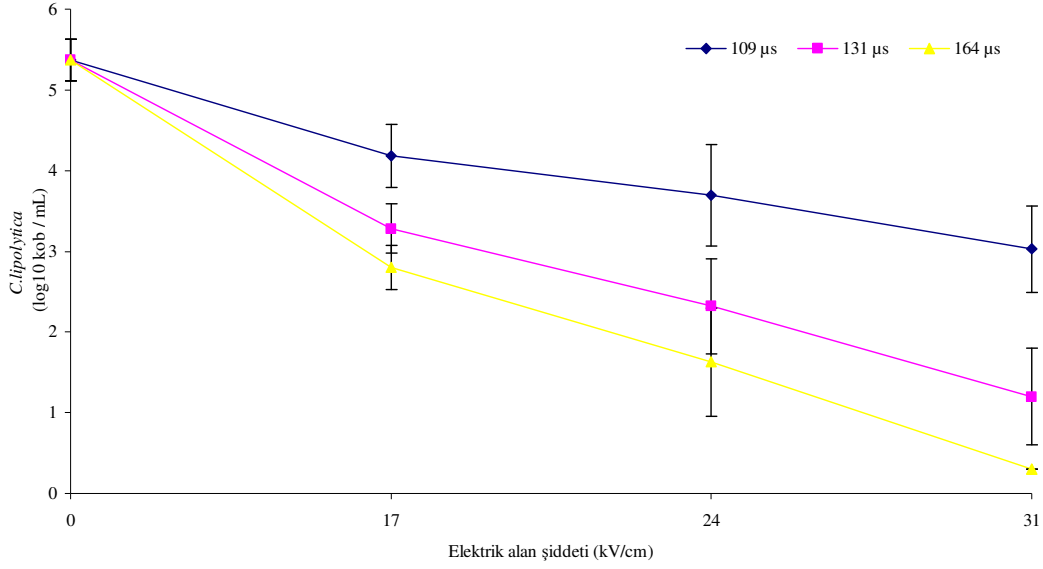
Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasının mikrobiyolojik özellikler üzerindeki etkisinin incelendiği bölümde ise kırmızı şarap örnekleri *E. coli* O157:H7, *C. lipolytica*, *S. cerevisiae*, *H. anomala* ve *L. bulgaricus* ile inoküle edilmiştir. Söz konusu mikroorganizmalarla inoküle edilen şarap örneklerinde 17, 24 ve 31 kV/cm'lik elektrik alan şiddeti değerlerinin her birinde prosesin 109, 131 ve 164 µs sürelerde uygulanması sonucunda elde edilen mikrobiyal inaktivasyon kontrol örneklerindeki başlangıç mikroorganizma sayılarıyla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Patojen bir mikroorganizma olan ve kırmızı şaraba inoküle edilen *E. coli* O157:H7'nin 109, 131 ve 164 µs uygulama süreli prosesler öncesinde kontrol örneklerindeki başlangıç sayısı  $5.96 \pm 0.20$  log kob/mL olarak belirlenmiştir. 17 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinde en uzun proses uygulama süresi olan 164 µs'de uygulanan proses sonucunda mikroorganizma sayısı  $3.03 \pm 1.33$  log kob/mL; 24 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinde 164 µs'lik proses sonucunda ise  $2.30 \pm 0.09$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Uygulanan en yüksek elektrik alan değeri olan 31 kV/cm'de ise 109 µs'lik uygulama süresi sonucunda mikroorganizma sayısı  $2.40 \pm 1.03$  log kob/mL; 131 µs'lik uygulama süresi sonucunda mikroorganizma sayısı  $2.00 \pm 1.07$  log kob/mL ve 164 µs'lik uygulama süresi sonucunda mikroorganizma sayısı  $1.42 \pm 0.98$  log kob/mL olarak ölçülmüştür (Şekil 4.26). Bu sonuçlara bakıldığında kırmızı şarap örneklerinde *E. coli* O157:H7'nin kontrol örneklerine göre en yüksek inaktivasyonunun prosesdeki en yüksek elektrik alan şiddeti ve en yüksek uygulama süresinin birlikte uygulandığı durumda olduğu görülmektedir. Bu azalma istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ( $p \leq 0.05$ ).



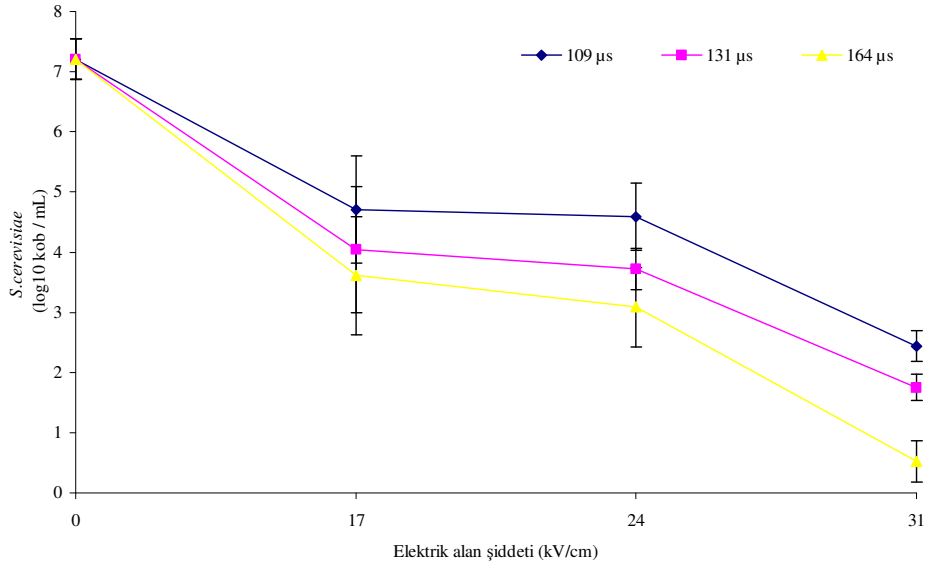
Şekil 4.26: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şaraba inoküle edilen *E.coli* O157:H7'nin inaktivasyonu.

Kırmızı şaraba inoküle edilen *C.lipolytica*'nın 109, 131 ve 164 μs uygulamaları öncesinde kontrol örneklerindeki başlangıç sayısı  $5.37 \pm 0.26$  log kob/mL olarak ölçülmüştür. Kontrol örneklerindeki mikroorganizma sayıları ilk olarak 109 μs'lik uygulama süreleri sonrasında tespit edilen değerlerle karşılaştırılmış olup; 109 μs'lik uygulama süresindeki en yüksek inaktivasyon oranı elektrik alan şiddeti 31 kV/cm iken ölçülmüştür. 31 kV/cm'de uygulama süresinin 164 μs'ye artırılmasıyla proses sonrası canlı kalan *C.lipolytica* sayısı  $0.30 \pm 0.00$  log kob/mL'ye düşmüştür ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 4.27).



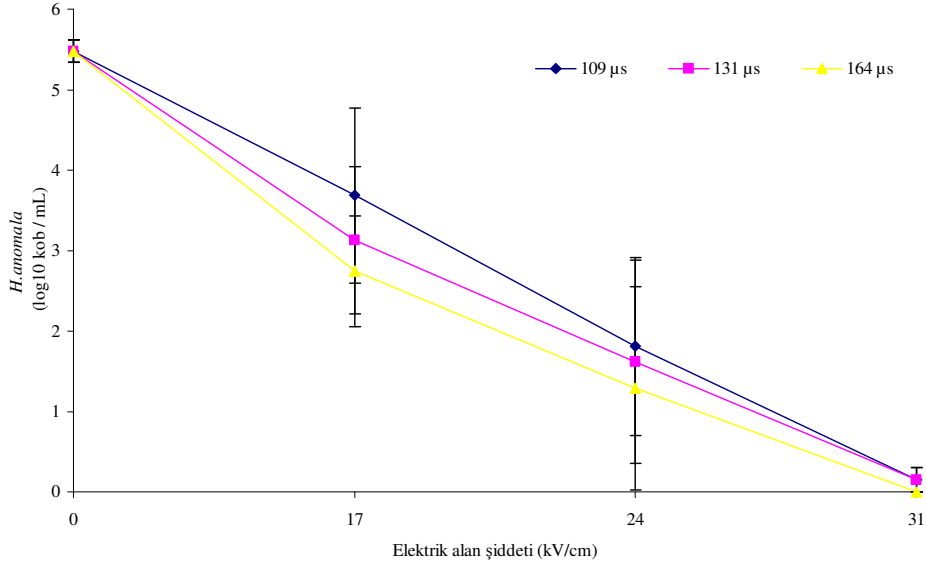
Şekil 4.27: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atılımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şaraba inoküle edilen *C.lipolytica*'nın inaktivasyonu.

Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken olduğu PEF uygulamasında kırmızı şaraba inoküle edilen *S.cerevisiae*'nın da PEF proses parametrelerine bağlı olarak inaktivasyonu değerlendirilmiştir. Kontrol örneklerindeki başlangıç *S.cerevisiae* sayısı  $7.21 \pm 0.33$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Uygulanan 31 kV/cm elektrik alan şiddetinde 109, 131 ve 164 µs'lik prosesler sonucunda kırmızı şarap örneklerindeki *S.cerevisiae* sayısı sırasıyla  $2.44 \pm 0.26$  log kob/mL,  $1.75 \pm 0.22$  log kob/mL ve  $0.52 \pm 0.35$  log kob/mL ölçülmüştür ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 4.28).



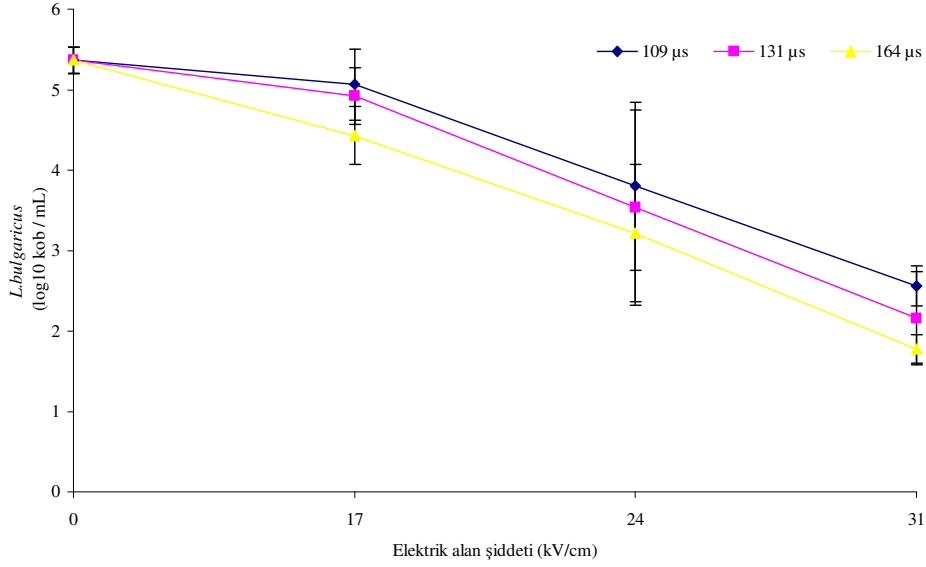
Şekil 4.28: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şaraba inoküle edilen *S.cerevisiae*'nin inaktivasyonu.

Kırmızı şaraba inoküle edilen *H.anomala*'nın kontrol örneklerindeki başlangıç mikroorganizma sayısı  $5.48 \pm 0.44$  log kob/mL olarak belirlenmiştir. PEF prosesinde uygulama süresi 164  $\mu$ s, elektrik alan şiddeti ise 17 kV/cm olduğunda şarap örneğinde canlı kalan *H.anomala* sayısı  $2.74 \pm 0.69$  log kob/mL; 24 kV/cm olduğunda  $1.29 \pm 0.26$  log kob/mL ve 31 kV/cm olduğunda ise  $0.00 \pm 0.00$  log kob/mL olarak ölçülmüştür. En yüksek inaktivasyon istatistiksel açıdan önemli düzeyde olup prosesteki en uzun uygulama süresi ve en yüksek elektrik alan şiddetinin birlikte uygulandığı durumda görülmüştür ( $p \leq 0.05$ )(Şekil 4.29).



Şekil 4.29: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şaraba inoküle edilen *H.anomala*'nın inaktivasyonu.

Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresindeki artışın mikroorganizmaların inaktivasyonunu artırması kırmızı şaraba inoküle edilen *L.bulgaricus*'un PEF prosesine uğratılması sonucunda da görülmüştür. 109, 131 ve 164 μs'lik PEF prosesleri öncesinde kontrol örneklerindeki *L.bulgaricus*'un başlangıç sayısı  $5.37 \pm 0.16$  log kob/mL'dir. En fazla inaktivasyon proste uygulanan en yüksek elektrik alan şiddeti olan 31 kV/cm ve beraberinde en uzun uygulama süresi olan 164 μs'nin uygulandığı durumda görülmüştür. Bu parametrelerin uygulanmasından sonra ölçülen *L.bulgaricus* sayısı  $1.78 \pm 0.18$  log kob/mL'dir ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 4.30).

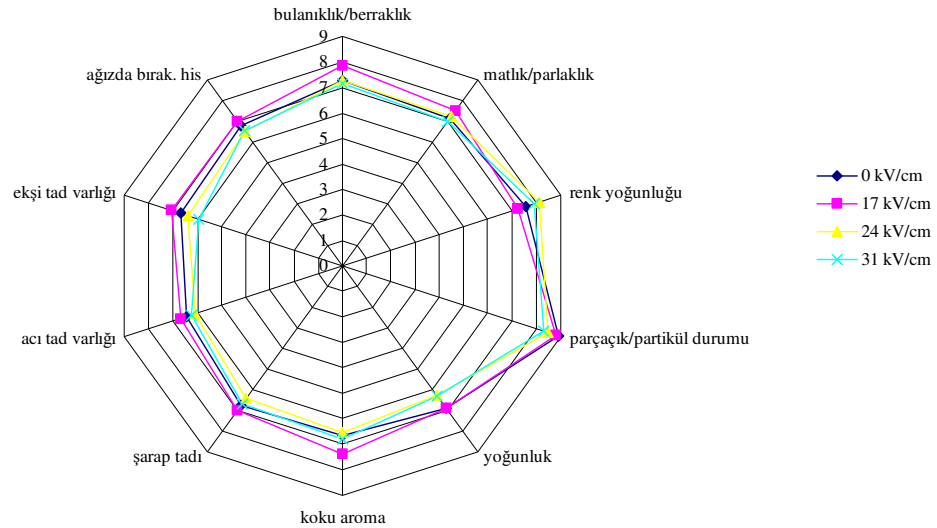


Şekil 4.30: Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin değişken parametreler olduğu atıllımlı elektrik akım uygulamasıyla proses edilmiş kırmızı şaraba inoküle edilen *L. bulgaricus*'un inaktivasyonu.

#### 4.1.3. Atıllımlı Elektrik Akımı (PEF) uygulamasında elektrik alan şiddetinin kırmızı şarabın duyuşal özellikleri üzerine etkisi

PEF prosesinin şarabın duyuşal özellikleri üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bölümde yalnızca elektrik alan şiddeti bağımsız değişken olarak alınmıştır. Kırmızı şarap elektrik alan şiddetinin bir fonksiyonu olarak 0 (kontrol), 17, 24 ve 31 kV/cm'lik elektrik alan şiddetlerinde, 20°C uygulama sıcaklığında ve 164 μs uygulama süresinde proses edilmiş olup; bu prosesin şarabın görşel, koku ve tat özellikleri üzerinde etkisi olup olmadığı incelenmiştir. Panelistler tarafından yapılan değerlendirme sonucunda görşel değerlendirme bölümünün parametreleri arasında yer alan şarabın renk yoğunluğu puanının 24 ve 31 kV/cm elektrik alan şiddetindeki PEF uygulamaları sonrasında hafif

bir artış gösterdiği yani tipik şarap rengine daha çok yaklaştığı; parçacık-partikül durumu puanının uygulanan elektrik alan şiddetinin artmasına bağlı olarak hafif miktarda azaldığı yani şarabın pürüzlülüğünde hafif miktarda artış olduğu ve yoğunluk-şarap gözyaşı puanında ise 24 ve 31 kV/cm elektrik alan şiddetindeki PEF uygulamaları sonrasında hafif bir azalma olduğu yani şarabın tipik yoğunluğundan hafif miktarda uzaklaştığı; tadarak değerlendirme bölümünün parametreleri arasında yer alan ekşi tat varlığının puanının ise 24 ve 31 kV/cm elektrik alan şiddetindeki PEF uygulamaları sonrasında hafif bir azalma gösterdiği yani şarabın ekşiliğinin hafif miktarda arttığı görülmüştür. Fakat yapılan istatistiksel analizler sonucunda elektrik alan şiddeti ve en uzun uygulama süresinin şarabın duyuşal özelliklerinde önemli bir değişime neden olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.31).



Şekil 4.31: Elektrik alan şiddetinin değişken parametre olduğu atımlı elektrik akımı ile proses edilen kırmızı şarapta yapılan duyuşal değerlendirmenin sonucu.

