

**ATIMLI ELEKTRİK ALANI PROSESİNİN MEYVE SULARININ
KALİTE KRİTERLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

BİRSEN HİTİT

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

AĞUSTOS 2011

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı

.....
Prof. Dr. Nihat Çelebi

Enstitü Müdürü

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

.....
Prof. Dr. H. Barbaros Özer

Anabilim Dalı Başkanı

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

.....
Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek

Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

İmza

1. Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek

.....

2. Yrd. Doç. Dr. İlkey Şensoy

.....

3. Yrd. Doç. Dr. Alper Güven

.....

ÖZET

ATIMLI ELEKTRİK ALANI PROSESİNİN MEYVE SULARININ KALİTE KRİTERLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hitit, Birsen
Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek

Ağustos 2011, 99 sayfa

Bu çalışma kapsamında, atımlı elektrik alanı (PEF) teknolojisinin portakal, domates ve üzüm suyu örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile enzim inaktivasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Hazırlanan meyve suyu örnekleri 3 µs atım süresi, 400 pps frekans, 24 kV/cm elektrik alan şiddeti değerlerinde proses edilmiştir. Bu parametreler sabit iken uygulama süreleri 0 (kontrol), 524, 655, 786, 917 ve 1048 µs olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre PEF ile proses edilmiş tüm meyve suyu örneklerinin pH, °Briks, kondaktivite, titrasyon asitliği (%TA), renk ölçümü (L^* , a^* , b^* ve kroma) ve FT-IR analiz değerleri ile toplam fenolik madde içeriği ve toplam monomerik antosiyanin miktarında önemli bir değişiklik görülmemiştir ($p>0.05$). Ancak artan uygulama süresi domates suyunun toplam antioksidan kapasitesinde herhangi bir değişikliğe neden olmazken, portakal ve üzüm suyunda azalmaya sebep olmuştur ($p\leq 0.05$). Ayrıca toplam renk farkındaki artış tüm meyve suyu örneklerinde gözlenirken, hue değeri üzüm suyundaki azalış dışında diğer meyve sularında önemli bir değişim göstermemiştir. Bununla birlikte artan uygulama süresi portakal suyunda pektin metilesteraz, domates suyunda lipoksigenaz ve üzüm suyunda polifenol oksidaz enziminde önemli miktarda azalmaya neden olmuştur ($p\leq 0.05$). Sonuç olarak, PEF uygulamasının artan uygulama süresine bağlı olarak portakal, domates ve üzüm sularının fiziksel ve kimyasal özelliklerinde değişime neden olmadan meyve sularında istenmeyen enzimleri inaktive ederek başarılı bir şekilde uygulanabileceği görülmektedir. Ancak PEF uygulamasının meyve sularının pastörizasyonunda potansiyel olarak kullanılabilmesi için mikrobiyal inaktivasyon ve duyu analizler ile ilgili çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Atımlı elektrik alanı (PEF), portakal suyu, domates suyu, üzüm suyu, pektin metilesteraz, lipoksigenaz, polifenol oksidaz, enzim inaktivasyonu.

ABSTRACT

EFFECTS OF PULSED ELECTRIC FIELDS ON THE QUALITY OF FRUIT JUICES

Hitit, Birsen

MSc., Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Gülsün Akdemir Evrendilek

Agust 2011, 99 pages

The influence of pulsed electric fields (PEF) on some physical, chemical properties and enzyme inactivation of orange, tomato and grape juice was investigated in this study. Treatment parameters were 3 μ s pulse duration, 400 pps frequency, 24 kV/cm electric field strength and 0 (control), 524, 655, 786, 917 and 1048 μ s treatment time. Results indicated that pH, °Brix, conductivity, titratable acidity, color (L^* , a^* , b^* and chroma), total phenolic substances, total anthocyanin content and FT-IR spectra of juice samples were not significantly changed ($p>0.05$). Increased treatment time did not change total antioxidant activity of tomato juice, however total antioxidant activity of orange and grape juice was decreased ($p\leq 0.05$). Also total color difference of all juice samples was increased and hue value was not significantly change without decrease in grape juice. Moreover, pectin methylesterase activity of orange juice, lipoxigenase activity of tomato juice and polyphenol oxidase activity of grape juice was significantly decreased with increased treatment time ($p\leq 0.05$). It was concluded that PEF application depending on increased treatment time can be successfully used to process orange, tomato and grape juice samples without adversely affecting some important quality parameters and with inactivation of enzymes. The potential of PEF to pasteurize juices needs to be studied further with microbial inactivation and sensory studies.