## 5. TARTIŞMA ve ÖNERİLER

PEF teknolojisi çeşitli gıdaların pastörizasyonunda gıdanın kalite özelliklerinde değişikliğe yol açmadan patojen ve gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmaların oda sıcaklığında inaktive edilebilmesini sağlamaktadır. PEF ile mikrobiyal inaktivasyon çalışmaları genellikle portakal, çilek ve elma gibi meyve sularında uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar PEF'in önemli seviyede mikrobiyal inaktivasyona neden olduğu ve inaktivasyon seviyesinin uygulanan gıdaya, inaktivasyonu hedeflenen mikroorganizmalara, ortam koşullarına ve PEF proses parametrelerine bağlı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kontrol örnekleri ve PEF ile proses edilmiş örnekler arasında fizikokimyasal özellikler bakımından önemli farklar görülmemiştir. PEF prosesi pek çok sıvı gıdada uygulanmış olmasına rağmen; şarapta bozulmaya neden olan mikroorganizmalar üzerinde etkinliğinin değerlendirilmesine yönelik çalışmalar çok azdır.

Şarapta mikrobiyal stabilizasyonun sağlanması için çoğunlukla koruyucu maddeler kullanılmaktadır. Bu koruyucu maddelerden kükürt dioksit (SO<sub>2</sub>)'in kullanımı özellikle yaygındır. SO<sub>2</sub>'nin antimikrobiyal özelliğinin yanı sıra antioksidan olarak ve şarapta fenolik maddelerin ekstraksiyonunun sağlanmasında da olumlu etkileri vardır. Ancak şarapta gelişen istenmeyen mikroorganizma suşları SO<sub>2</sub>'ye karşı dirençleri bakımından farklılık göstermektedir. Bu nedenle mikrobiyal stabilizasyon için daha etkili bir uygulamaya gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca Dünya Sağlık Örgütü (WHO) SO<sub>2</sub>'e hassasiyeti olan ve/veya astım hastası bireyler için SO<sub>2</sub> miktarının minimize edilmesi gerektiğini savunmaktadır. Şarapta mikroorganizmaların uzaklaştırılması ve mikrobiyal stabilizasyonunun sağlanması için dekantasyon, santrifüj ve filtrasyon gibi

uygulamalar da yapılmaktadır. Ancak bu uygulamalar yeterince etkili sonuç vermemekte ve/veya şarabın duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bu nedenlerden dolayı şarapta istenmeyen mikroorganizmaların uzaklaştırılması ve mikrobiyal stabilizasyonun sağlanabilmesi için alternatif metotlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla tez çalışması kapsamında kırmızı şarap örneklerine PEF prosesi uygulanarak proses öncesi ve sonrasında ürünün fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla pH, °Briks, kondaktivite, titrasyon asitliği, renk, toplam fenolik madde miktarı, toplam antioksidan kapasitesi, toplam monomerik antosiyanin miktarı ve mineral madde ölçümleri; duyuşal özelliklerin ölçümü ve bu örneklere inoküle edilen *E. coli* O157:H7, *C. lipolytica*, *S. cerevisiae*, *H. anomala* ve *L. bulgaricus*'un inaktivasyonu hedeflenmiştir. Çalışmalar iki ayrı grupta yapılmış olup; birinci grupta elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığı; ikinci grupta ise elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi bağımsız değişken olarak alınmıştır.

Birinci grup analizlerden elde edilen sonuçlara göre artan elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının kırmızı şarabın toplam antioksidan kapasitesi ve toplam monomerik antosiyanin miktarı dışında pH, °Briks, kondaktivite, titrasyon asitliği, renk değerleri ve toplam fenolik madde miktarında önemli bir değişime neden olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0.05$ ).

Mineral madde konsantrasyonları incelendiğinde artan elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığının mineral madde konsantrasyonlarında önemli bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür ( $p>0.05$ ). Şarapta incelenen mineral maddelerde en yüksek konsantrasyona sahip olanın potasyum olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun hammaddenin yetiştirilmesi sırasında potasyum ağırlıklı gübre kullanılmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Aynı zamanda elde edilen verilere göre

elektrotlardan örneklere herhangi bir metal iyon geçişinin tespit edilmediği görülmüştür. Potasyumdan sonra en yüksek ölçüm sırasıyla magnezyum, fosfor, kalsiyum, sodyum, mangan ve demir iyonlarında yapılmıştır. Ölçümü yapılan diğer 9 metal iyonu ise iz miktarda tespit edilmiştir.

Artan elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığı şaraba inoküle edilen mikroorganizmalarda önemli miktarda azalmaya neden olmuştur ( $p \leq 0.05$ ). İnoküle edilen mikroorganizmaların inaktivasyon oranları *H.anomala* = *C.lipolytica* = *S.cerevisiae* > *E.coli* O157:H7 > *L.bulgaricus* olarak sıralanmıştır. Mikroorganizmaların en yüksek inaktivasyonları 31 kV/cm ve 30°C parametrelerinin birlikte uygulandığı durumda görülmüş olup; bu parametrelerdeki inaktivasyon oranları *H.anomala*, *C.lipolytica* ve *S.cerevisiae* için %100, *E.coli* O157:H7 için %74.6 ve *L.bulgaricus* için %66.7'dir.

İkinci grup analizlerden elde edilen sonuçlara göre artan elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin kırmızı şarabın pH, °Briks, kondaktivite, titrasyon asitliği, renk değerleri, toplam fenolik madde miktarı, toplam antioksidan kapasitesi ve toplam monomerik antosiyanin miktarında önemli bir değişime neden olmadığı tespit edilmiştir ( $p > 0.05$ ).

Mineral madde konsantrasyonları incelendiğinde artan elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin mineral madde konsantrasyonlarında önemli bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür ( $p > 0.05$ ). Şarapta incelenen mineral maddelerde en yüksek konsantrasyona sahip olanın potasyum olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun hammaddenin yetiştirilmesi sırasında potasyum ağırlıklı gübre kullanılmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Aynı zamanda elde edilen verilere göre elektrotlardan örneklere herhangi bir metal iyon geçişinin tespit edilmediği ortaya

çıkıştır. Potasyumdan sonra en yüksek ölçüm sırasıyla magnezyum, fosfor, kalsiyum, sodyum, mangan ve demir iyonlarında yapılmıştır. Ölçümü yapılan diğer 9 metal iyonu ise iz miktarda tespit edilmiştir.

Artan elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi şaraba inoküle edilen mikroorganizmalarda önemli miktarda azalmaya neden olmuştur ( $p \leq 0.05$ ). İnoküle edilen mikroorganizmaların inaktivasyon oranları *H.anomala* > *C.lipolytica* > *S.cerevisiae* > *E.coli* O157:H7 > *L.bulgaricus* olarak sıralanmıştır. Mikroorganizmaların en yüksek inaktivasyonları 31 kV/cm ve 164 µs parametrelerinin birlikte uygulandığı durumda görülmüş olup; bu parametrelerdeki inaktivasyon oranları *H.anomala* için %100, *C.lipolytica* için %94.4, *S.cerevisiae* için %92.8, *E.coli* O157:H7 için %76.2 ve *L.bulgaricus* için %66.9'dur.

Şaraba inoküle edilen mikroorganizmalar arasında genel olarak mayalar PEF uygulamasına karşı bakterilerden daha fazla hassasiyet göstermiştir. Bu durum maya hücrelerinin bakteri hücrelerinden daha büyük boyutta olması ve hücre zarlarının elektropore olması için daha düşük elektrik alan şiddetine gereksinim duymasından kaynaklanmaktadır.

Bakterilerin inaktivasyon seviyeleri arasında değerlendirme yapıldığında ise *E.coli* O157:H7'nin *L.bulgaricus*'a göre daha fazla hassasiyet gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarının gram negatif bakterilere göre daha kalın ve hücre duvarlarının peptidoglikan tabakalarında yer alan teikoik asitlerin varlığına bağlı olarak daha sert olmasından dolayı gram negatif bakterilere göre PEF uygulamasına dirençlerinin daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.

İnoküle edilen mikroorganizmaların en yüksek inaktivasyon oranlarının birinci grup analizlerde 31 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 30°C uygulama sıcaklığının birlikte uygulandığı; ikinci grup analizlerde ise 31 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 164 µs uygulama süresinin birlikte uygulandığı durumlarda görülmesi mikrobiyal inaktivasyonun artan elektrik alan şiddeti, uygulama sıcaklığı ve uygulama süresi parametrelerine paralel olarak arttığını göstermiştir. Elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığı veya elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi gruplarında değişkenlerden birinin artması diğerinin inaktivasyon üzerindeki etkisini artırmıştır. Bunun dışında mikroorganizmaların iki çalışma grubundaki inaktivasyon seviyeleri kıyaslandığında uygulama sıcaklığının mayaların inaktivasyonunda; uygulama süresinin de bakterilerin inaktivasyonunda daha etkili olduğu görülmüştür.

PEF uygulamasının şarabın duyuşal özellikleri üzerindeki etkisinin değerlendirildiğı bölümde ise 0 (kontrol), 17, 24 ve 31 kV/cm elektrik alan şiddetlerinde 164 µs uygulama süresinde şarap proses edilmiş ve bu proseslerin şarabın görsel, koku ve tat özellikleri üzerinde etkisi olup olmadığı incelenmiştir. Sonuç olarak artan elektrik alan şiddetinin şarabın duyuşal özelliklerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0.05$ ).

Bu çalışma kapsamında elde edilen veriler başka gıda örnekleriyle çalışılmış olmasına rağmen literatürdeki çalışmalara benzerlik göstermektedir. Şöyle ki, Pina Pérez ve ark. (2007) model çözeltide ve bebek mamasında PEF uygulamasıyla *Enterobacter sakazakii*'nin inaktivasyonuna yönelik bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada elektrik alan şiddeti 10-40 kV/cm, uygulama süresi ise 60-3895 µs aralıklarında değişim göstermiştir. Elde edilen sonuçlara göre elektrik alan büyüklüğü ve uygulama süresi

artıkça hem model çözeltide hem de bebek mamasında bakteriyel inaktivasyonun arttığı belirtilmiştir.

Bulanık Ginkgo suyunda yapılan bir çalışmada; bu içecekte uygulanan PEF prosesinde elektrik alan şiddeti 30 kV/cm, uygulama süresi ise 348 µs olduğunda ise koliformların inaktivasyon oranının 2.77 log kob/mL, toplam bakteri inaktivasyon oranının ise 3 log kob/mL olduğu; elektrik alan şiddeti yine 30 kV/cm iken uygulama süresinin 520 µs'ye çıkarılmasıyla koliformlardaki inaktivasyon oranının 3.39 log kob/mL'ye ve toplam bakterinin inaktivasyon oranının ise 4.44 log kob/mL'ye çıktığı belirtilmiştir. Bu çalışmanın elektrik alan büyüklüğünün mikrobiyal inaktivasyon üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bölümünde elektrik alan şiddeti 30 kV/cm, uygulama süresi 260 µs ve uygulama sıcaklığı 40°C iken koliformlarda 3.65 log kob/mL, toplam bakteride ise 3.81 log kob/mL azalma; elektrik alan büyüklüğünün 25 kV/cm'e düşürülüp diğer parametrelerin sabit kaldığı durumda koliformlarda 3.05 log kob/mL, toplam bakteride ise 3.40 log kob/mL azalma görülmüştür. Bu çalışmanın uygulama sıcaklığının mikrobiyal inaktivasyon üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bölümünde elektrik alan şiddeti 30 kV/cm, uygulama sıcaklığı 15°C iken koliformlarda ve toplam bakteride 2.26 ve 2.57 log kob/mL azalma; elektrik alan şiddetinin sabit tutulup sıcaklığın 40°C'ye çıkarılmasıyla koliformlar ve toplam bakteride sırasıyla 3.65 ve 3.81 log kob/mL azalma olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçlara göre mikrobiyal inaktivasyonun elektrik alan büyüklüğü, uygulama süresi ve sıcaklığa bağlı olarak arttığı belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2007).

Aronsson ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada bir model çözeltiye inoküle edilmiş *E. coli* ve *S. cerevisiae* üzerinde PEF'in inhibe edici etkisinin uygulama sıcaklığının 10°C'den 30°C'ye çıkarılmasıyla arttığını belirtmiştir. Bu durum hücrelerin

içinde bulunduğu ortamın sıcaklığının hücrelerin akışkan özelliklerini etkilemesine bağlı olarak açıklanmıştır. Düşük sıcaklıklarda fosfolipitler katı jel yapı içinde sıkıca paketlenirlerken; yüksek sıcaklıklarda ise likit-kristal bir yapıya sahip olup daha serbest bir halde bulunurlar. Jel ve likit kristal yapı arasındaki faz geçişi sıcaklığa bağlıdır ve bu durum hücre membranının fiziksel stabilitesini etkileyebilmektedir.

PEF prosesinin üzüm suyundaki oksidatif enzimlerin üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada PEF proses değişkenleri elektrik alan büyüklüğü, atım sıklığı, atım genişliği ve uygulama süresi olarak belirlenmiştir (Marsellés-Fontanet ve Martín-Belloso 2007). Bu değişkenler arasında en çok uygulama süresinin enzim inaktivasyonu üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir.

Reina ve ark. (1998) *L. monocytogenes* ile ilgili yaptıkları çalışmada bu bakteriyi 25 ve 35 kV/cm elektrik alan şiddetlerine maruz bırakıp; elektrik alan büyüklüğünün uygulama süresine bağlı olarak etkinliğini incelemişlerdir. 100 µs gibi kısa bir uygulama süresinde her iki uygulama arasında çok net bir fark görülmemiş iken; uygulama süresinin 300 ve 600 µs olduğu durumlarda elektrik alan şiddetinin mikrobiyal inaktivasyondaki etkinliğinin arttığını belirtmişlerdir.

Şarapta bozulmaya neden olan mikroorganizmalar ile ilgili yapılan bir çalışmada 16-31 kV/cm arasında değişen elektrik alan şiddetine sahip PEF uygulamasının mayalar ve laktik asit bakterilerinin inaktivasyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir (Puértolas ve ark., 2009). Laktik asit bakterilerinin uygulama ortamından bağımsız olarak mayalara göre PEF prosesine daha dirençli olduğu görülmüştür. Bu durumun maya hücrelerinin bakteri hücrelerinden daha büyük olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir.

Dutruex ve ark. (2000) yağsız süte inoküle edilen *E.coli* ve *L.innocua*'nın PEF prosesiyle inaktivasyonunu incelemiştir. 41 kV/cm elektrik alan şiddetine sahip 35

atımlık PEF uygulamasının *E.coli*'nin 3.4 log kob/mL, *L.innocua*'nın ise 2.3 log kob/mL inaktivasyonuna neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durumun *E.coli*'nin gram negatif bir bakteri olmasından dolayı gram pozitif olan *L.innocua*'ya göre PEF uygulamasına karşı daha hassas olmasından kaynaklandığını aktarmışlardır. Ayrıca *E.coli*'nin hücre çapının ve buna bağlı olarak hücresel yapısının *L.innocua*'ya göre büyük olmasının PEF prosesine karşı *L.innocua*'dan daha hassas olmasında etkili olduğunu ilave etmişlerdir.

Sıvı yumurtada yapılan bir çalışmada Hermawan ve ark. (2004) PEF ile 55°C sıcaklık uygulaması kombinasyonunun sıvı yumurtanın kondaktivite, °Briks, pH ve renk ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ) özelliklerinde kontrol örneklerine göre herhangi bir farklılığa yol açmadığını belirtmiştir.

Yeom ve ark. (2004) PEF ile 60°C'de 30 s'lik ısı uygulamasını kombine ederek yoğurt bazlı ürünlerde mikrobiyal inaktivasyonun sağlanmasını amaçlamıştır. Aynı zamanda bu uygulamanın ürünlerin fiziksel ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bu araştırmanın sonucu olarak uygulanan prosesin ürünlerin pH, °Briks, renk ve duyuşal özellikleri üzerinde bir değişime yol açmadığını belirtmişlerdir.

PEF ve ısısal uygulamaların elma suyunun pastörizasyonu üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada; PEF prosesi 35 kV/cm elektrik alan şiddetinde, 4 µs atım genişliğinde, 1200 atım/s frekansta ve bipolar dalga modelinde uygulanmıştır. Isı uygulaması 90°C sıcaklıkta ve 30 s süreli olarak gerçekleştirilmiştir. Her iki uygulamanın elma suyunun pH değeri, toplam asitliği ve fenolik bileşen miktarlarındaki etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; PEF uygulamasının elma suyunun fizikokimyasal özelliklerini koruduğu; ancak ısı uygulamasının pH ve elma suyunun asitliğinde küçük miktarda azalmaya neden olduğu görülmüştür. Bu durumun analizler sırasındaki okuma hatalarından ve sıcaklığın yükselmesine bağlı olarak organik asitlerin

uçucu etkisinin artmasına bağlı olabileceği belirtilmiştir. İki yöntem toplam fenolik madde bileşenlerindeki etkileri bakımından da farklılık göstermiştir. Isı uygulamasının fenolik bileşiklerin önemli oranda (%32.2) kaybına neden olduğu; ancak PEF uygulamasının yalnızca %14.49'luk kayba neden olduğu tespit edilmiştir. Tüm veriler değerlendirildiğinde; PEF uygulaması sonrasında elma suyunun fizyokimyasal özelliklerinin ısı uygulamasına oranla daha iyi korunduğu belirtilmiştir (Aguilar-Rosas ve ark., 2007).