Key words: Pulsed electric field (PEF), orange juice, tomato juice, grape juice, pectin methylesterase, lipoxigenase, polyphenol oxidase, enzyme inactivation

Aileme

TEŞEKKÜR

Araştırma konumun seçiminde yardımcı olan ve tezimin her aşamasında benden bilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Doç. Dr. Gülsün AKDEMİR EVRENDİLEK'e sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarken, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden sayın Yrd. Doç. Dr. İlkey ŞENSOY ve Tunceli Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Alper GÜVEN'e tez jürimde yer alarak değerli görüş ve katkıları ile tezime olan desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Bengi KARAOĞUZ TURGUT ve Zehra KADAŞ ERGÜN'e, tüm öğrenim hayatım boyunca bana hep inanan ve beni hep destekleyen, tez dönemim boyunca da desteğini ve sabrını hiç esirgemeyen sevgili annem Nebahat HİTİT'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İTHAF.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
1.GİRİŞ.....	1
1.1.Meyve Suyu.....	1
1.1.1.Portakal Suyu.....	2
1.1.2.Domates Suyu.....	4
1.1.3.Üzüm Suyu.....	5
1.2.Meyve Suyu Enzimleri.....	6
1.2.1.Pektin Metilesteraz Enzimi.....	6
1.2.2.Polifenol Oksidaz Enzimi.....	8
1.2.3.Lipoksigenaz Enzimi.....	9
1.3.Atımlı Elektrik Alanı.....	10
1.3.1.Atımlı Elektrik Alanı Ekipmanları.....	12
1.3.1.1.Elektrik Akım Jeneratörü.....	13
1.3.1.2.Yüksek Akım İşlem Odacıkları.....	13

1.3.1.2.1.Statik Odalar.....	14
1.3.1.2.2.Sürekli Akış Sağlayan Odalar.....	14
1.3.1.3.Sıvı Gıdanın Sistemde Taşınımını Sağlayan Sıvı Taşıma Sistemi.....	15
1.3.2.Atımlı Elektrik Alanı Prosesinin Enzim İnaktivasyon Mekanizması.....	16
1.3.3.Atımlı Elektrik Alanı Prosesinin Enzim İnaktivasyonu.....	17
1.3.3.1.Atımlı Elektrik Alanı Prosesine Bağlı Faktörler.....	17
1.3.3.1.1.Elektrik Alan Şiddeti ve Uygulama Süresi.....	17
1.3.3.1.2.Atım Genişliği.....	18
1.3.3.1.3.Atım Sıklığı (Frekans).....	19
1.3.3.1.4.Uygulanan Dalga Modeli.....	20
1.3.3.1.5.Uygulama Sıcaklığı.....	22
1.3.3.2.Gıdaya Bağlı Faktörler.....	23
2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	24
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	40
3.1.Materyal.....	40
3.1.1.Meyve Suları.....	40
3.1.2.Atımlı Elektrik Alanı (PEF) Jeneratörü.....	40
3.2.Yöntem.....	42
3.2.1.Meyve Sularının Hazırlanması.....	42
3.2.2.Meyve Sularına Atımlı Elektrik Alanı Uygulanması.....	43
3.2.3.Fiziksel ve Kimyasal Analizler.....	43
3.2.3.1.Asitlik.....	43
3.2.3.2.Titrasyon Asitliği.....	44
3.2.3.3.°Briks.....	44