Oms-Oliu ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada karpuz suyunda uygulanan PEF prosesinin parametrelerinin karpuz suyunun likopen, C vitamini ve antioksidan kapasitesi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Karpuz suyuna 30-35 kV/cm elektrik alan büyüklüğüne sahip, atım frekansı 50-250 Hz, uygulama süresi 50-2050 µs, atım genişliği 1-7 µs aralıklarında ve monopolar/bipolar polaritelere sahip PEF uygulaması yapılmıştır. Yüksek elektrik alan değerlerine, frekanslara ve atım genişliklerine sahip PEF uygulamaları sonucunda karpuz suyunda likopen ve antioksidan kapasitenin yüksek oranlarda korunduğu aktarılmıştır. Buna rağmen bu uygulamalar C vitamini içeriğini düşürmüştür. Maksimum bağlı likopen içeriğinin (%113) sağlanması, C vitamini içeriğinin %72 oranında ve antioksidan kapasitenin %100 korunması 50 µs'lik 35 kV/cm elektrik alan şiddeti, 200 Hz frekans ve 7 µs bipolar atımlara sahip PEF prosesinin uygulandığı durumda sağlanmıştır.

PEF uygulamasının yeşil çay içeceğinde *E. coli* ve *S. aureus* inaktivasyonundaki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada aynı zamanda PEF'in yeşil çayın renk, polifenol miktarı ve toplam serbest amino asitler üzerindeki etkisine de bakılmıştır (Zhao ve ark., 2008). Yeşil çay örneklerine *E. coli* ve *S. aureus* inoküle edilmiş daha sonra bu örnekler 18.1, 27.4 ve 38.4 kV/cm elektrik alan şiddetlerinde ve 40, 80, 120, 160 ve 180 µs

toplam uygulama sürelerinde PEF prosesine uğratılmıştır. 38.4 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 160-200 µs uygulama sürelerinde PEF prosesi sonucunda *E. coli* ve *S. aureus* popülasyonlarında sırasıyla 5.6 ve 4.9 log kob/mL azalma görülmüştür. Ayrıca PEF prosesi yeşil çay örneklerinin renk, polifenol miktarı ve toplam serbest amino asitlerinde önemli bir değişime yol açmamıştır. PEF ile proses edilen gıda ürünlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine ilişkin olarak yapılan diğer bazı çalışmalarda da PEF'in bu ürünlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinde bir değişime yol açmadığı belirtilmiştir (Evrendilek ve ark., 2001; Qin ve ark., 1995b; Yeom ve ark., 2000).

Bu çalışma sonucunda farklı elektrik alan şiddeti ve uygulama sıcaklığı veya farklı elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi parametrelerine sahip PEF prosesiyle kırmızı şarapta istenmeyen mikroorganizmaların inaktivasyonu sağlanırken; ürünün fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerinde önemli bir değişim meydana gelmediği saptanmıştır. Bu nedenle, kırmızı şaraplarda fermantasyonun sonlandırılması amacıyla ilave edilen SO<sub>2</sub>'ye alternatif olarak PEF uygulamasının şarapta mikrobiyal inaktivasyonu sağlayarak fiziksel, kimyasal ve beraberinde duyuşal özelliklerin korunmasında etkili olduğu görülmüştür. Gelecekte bu konuda yapılacak olan çalışmalar ile şarapta PEF teknolojisinin gelişmesi ve endüstriyel alanda da kullanılabilmesine olanak sağlanacaktır.

**KAYNAKLAR**

Acar, J. ve Cemeroğlu, B. 1986. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Sanem Matbaası, Ankara. sf. 225.

Acar, J. ve Cemeroğlu, B. 1998. Meyve Sebze Teknolojisi, Cilt II. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, ANKARA. sf.406.

Aerny, J. 1986a. Diminution de la teneur des vins en anhydride sulfureux 1. L'anhydride sulfureux et ses propriétés utiles en vinification. *Reveu suisse. Vit. Arb. Horticult.* 18: 17-21.

Aerny, J. 1986b. Diminution de la teneur des vins en anhydride sulfureux 2. Aspects pratiques. *Reveu suisse. Vit. Arb. Horticult.* 18: 143-146.

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

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

Aguiló-Aguayo, I., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R. and Martín-Belloso, O. 2009b. Changes in quality attributes throughout storage of strawberry juice processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments. *Food Sci. Technol.* 42: 813-818.

Akın, E. 2007. Atılımlı Elektrik Akımı Uygulamasının Fonksiyonel Amaçlı Hazırlanan Havuç İçeceği'nin Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gıda Mühendisliği Bölümü, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, sf.70.

Altuntaş, J.A. 2007. Atılımlı elektrik akım (PEF) uygulaması ile vişne suyu, kayısı ve şeftali nektarlarının bazı teknolojik özellikleri ve mikrobiyolojik inaktivasyonunun incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gıda Mühendisliği Bölümü, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, sf.109.

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

Amiali, M., Ngadi, M., Smith, J.P. and Raghavan, V. 2005. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteridis* in liquid egg using continuous pulsed electric field system. *Int. J. Food Engin.* 1(5).

Anonim, 2007. NMKL method No: 186, 2007: Trace elements- As, Cd, Hg, Pb and other elements. Determination by ICP-MS after pressure digestion.

Anonim, 2009. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing Technologies pulsed electric fields. U.S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition June 2.

Aronsson, K., Lindgren, M., Johansson, B.R. and Rönner, U. 2001. Inactivation of microorganisms using pulsed electric fields: the influence of process parameters on *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2: 41-54.

Aronsson, K. and Rönner, U. 2001. Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2: 105-112.

Barbosa-Cánovas, G.V., Gongora-Nieto, M.M., Pothakamury, U.R. and Swanson, B.G. 1999. In Preservation of foods with pulsed electric fields. pp.1-19,108-155, 156-171. Academic Press Ltd., London.

Beveridge, J.R., Wall, K., Macgregor, S.J; Anderson, J.G. and Rowan, N.J. 2004. Pulsed electric field inactivation of spoilage microorganisms in alcoholic beverages and the influence of pulse profile. Pulsed Power Conference, 15-18 June 2003. Digest of Technical Papers. PPC-2003. 14th IEEE International. 2: 1132-1135.

Benda, I. 1962. Ökologische Untersuchungen über die Hefeflora Im fränkischen Weinbaugebiet. *Bayer. Landwirtsch. Jahrbuch.* 39: 595-614.

Blouin, J. 1966. Contribution à l'étude des combinaisons de l'anhydride sulfureux dans les moûts et les vins. *Ann. de Technol. Agric.* 15: 223-287 ve 359-401.

Burroughs, L.F. 1975. Determining free sulfur dioxide in red wines. *Amer. J. En. Viticult.* 26: 25-29.

Cerutti, G. 1993. Il rischio alimentare, 2nd ed. pp. 177–193. Tecniche Nuove, Milano.

Chang, D.C., Chassy, B.M., Saunders, J.A. and Sowers, A.E. 1992. Electroporation and Electrofusion. pp. 9-28. Academic Press, New York.

Chichester, D.F. and Tanner, F.W.Jr. 1972. Antimicrobial food additives. In T.E.Furla (Ed.): *Handbook of Food Additives* (2nd ed.). pp. 115-184. CRC Pres. Cleveland.

Cortes, C., Esteve, M.J., Frigola, A. and Terregrosa, F. 2005. Quality characteristics of horchata (a Spanish vegetable beverage) treated with pulsed electric fields during shelf-life. *Food Chem.* 91: 319-325.

Coster, H.G.L. and Zimmermann, U. 1975. The mechanism of electrical breakdown in the membranes of *Valonia utricularis*. *J. Membr. Biol.* 22: 73-90.

Delfini, C. and Formica, J.V. 2001. Wine Microbiology: Science and Technology, Marcel Dekker, Inc. New York. p. 490.

Du Toit, M. and Pretorius, I.S., 2000. Microbial spoilage and preservation of wine: using weapons from nature's own arsenal—a review. *S. Afric. J. En. Viticult.* 21:76– 96.

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

Dunn, J.E. 2001. Pulsed electric field processing: an overview. In G.V. Barbosa-Cánovas and Q. H. Zhang (Ed.): *Pulsed Electric Fields in Food Processing: Fundamental Aspects and Applications*. pp. 1-30. Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, PA.

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

Dutreux, N., Notermans, S., Wijtzes, T., Góngora-Nieto, M.M., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 2000. Pulsed electric fields inactivation of attached and free-living *Escherichia coli* and *Listeria innocua* under several conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 54: 91-98.

Eschenbruch, R. 1974. Sulfite and sulfide formation during winemaking- a review. *American J. En. Viticult.* 25: 157-161.

Evrendilek, G.A., Li, S., Dantzer, W.R. and Zhang, Q.H. 2004b. Pulsed electric field processing of beer: Microbial, sensory and quality analyses. *J. Food Sci.* 69(8): 228-232.

Evrendilek, G.A., Streaker, C.B., Dantzer, W.R., Ratanatriwong, R., Zhang, Q.H. and Richter, E.R. 2001. Shelf life evaluations of liquid foods processed by pilot plant PEF processing system. *J. Food Process. Preserv.* 25: 238-297.

Evrendilek, G.A., Tok, F.M., Soylu, E.M. and Soylu, S. 2008. Inactivation of *Penicillium expansum* in sour cherry juice, peach and apricot nectars by pulsed electric fields. *Food Microbiol.* 25: 662-667.

Evrendilek, G.A., Yeom, H.W., Jin, Z.T. and Zhang, Q.H. 2004a. Safety and quality evaluation of yoghurt-based drink processed by a pilot plant PEF system. *J. Food Process. Engineer.* 27: 191-212.

Evrendilek, G.A., Zhang, Q. and Richter, E.R. 1999. Inactivation of *Escherichia coli* 8739 in apple juice by pulsed electric fields. *J. Food Protect.* 62(7): 793-796.

Evrendilek, G.A., Zhang, Jin, Z.T., Ruhlman, K.T., Qui, X, Zhang, Q.H. and Richter, E.R. 2000. Microbial safety and shelf-life of apple juice and cider processed by bench and pilot scale PEF systems. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 1: 77-86.

Fiala, A., Wouters, P.C., van den Bosch, E. and Creyghton, Y.L.M. 2001. Coupled electrical-fluid model of pulsed electric field treatment in a model food system. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2(4): 229-238.

Fornachon, J.C.M. 1965. Sulfur dioxide in wine making. *Australian Wine, Brew. Spirit Rev.* 83: 20-26.

Garcia, D., Gomez, N., Raso, J. and Pagan, R. 2005. Bacterial resistance after pulsed electric fields depending on the treatment medium pH. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 6(4): 388-395.

García-Ruiz, A., Bartolomé, B., Martínez-Rodríguez, A.J., Pueyo, E., Martín-Álvarez, P.J. and Moreno-Arribas, M.V. 2008. Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Cont.* 19: 835-841.

Garde-Cerdán, T., Marsellés-Fontanet, A.R., Arias-Gil, M., Ancín-Azpilicueta, C. and Martín-Belloso, O. 2008. Influence of SO<sub>2</sub> on the evolution of volatile compounds through alcoholic fermentation of must stabilized by pulsed electric fields. *Eur. Food Res. Technol.* 227: 401-408.

Garde-Cerdán, T., Marsellés-Fontanet, A.R., Arias-Gil, M., Ancín-Azpilicueta, C. and Martín-Belloso, O. 2007. Influence of SO<sub>2</sub> on the consumption of nitrogen compounds through alcoholic fermentation of must sterilized by pulsed electric fields. *Food Chem.* 103: 771-777.

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

Getchell, B.E. 1935. Electric pasteurization of milk. *Agricul. Engineer.* 16: 408-410.

Gil, J.V., Mateo, J.J., Jiménez, M., Pastor, A. and Huerta, T. 1996. Aroma compounds in wine as influenced by apiculate yeasts. *J. Food Sci.* 61: 1247-1249.

Gould, G.W. 1995. *New methods in Food Preservation*. Blackie Academic Professional, Glasgow, UK.

Grahl, T. and Märkl, H. 1996. Killing of microorganisms by pulsed electric fields. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45: 148-157.

Hamilton, W.A. and Sale, A.J. 1967. Effects of high electric fields on microorganisms. *Biochim. Biophys. Acta.* 148: 789-800.

Hammond, S.M. and Carr, J.G. 1976. The antimicrobial activity of SO<sub>2</sub> with particular reference to fermented and non-fermented fruit juices. In F.A. Skinner and W.B. Hugo (Ed.): *Inhibition and Inactivation of Vegetative Microbes*. pp. 89-110. Academic press, London.

Harrison, S.L., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1997. *Saccharomyces cerevisiae* structural changes induced by pulsed electric field treatment. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 30(3): 236-240.

Heinz, V., Toepfl, S. and Knorr, D. 2003. Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple juice pasteurization by pulsed electric fields treatment. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 4(2): 167-175.

Heresztyn, T. 1986. Formation of substituted tetrahydropyridines by species of *Brettanomyces* and *Lactobacillus* isolated from mousy wines. *Amer. J. En. Viticult.* 37: 127-132.

Hermawan, N., Evrendilek, G.A., Dantzer, W.R., Zhang, Q.H. and Richter, E.R. 2004. Pulsed electric field treatment of liquid whole egg inoculated with *Salmonella enteridis*. *J. Food Safety.* 24(1): 71-85.

Hirano, S., Imamura, T., Uchiama, K. and Yu, T.L. 1962. Formation of acrolein by *Clostridium perfringens*. *Chem. Abst.* 59. 4: 239-264., 3096c. Acta Medical University, Kagoshima.

Ho, S.Y. and Mittal, G.S. 1996. Electroporation of cell membranes: A review. *Critic. Rev. Biotechnol.* 16(4): 349-362.

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

Hochstrasser, R. 1955. Über einige Bedingungen beim Lindwerden der Weine. Dissertation ETA Zürich.

Hulsheger, H. and Niemann, E.G. 1980. Lethal effects of high voltage pulses on *E.coli* K12. *Radiat. Environ. Biophys.* 18(4): 281-288.

Hulsheger, H., Potel, J. and Niemann, E.G. 1983. Electric field effects on bacteria and yeast cells. *Radiat. Environ. Biophys.* 22(2): 149-162.

Iocco, P., Franks, T. and Thomas, M.R. 2001. Genetic transformation of major wine grape cultivars of *Vitis vinifera* L. *Transgen. Research.* 10: 105–112.

Ingram, M. 1948. The germicidal effects of free and combined SO<sub>2</sub>. *J. Soc. for Chem. Indust.* 67:18-21.

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

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

Jeyamkondan, S., Jayas, D.S. and Holley, R.A. 1999. Pulsed electric field processing of foods: a review. *J. Food Protect.* 62(9): 1088-1096.

Jin, Z.T., Ruhlman, K.T., Qiu, X., Jia, M., Zhang, S. and Zhang, Q., H. 1998. Shelf-life evaluation of pulsed electric fields treated aseptically packaging material cranberry juice. Atlanta, GA: Inst. Food Technologists, 1998, p.70.

Jin, Z.T. and Zhang, Q.H. 1999. Pulsed electric field inactivation of microorganisms and preservation of quality of cranberry juice. *J. Food Process. Preserv.* 23(6): 481-497.

Joslyn, M.A. and Braverman, J.B.S. 1954. The chemistry and technology of the pretreatment and preservation of fruit and vegetable products with SO<sub>2</sub> and sulfites. *Adv. Food Research*. 5: 97-160.

Kielhöfer, E. 1963. Etat et action de l'acide sulfureux dans les vins. Règles de son emploi. *Ann. Technol. Agric.* 12: 77-89.

King, A.D. Jr., Ponting, J.D., Sanshuck, D.W., Jackson, R. and Mihara, K. 1981. Factors affecting death of yeast by sulfur dioxide. *J. Food Protect.* 44: 92-97.

Kinosita, K. Jr. and Tsong, T.Y. 1977a. Voltage-induced pore formation and hemolysis of human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* 471: 227-242.

Kinosita, K. Jr. and Tsong, T.Y. 1977b. Hemolysis of erythrocytes by a transient electric field. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74: 1923-1927.

Knorr, D., Geulen, M., Grahl, T. and Sitzmann, W. 1994. Food application of high electric field pulses. *Trends Food Sci. Technol.* 5: 71-75.

Kroemer, K. and Krumbholz, G. 1931. Untersuchungen über osmophile Sproßpilze. I. Beiträge zur Kenntnis der Gärungsvorgänge und der Gärungserreger der Trockenbeereenauslesen. *Arch. fuer Mikrobiol.* 2: 352-410.

Krumbholz, G. 1931. Untersuchungen über osmophile Sproßpilze. II. Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Zygosaccharomyces*. *Archiv fuer Mikrobiologie.* 2: 411-492.

Lacroix, J.P. and Van Sinay, C. 1992. La conservation des aliments par ionisation. *Indust. Aliment. Agric.* 10: 701-703.