3.2.3.4.Kondaktivite Ölçümü.....	44
3.2.3.5.Renk Ölçümü.....	44
3.2.3.6.Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini.....	45
3.2.3.7.Toplam Antioksidan Kapasitesi Tayini.....	46
3.2.3.8.Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarı Tayini.....	46
3.2.3.9.Pektin Metilesteraz Aktivitesi Tayini.....	47
3.2.3.10.Lipoksigenaz Aktivitesi Tayini.....	48
3.2.3.11.Polifenol Oksidaz Aktivitesi Tayini.....	48
3.2.3.12.Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri.....	50
3.2.4.Verilerin Analizi.....	50
4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	51
4.1.Atımlı elektrik alanı uygulamasında uygulama süresinin portakal suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi.....	51
4.2.Atımlı elektrik alanı uygulamasında uygulama süresinin domates suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi.....	62
4.3.Atımlı elektrik alanı uygulamasında uygulama süresinin üzüm suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi.....	72
5.SONUÇLAR.....	84
KAYNAKLAR.....	86

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Laboratuvar ölçekli OSU-4A PEF sistemi şematik diyagramı.....	12
Şekil 1.2. Eş zamanlı akış sağlayan sürekli uygulama odacıkları.....	15
Şekil 3.1. Deneylerde kullanılan laboratuvar ölçekli PEF sistemi.....	41
Şekil 3.2. Uygulanan çift kutuplu dalga modelinin osiloskop görüntüsü.....	42
Şekil 4.1. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda pH değerleri.....	52
Şekil 4.2. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda °Briks değerleri.....	52
Şekil 4.3. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda kondaktivite değerleri.....	53
Şekil 4.4. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda % titrasyon asitliği değerleri.....	54
Şekil 4.5. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda renk (L*, a* ve b*) değerleri.....	55
Şekil 4.6. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda toplam renk değişimi.....	55
Şekil 4.7. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda kroma (C*) değerleri.....	56

Şekil 4.8. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda hue (h°) değerleri.....	57
Şekil 4.9. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda toplam fenolik madde miktarı.....	57
Şekil 4.10. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda (%) toplam antioksidan kapasitesi.....	58
Şekil 4.11. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda pektin metilesteraz aktivitesi.....	59
Şekil 4.12. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda FT-IR spektrumu.....	61
Şekil 4.13. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda pH değerleri.....	62
Şekil 4.14. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda °Briks değerleri.....	63
Şekil 4.15. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda kondaktivite değerleri.....	64
Şekil 4.16. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda % titrasyon asitliği değerleri.....	65
Şekil 4.17. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda renk (L^* , a^* ve b^*) değerleri.....	65

Şekil 4.18. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda toplam renk değişimi.....	66
Şekil 4.19. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda kroma (C*) değerleri.....	67
Şekil 4.20. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda hue (h°) değerleri.....	67
Şekil 4.21. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda toplam fenolik madde miktarı.....	69
Şekil 4.22. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda (%) toplam antioksidan kapasitesi.....	69
Şekil 4.23. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda lipoksigenaz aktivitesi.....	70
Şekil 4.24. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda FT-IR spektrumu.....	72
Şekil 4.25. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda pH değerleri.....	73
Şekil 4.26. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda °Briks değerleri.....	74
Şekil 4.27. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda kondaktivite değerleri.....	74

Şekil 4.28. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda % titrasyon asitliği değerleri.....	75
Şekil 4.29. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda renk (L^* , a^* ve b^*) değerleri.....	76
Şekil 4.30. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda toplam renk değişimi.....	77
Şekil 4.31. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda kroma (C^*) değerleri.....	77
Şekil 4.32. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda hue (h°) değerleri.....	78
Şekil 4.33. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda toplam fenolik madde miktarı.....	79
Şekil 4.34. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda (%) toplam antioksidan kapasitesi.....	79
Şekil 4.35. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda toplam monomerik antosiyanin miktarı.....	81
Şekil 4.36. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda polifenol oksidaz aktivitesi.....	81
Şekil 4.37. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda FT-IR spektrumu.....	83