Lado, B.H. and Yousef, A.E. 2002. Alternative food-preservation Technologies: Efficacy and mechanisms. *Microbes Infect.* 4(4): 443-440.

Lebovka, N.I., Praporscic, I. and Vorobiev, E. 2004. Effect of moderate thermal and pulsed electric field treatments on textural properties of carrots, potatoes and apples. *Innov. Food Sci. Emerging. Technol.* 5(1): 9-16.

Lee, J., Durst, R.W. and Wrolstad, R.E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants and wines by the pH differential method: collaborative study. *J. AOAC Int.* 88(5): 1269-1278.

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

Luck, E. 1985. *Chemische Lebensmittelkonservierung*. Springer Verlag, Berlin.

Lueck, E. 1980. Sulfur dioxide. *In: Lück, E. and Jager, M. (eds.): Antimicrobial Food Additives.* pp. 115-131. Springer-Verlag, Berlin.

Lustrato, G., Alfano, G., Belli, C., Grazia, L., Lorizzo, M., Maiuro, L. and Massarella, F. 2003. Controlling of grape must fermentation in early winemaking phases: the role of electrochemical treatment. *J. Appl. Microbiol.* 95: 1087-1095.

Marques Gomes, V.J. and Da Silva Babo, M.F. 1985. Les technologies de vinification permettant de diminuer les doses de SO<sub>2</sub>. *Bullet. de l'Office Int. du Vin.* 58: 652-653, 624-636.

Marsellés-Fontanet, Á.R. and Martín-Belloso, O. 2007. Optimization and validation of PEF processing conditions to inactivate oxidative enzymes of grape juice. *J. Food Engineer.* 83: 454-462.

Martin-Belloso, O., Vega-Mercado, H., Qin, B.L., Chang, F. J., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1997a. Inactivation of *Escherichia coli* suspended in liquid egg using pulsed electric fields. *J. of Food Process. Preserv.* 21(3): 193-208.

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

Martinez, G., Barker, H.A. and Horecker, B.L. 1963. Specific mannitol dehydrogenase from *Lactobacillus brevis*. *J. Biol. Chem.* 238: 1598-1603.

Martini, A., Federici, F. and Rosini, G. 1980. A new approach to the study of yeast ecology of natural substrates. *Can. J. Microbiol.* 26: 856-859.

Mayer, K. 1974. Nachtellige Auswirkungen auf die Weinqualität bei ungünstig verlaufenem biologischen Säureabbau. *Schweiz Zeitschrift Obst-u. Weinbau*. 110:385-391.

McDonald, C.J., Lloyd, S.W., Vitale, M. A., Petersson, K. and Innings, F. 2000. Effects of pulsed electric field on microorganisms in orange juice using electric field strengths of 30 and 50 kV/cm. *J. Food Sci.* 2000. 65(6): 984–989.

Mertens, B. and Knorr, D. 1992. Developments of nonthermal processes for food preservation. *Food Technol.* 46 (5): 124-133.

Min, S., Evrendilek, G.A. and Zhang, H.Q. 2007. Pulsed electric fields: processing system, microbial and enzyme inhibition, and shelf life extension of foods. *IEEE Trans. On Plas. Sci.* 35(1): 59-73.

Min, S., Jin, Z.T., Yeom, H. W., Min, S.K. and Zhang, Q.H. 2003a. Commercial-scale pulsed electric field processing of orange juice. *J. Food Sci.* 68 (4): 1265–1271.

Min, S., Jin, Z.T. and Zhang, Q. H. 2003b. Commercial scale pulsed electric field processing of tomato juice. *J. Agric. Food Chem.* 51 (11): 3338–3344.

Min, S., Laura, R. and Zhang, Q.H. 2002. Water activity and the inactivation of *Enterobacter cloacae* inoculated in chocolate liquor and a model system by pulsed electric field treatment. *J. Food Process. Preserv.* 26(5): 323-337.

Minarik, E. 1983. Levures de contamination des vin embouteilles. *Bullet. de l'Office Int. du Vin.* 56: 414-419.

Moon, J.H. and Terao, J. 1998. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. *J. Agric. Food Chem.* 46: 5062-5065.

Mosqueda-Melgar, J. 2007. Aplicación de pulsos eléctricos de alta intensidad de campo en combinación con sustancias antimicrobianas para garantizar la calidad e inocuidad microbiológica de zumos de frutas. Tesis Doctoral. Departamento de Tecnología de Alimentos. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. pp. 206.

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

Mosqueda-Melgar, J., Raybaudi-Massilia, R.M. and Martín-Belloso, O. 2008. Combination of high-intensity pulsed electric fields with natural antimicrobials to inactivate pathogenic microorganisms and extend the shelf-life of melon and watermelon juices. *Food Microbiol.* 25: 479-491.

Ngadi, M. O., Bazhal, M.I. and Raghavan, G.S.V. 2003. Engineering aspects of Pulsed Electroporation of vegetable tissues. *J. Sci. Res. Dev.* 5:1-9.

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

Ohshima, T., Sato, K., Terauchi, H. and Sato, M. 1997. Physical and chemical modifications of high-voltage pulse sterilization. *J. Electrostat.* 42: 159-166.

Ough, C.S. 1983. Sulfur dioxide and sulfites. In A.L. Branen and P.M. Davidson (Eds.): *Antimicrobials in Foods.*, pp. 177-203. Marcel Dekker, New York.

Ough, C.S. 1985. Some effects of temperature and SO<sub>2</sub> on wine during simulated transport or storage. *Amer. Jour. En. Viticult.* 36: 18-22

Ough, C.S. and Crowel, E.A. 1987. Use of sulfur dioxide in wine making. *J. Food Sci.* 52: 386-388,393.

Peynaud, E. and Domercq, S. 1959. A review of microbiological problems in wine-making in France. *Amer. Jour. En. Viticult.* 10: 69-77.

Pina Pérez, M.C., Rodrigo Aliaga, D., Ferrer Bernat, C., Rodrigo Enguidanos, M. and Martínez López, A. 2007. Inactivation of *Enterobacter sakazakii* by pulsed electric field in buffered peptone water and infant formula milk. *Int. Dairy J.* 17: 1441-1449.

Pothakamury, U.R., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1993. Magnetic-field inactivation of microorganisms and generation of biological changes. *Food Technol.* 47(12): 85-93.

Pothakamury, U.R., Vega, H., Zhang, Q., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1996. Effect of growth stage and processing temperature on the inactivation of *E.coli* by pulsed electric fields. *J. Food Prot.* 59(11): 1167-1171.

Puértolas, E., López, N., Cóndon, S., Raso, J. and Álvarez, I. 2009. Pulsed electric fields inactivation of wine spoilage yeast and bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 130: 49-55.

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

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

Qin, B.L., Pothakamury, U.R., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1996. Nonthermal inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in apple juice using pulsed electric fields. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 28: 564-568.

Qin, B.L., Zhang, Q., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson, B.G. and Pedrow, P.D. 1994. Inactivation of microorganisms by pulsed electric fields with different voltage waveforms. *IEEE Trans. Dielect. Elect. Insul.* 1(6): 1047-1057.

Qui, X., Sharma, S., Tuhela, L., Jia, M. and Zhang, Q.H. 1998. An integrated PEF pilot plant for continuous nonthermal pasteurization of fresh orange juice. *Trans. ASAE.* 41: 1069-1074.

Radler, F. 1976. Degradation de l'acide sorbique par les bacteries. *Bullet. de l'Office Int. du Vin.* 49: 629-635.

Radler, F. and Yannissis, C. 1972. Weinsäureabbau bei Milchsäurebakterien. *Arch. Microbiol.* 82: 219-238.

Rankine, B.C. and Pocock, K.F. 1969. Influence of yeast strain on binding of sulphur dioxide in wines and on its formation during fermentation. *J. Food Sci. Agric.* 20: 104-109.

Raso, J., Calderón, M. L., Góngora, M., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1998. Inactivation of mold ascospores and conidiospores suspended in fruit juices by pulsed electric fields. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 31 (7/8): 668-672.

Ratanatriwong, P., Evrendilek, G.A. and Zhang, Q.H. 2008. Pulsed electric field processing of formulated rice pudding. *J. Food Safety.* 28: 126-141.

Ratanatriwong, P., Jin, Z.T., Evrendilek, G.A., Yeom, H.W. and Zhang, Q.H. 2001. Shelf life evaluation of rice pudding treated by pulsed electric field processing. Institute of Food Technologists (IFT) Annual Meeting (technical paper 59H-19), Dallas, TX.

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

Romano, P. and Suzzi, G. 1993. Sulfur dioxide and wine microorganisms. In G.H. Fleet (Ed.): *Wine Microbiology and Biotechnology* (2nd ed.), pp. 374-393. CRC Press.