1. GİRİŞ

1.1. Meyve Suyu

Genel olarak meyve suları potasyum, folat ve C vitamini, β -karoten gibi antioksidan vitaminler dışında güçlü antioksidan etkinlik gösteren bu biyoaktif fitokimyasal bileşenler bakımından oldukça zengindir. Yapılan çalışmalarda meyve sularının bu özellikleri nedeniyle potansiyel antioksidan etkinlik gösterdikleri ve bu nedenle bazı kanser türleri ile kalp ve diğer kronik hastalıklara karşı koruyucu etkilerinin olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarda biyoaktif bileşenlerin meyvelere kıyasla meyve sularından daha kolaylıkla emilebildiği, antioksidanlarca zengin meyve ve meyve suyu tüketiminin plazma antioksidan kapasitesini artırdığı da belirtilmiştir (Şener ve Denkbaşı, 2006).

Mikrobiyal ve enzimatik aktivite nedeniyle meyve sularının raf ömrü kısadır. Yıllar boyunca meyve sularına olan tüketici talebi nedeniyle meyve sularının raf ömrünü uzatmak için mikroorganizmalar ve enzimlerin inhibisyonu sağlanmıştır. Isıl uygulamalar meyve suyu stabilizasyonu, mikroorganizma ve enzimlerin inaktivasyonunda oldukça etkilidir, ancak temel besin maddelerinde kayıplara, fizikokimyasal ve organoleptik özelliklerde değişikliklere neden olmaktadır. Atımlı

elektrik alanı uygulaması ısı ile pastörizasyonun negatif etkilerini önlemek için sıvı gıdaların işlenmesinde popülerite kazanmaktadır (Espachs-Barroso ve ark., 2003).

1.1.1. Portakal Suyu

Portakal, turunçgiller içindeki önemli cinslerden biri olup *Citrus sinensis* olarak tanımlanır. Taze olarak tüketiminin yanında; meyve suyu, konsantre, reçel, marmelat olarak çeşitli ürünlere işlenebildiği gibi kabuklarından da esans elde edilebilmektedir. Gelişmiş ülkelerde işlenmiş turunçgil sularının tüketimi, sofralık tüketimden daha büyük bir artış göstermektedir. Ayrıca modern işleme tesislerinin bulunması, tüketiminin daha kolay olması, nakliye ve depolama koşullarının uygun olması gibi faktörler gelişmiş ülkelerde işlenmiş turunçgil ürünlerinin tüketimini de artırmaktadır (Cemeroğlu, 2004).

Turunçgiller C vitamini, karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi birçok sağlıklı ve yüksek besinsel içeriğe sahip bileşenlere sahiptir. Bu bitkisel kimyasallar antioksidan kapasiteye sahip olup serbest radikallerin neden olduğu oksidatif zarara karşı hücreleri korumaktadır. Bu durum portakal suyunda doğal olarak bulunan antioksidanların önemli bir bölümü ile ilişkilendirilmiştir. Fenolik asitler antioksidan davranışı ve çeşitli hastalıklarda sağlığı destekleyici etkileri ile çok daha fazla dikkati çekmektedir. Askorbik asit beslenme için önemli bir bileşiktir ve antioksidan kapasitesi nedeniyle çoğu gıdada katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Burdurlu ve ark., 2006; Dhuique-Mayer, 2007). C vitamini ısıya duyarlıdır ve bu nedenle meyve ve sebzelerde diğer vitaminlerin kaybının göstergesidir. Doğal pigmentler ve aromatik maddeler gibi diğer

organoleptik ve besinsel bileşenler için geçerli kriter olarak davranır. Depolama boyunca sıcaklık, oksijen miktarı ve ışık gibi depolama koşullarına bağlı olarak konsantrasyonu azalır (Torregrosa ve ark., 2006).

Turunçgillerde bulunan karotenoidler 115'den fazla doğal maddenin kompleks karışımıdır, ancak hepsi A vitaminin öncül maddesi değildir. Portakal suyu içeriği ve yüksek miktarda tüketimi nedeniyle A vitamini karotenoidleri (β -karoten, α -karoten ve β -kriptoksantin) ve antioksidan karotenoidlerinin (β -karoten, β -kriptoksantin, zeaksantin ve lutein) en önemli besin kaynağıdır. Bu karotenoidler antioksidan ve serbest radikal tutma özellikleri nedeniyle kalp hastalıkları ve kanser gibi hastalıkların azaltılmasında yer almıştır (Cortés ve ark., 2006).

Portakal suyunun rengi tüketicinin tercihlerinde önemli bir özelliktir ve Avrupa Birliği'nde gıda endüstrisinde kalite kontrolde uygulanmaktadır. Ayrıca ABD'de ürünlerin kalitesine göre ticari olarak sınıflandırılmasında turunçgil sularının rengi değerlendirilen parametrelerden bir tanesidir. Portakal suyunun rengi esas olarak karotenoid pigmentlerden kaynaklanır ve portakalın olgunlaşması, yabancı maddelerin varlığı, teknolojik uygulamalar, depolama koşulları, mikroorganizma faaliyetleri ve esmerleşme reaksiyonları gibi etmenlere bağlı olarak değişmektedir (Cortés ve ark., 2008).

1.1.2. Domates Suyu

Domates (*Lycopersicon esculentum*) tek yıllık bir bitki çeşididir. Anavatanı Meksika ve Peru'dur. Peru'dan yola çıkarak hemen hemen dünyanın büyük bir bölümünde, 1900'lü yılların başından beri de ülkemizde yaygın olarak yetiştirilmektedir. Taze olarak tüketildiği gibi salça, domates suyu, konserve turşu, reçel, ketçap şeklinde de tüketilmektedir. İçeriğinde A, B₁, B₂, C, K vitaminleri, niasin, protein, yağ, karbonhidrat, organik asitler, potasyum, demir ve pek çok etkin madde bulunmaktadır (Konar, 2007).

İçerdiği antioksidan bileşiklerden dolayı domates ve domates ürünlerinin düzenli tüketilmesi çeşitli kanser türleri ve kalp hastalıkları riskini azaltmaktadır (Arab ve Steck, 2000). Domateste bulunan en önemli antioksidan bileşikler karotenoidler, askorbik asit ve fenolik bileşiklerdir (Dumas ve ark., 2003). Domateste bulunan temel karotenoid likopendir ve domatesin kırmızı renginden sorumludur. Likopenin antioksidan etkisi oksidatif zararlara karşı hücreleri koruması şeklinde ortaya çıkmaktadır (Rao ve Agarwal, 1999). Diğer yandan C vitamini DNA'ya zarar veren (Fraga ve ark., 1991) dolayısıyla hücrenin fonksiyonlarını bozan ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerin neden olduğu lökosit adhezyonuna neden olan aktif radikallerin neden olduğu zararları önlemektedir (Lehr ve ark., 1995).

Farklı çalışmalar fenolik maddelerce zengin gıda maddelerinden oluşan diyetlerin kronik kalp rahatsızlıkları riskinin azaltılmasında önemli rol oynadığını göstermiştir (Amiot ve ark., 1997). Bu durum fenolik maddelerin kısmen reaktif oksijen vasıtasıyla ortaya çıkan lipid peroksidasyonlarını engellemesiyle sağlanmaktadır.

Domates tüketiminde genellikle taze tüketim yayginken, domates tüketiminin yaklaşık % 80 gibi bir oranı domates suyu gibi proses edilmiş ürünlerden sağlanmaktadır (Gould, 1992).

Genetik geçmiş ve zirai uygulamalar gibi hasat öncesi faktörler, ürünlerde antioksidan kapasitesini önemli derecede etkiler. Ancak uygulanan prosesin de meyvelerin fenolik içerik ve antioksidan kapasitesi üzerinde belirgin etkisi vardır. Domates suyu, fırınlanmış domates, domates sosu ve çorbasında ısıtım işlemi boyunca askorbik asit miktarı azalır. Buna karşılık toplam fenolik bileşikler, likopen ve suda çözünür antioksidan kapasitesi artar (Ayala-Zavala ve ark., 2008).