Romano, P., Suzzi, G. and Comi, G. 1992. Sulfur dioxide production by non-H<sub>2</sub>S producing wine yeasts. *Louvain Brewing Letters*, in press.

Rose, A.H. and Pilkington, B.J. 1989. Sulphite. In G.W. Gould (Ed.): *Mechanism of Action of Food Preservation Procedures*, pp. 201-223. Elsevier Applied Science, London.

Rosini, G. 1982. Influenza della microflora saccaromicetica della cantina sulla fermentazione del mosto d'uva. *Vignevini.* 9: 43-46.

Ruhlman, K.T., Jin, Z.T., Zhang, Q.H. 2001. Physical properties of liquid foods for pulsed electric field treatment. In G.V. Barbosa-Cánovas and Q.H. Zhang (Eds.): *Pulsed Electric Field in Food Processing: Fundamental Aspect and Applications*. Pp. 45-56. Technomic Publishing Company Inc. Lancaster, PA.

Sachetti, M. 1932. Interno ad alcuni *Zygosaccharomyces*. *Rend. R. Accad. Naz. Lincei*. 15: 762-765.

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

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

Sensoy, I., Zhang, Q.H. and Sastry, S.K. 1997. Inactivation kinetics of *Salmonella dublin* by pulsed electric field. *J. Food Process Eng.* 20(5): 367-381.

Sepulveda, D. R., Gongora-Nieto, M.M., Guerrero, G. J. A. and Barbosa-Cánovas, G. V. 2005. Production of extended-shelf life milk by processing pasteurized milk with pulsed electric fields. *J. Food Eng.* 67 (1/2): 81-86.

Sharma, S.K., Zhang, Q.H., Chism, G.W. 1998. Development of a protein fortified fruit beverage and its quality when processed with pulsed electric field treatment. *J. Food Qual.* 21 (6): 459-473.

Simpson, M.V., Qin, B.L., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson, B.G. 1996. Pulsed electric field processing and the chemical composition of apple juice. Internal Research Report. Washington State University, Pullman, Washington.

Somavilla, J.F., Tienda, P., Arroyo, V. and Inigo, B. 1975. Levaduras osmófilas en mistelas y frutas secas. *Rev. Arochim. Technol. Aliment.* (Valencia). 15: 573-580.

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

Sponholz, W.R., Dittrich, H.H. and Han, K. 1990. Die Beeinflussung der Gärung und der Essigsäureethylester-bildung durch *Hanseniaspora uvarum*. *Viticult. En. Sci.* 45:65-72.

Stanley, D.W. 1991. Biological membrane deterioration and associated quality losses in food tissues. In F.M. Clydesdale (Ed.): *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol.30, pp.487-553. CRC Pres, New York.

Stevenson, D.D. and Simon, R.A. 1981. Sensivity to ingested metabisulfites in asthmatic subjects. *J. Aller. Clin. Immun.* 68: 26–32.

Suzzi, G., Romano, P. and Zambonelli, C. 1985. Saccharomyces strain selection in minimizing SO<sub>2</sub> requirement during vinification. *Amer. J. En. Viticult.* 36: 199-202.

Tensches, A., Simon, R.A, Ough, C. and Marinkovich, V. 1988. Adverse reactions to sulfite adducts present in wine and sulfite sensitive asthmatics. *J. Aller. Clin. Immun.* 81: 190-195.

Tsong, T.Y. 1990. Electrical modulation of membrane proteins: Enforced conformational oscillations and biological energy signals. *Ann. Rev. Biophys.Biomol.Str.* 19:83-106.

Tucknott, O.G. and Davis, P.A. 1976. Production of mousy taint by microorganisms. Annual report of the long ashton research station 140. University of Bristol 1977, pp.140.

Tunçel, G. 1999. Bölüm 16: Fermente alkollü içeceklerde mikrobiyolojik bozulmalar ve muhafaza yöntemleri. A. Ünlütürk ve F. Turantaş (Ed.): Gıda Mikrobiyolojisi, II. Baskı, sf. 395-398. Mengi Tan Basımevi, İZMİR.

Usseglio-Tomasset, L. 1985. Les technologies de vinification permettant de diminuer les doses de SO<sub>2</sub>. *Bullet. de l'Office Int. Vigne du Vin.* 58: 652-653, 607-616.

Usseglio-Tomasset, L. 1986. Le azioni dell'anidride solforosa sul vini. *Vini d'Italia.* 28: 29-34.

Usseglio-Tomasset, L. and Ciolfi, G. 1981. Osservazioni sulla flora lievitoforme presente sulle uve al momento della vendemmia. *Vignevini* 8: 51–53.

Valouyko, G.G., Pavlenko, N.M. and Ogorodnik, S.T. 1985. Les technologies de vinification permettant de diminuer les doses de SO<sub>2</sub>. *Bullet. de l'Office Int. du Vin.* 58: 652-653, 637-644.

Vega-Mercado, H. 1996c. Inactivation of proteolytic enzymes and selected microorganisms in foods using pulsed electric fields. Ph.D. Dissertation, Washington State University, Pullman, Washington.

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

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

Vega-Mercado, H., Powers, J.R., Martín-Belloso, O., Luedecke, O.L., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson, B.G. 1997. Effect of pulsed electric fields on the susceptibility of proteins to proteolysis and inactivation of an extracellular protease from *P.fluorescens* M 3/6. Proceedings of the Seventh International Congress on Engineering and Food. pp. 73-76. The Brighton Center, U.K., 13-17 April.

Wibowo, D., Eschenbruch, R., Davis, C.R., Fleet, G.H. and Lee, T.H. 1985. Occurrence and growth of lactic acid bacteria in wines: a review. *Amer. J. En. Viticult.* 36: 302-313.

Wood, W.A. 1961. The bacteria. Volume II. New York: Academic Press.

Wouters, P.C., Bos, A.P. and Ueckert, J. 2001. Membrane permeabilization in relation to inactivation kinetics of *Lactobacillus* species due to pulsed electric fields. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(7): 3092-3101.

Yang, W.H. and Purchase, E.C.R. 1985. Adverse reactions to sulphites. *Can. Med. Assoc. J.* 133: 865-880.

Yeom, H.W., Evrendilek, G.A., Jin, T.J. and Zhang, Q.H. 2004. Processing of yoghurt based product with pulsed electric fields: Microbial, sensory and physical evaluations: *J. Food Process. Preserv.* 28(3): 161-178.

Yeom, H.W., Streaker, C.B., Zhang, Q.H. and Min, D.B. 2000. Effects of pulsed electric fields in the activity of microorganisms and pectin methyl esterase in orange juice. *J. Food Sci.* 65(8): 1359-1363.

Yin, Y., Zhang, Q.H. and Sastry, S.K. 1997. High voltage pulsed electric field treatment chambers for the preservation of liquid food products. Ohio State University. US Patent 5:690-978.

Zambonelli, C., Romano, P. and Suzzi, G. 1989. Microorganisms of wine. In Cantarelli, C. and Lanzarini, G. (Eds.): *Biotechnology Applications in Beverage Production*, pp. 17-30. Elsevier Applied Science. London, New York.

Zhang, H., Wang, Z., Yang, R.-J. and Xu, S.-Y. 2007. Inactivation of microorganisms in Cloudy Gingko (*Ginkgo Biloba Linn.*) juice by pulsed electric fields. *Food Sci. Technol.* 13(2):83-90.

Zhang, Q., Barbosa- Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1995c. Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *J. Food Eng.* 25(2): 261-281.

Zhang, Q.H., Monsalve-Gonzalez, A., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1994a. Inactivation of *E.coli* and *S.cerevisiae* by pulsed electric fields under controlled temperature conditions. *Trans. ASAE.* 37(2): 581-587.

Zhang, Q.H., Chang, F.J. and Barbosa-Cánovas, G.V. 1994b. Inactivation of microorganisms in a semisolid model food using high voltage pulsed electric fields. *Lebens-Wiss. Technol.* 27(6): 538-543.

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

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

Zhang, Q. H., Qiu, X., Sharma, S. K. 1997. Recent developments in pulsed electric field processing. *New Technologies Yearbook*, pp. 31-42. National Food Processors Association, Washington, D.C.

Zhao, W. and Yang, R. 2009. Effect of high-intensity pulsed electric fields on the activity, conformation and self-aggregation of pepsin. *Food Chem.* 114: 777-781.

Zhao, W., Yang, R., Lu, R., Wang, M., Qian, P. and Yang, W. 2008. Effect of PEF on microbial inactivation and physical-chemical properties of green tea extracts. *Swiss Society of Food Science and Technology*. 41: 425-431.

Zimmermann, U. 1986. Electrical breakdown, electroporation and electrofusion. *Phys. Biochem. Pharm.* 105:175-256.

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