1.1.3. Üzüm Suyu

Üzümler ve üzümden elde edilen şarap, üzüm suyu, reçel ve kuru üzüm gibi ürünler yaygın olarak tüketilmektedir. Üzüm suları fitokimyasalların en önemli kaynağıdır (Dani ve ark., 2007; Tiwari ve ark., 2009). Üzüm suyunda bulunan birçok flavonoid ile birlikte antosiyanin gibi fitokimyasalların hem in vitro hem de hayvan çalışmalarında antioksidan, anti enflamatuar ve trombosit önleyici etkiler gösterdiği bilinmektedir (Tiwari ve ark., 2010).

Üzüm suyunda bulunan antosiyaninler karakteristik üzüm suyu rengine sorumludur ve ayrıca antimikrobiyal özellikler gösterdiği bildirilmiştir. Üzüm suyunun rengi çoğunlukla antosiyaninlerin bileşim ve içeriğine göre değişen kabuğun rengine bağlıdır. Üzümlerin antosiyanin içeriği büyük ölçüde genotipe bağlı olarak değişir.

Üzümelerde en çok bulunan antosiyaninler siyanidin (cyanidin), malvidin, delfinidin (delphinidin), peonidin, petunidin ve pelargonidinlerin glukozid formlarıdır. Antosiyanin içeriği ayrıca çevresel ve tarımsal faktörlerden etkilenmektedir. Antosiyaninler oldukça kararsızdır ve kararlılıkları pH, sıcaklık, ışık, oksijen gibi proses koşullarından ve enzim, askorbik asit, flavonoidler, proteinler ve metal iyonları varlığından büyük ölçüde etkilenir (Tiwari ve ark., 2009).

Üzümler, çoğunlukla kırmızı üzüm ürünlerinde bulunan flavonoidler (kateşin, epikateşin, kuarcetin, antosiyaninler ve procianidinler) ve resveratrol (3,5,4'-trihidroksi-stilben) gibi fenolik bileşikler açısından zengindir. Üzüm suyundaki bileşiklerin, trombosit topaklaşmasını, LDL oksidasyonu ve DNA'ya oksidatif zararı, kalp hastalıkları ve damar tıkanıklığını önleyebildiği bildirilmiştir (Dani ve ark., 2007).

1.2. Meyve Suyu Enzimleri

1.2.1 Pektin Metilesteraz Enzimi

Bitki hücreleri arasında doğal bir harç maddesi olarak görülen pektin, bitkisel dokuların sert ve sıkı yapısında önemli rol oynar. Esas olarak α -(1,4) bağı ile bağlanmış galakturonik asit veya galakturonik asit metil esterlerinden oluşan pektin, “pektolitik enzimler” olarak da isimlendirilen pektinazlar tarafından parçalanmaktadır. Pektinazlardan pektin metilesteraz (EC 3.1.1.11) galakturonat biriminin metil ester grubunu hidrolize ederek pektini deesterifiye eder (Cemeroğlu, 2007).

Yüksek yapılı bitkilerde yaygın olarak bulunan pektin metilesteraz ayrıca mantar, bakteri ve maya gibi mikroorganizmalar tarafından da üretilir. Çoğu bitki pektin metilesteraz enzimi en fazla aktiviteyi nötral ya da bazik pH derecesinde gösterirken mantar pektin metilesteraz enzimi genellikle asidik pH derecesinde optimal aktiviteye sahiptir (Vilariño ve ark., 1993; Giner ve ark., 2000).

Pektin metilesteraz enzimi turunçgil sularında istenmeyen bulanıklık kaybına ve konsantrelerin jelleşmesine neden olur ve gıdaların viskozite ve stabilitesini olumsuz etkileyebilir (Giner ve ark., 2005). Bulanık meyve ya da sebze sularının bulanıklık stabilitesi için pektin metilesteraz aktivitesinin azaltılması gerekir. Çünkü pektin metilesteraz enzimi pektindeki metilester grupların hidrolizini katalizler ve böylece düşük esterleşme derecesine sahip asidik pektin ve metanol oluşur (Rombouts ve ark., 1982). Deesterifiye pektin ve kalsiyum iyonlarının etkileşmesi çözünmez pektatları oluşturur. Meyve sularındaki meyve eti parçacıkları ile çöken pektatlar bulanıklık kaybına neden olur (Espachs-Barroso ve ark., 2006).

Bulanıklık kaybını önlemek için turunçgil suları yüksek sıcaklıklarda pastörize edilerek ısıya dayanıklı pektin metilesteraz enzimi inaktive edilmelidir. Pektin metilesteraz enzimi vejetatif bozulmaya neden olan mikroorganizmalara göre ısıya daha dayanıklıdır ve 90°C'de 1 dakika ısı uygulaması önerilmektedir. Ancak ısıl işlem portakal suyunun kalitesi üzerine taze lezzetin kaybı ve askorbik asidin degradasyonu (ayrıca koyu renk) gibi olumsuz etkilere sahiptir (Yeom ve ark., 2002).

1.2.2. Polifenol Oksidaz Enzimi

Polifenol oksidaz (EC 1.14.18.1) taze meyve ve sebzelerde, meyve sularında enzimatik esmerleşmeye neden olan bakır içeren bir enzimdir. Enzimatik esmerleşme, meyve ve sebzelerin prosesi sırasında karşılaşılan en önemli problemlerden biridir. (Yemenicioğlu ve Cemeroğlu, 2003). Polifenol oksidaz enzimi ısıya dayanıklı değildir ve 70 ve 90°C arasındaki sıcaklıklara kısa süre maruz kalması inaktive olması için yeterlidir (O'Donnell ve ark., 2010).

Enzimatik esmerleşme, esas olarak oksijen varlığında polifenol oksidaz enzimi ile fenolik bileşikler arasındaki ilişkiden kaynaklanmaktadır. Meyve ve sebzelerde bulunan o-difenollerin polifenol oksidaz enzimi ile oksidasyonu sonucu o-kinonlar oluşmaktadır. Oluşan kinoid maddeler daha sonra diğer o-kinonlar, fenolik maddeler, proteinler ve aminoasitler ile polimerize olarak melanin adı verilen kahverengi pigmentler oluşmaktadır. Enzimatik esmerleşme ürünün renginde bozulmalara neden olduğu gibi duyu ve besinsel kalitesini de etkilemektedir. Bu nedenle gıdaların muhafazasında polifenol oksidaz enziminin inaktivasyonu istenen bir durumdur. Birçok araştırmacı ısı uygulaması ile polifenol oksidaz enziminin inaktivasyonunun enzimatik esmerleşmenin kontrolünde en etkili metot olduğunu belirtmiştir. Ancak ısı uygulaması istenmeyen yapı ve lezzet değişikliklerine neden olabilmektedir. Ayrıca polifenol oksidaz inaktivasyonu için gerekli yüksek sıcaklıklar antosiyanin degradasyonuna neden olduğu için üzüm suyu gibi antosiyanin içeren meyve sularında ısı uygulaması ile polifenol oksidaz inaktivasyonu istenen bir durum değildir (Luo ve ark., 2010).

1.2.3. Lipoksigenaz Enzimi

Doğada yaygın olarak bulunan lipoksigenaz enzimi (E.C. 1.13.11.12), hemen hemen tüm yüksek yapılı bitkiler, mantarlar ve hayvanlarda bulunur (Luo ve ark., 2010). Meyve ve meyve ürünlerinde lipoksigenaz aktivitesi yağ asidi ve pigmentlerin oksidasyonu ile ilgilidir. Lipoksigenaz enzimi *cis,cis*-1,4-pentadiene sistemi içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu katalizler ve 9- veya 13-*cis,trans* hidroperoksitleri oluşturur (King ve Klein, 1987; Aguiló-Aguayo ve ark., 2008b). Hidroperoksitler genellikle asit, keton ve aldehitlere ayrışır (Leoni ve ark., 1985; Luo ve ark., 2010).

Domates suyunda bulunan lipoksigenaz enzimi domatesteki taze lezzet bileşiklerinin oluşumunu başlatır. Domateste en çok istenen taze lezzet bileşiklerinden olan hegzenal, *cis*-3- hegzenal, *trans*-2-hegzenal, hegzanol, *trans*-2-hegzenol, and *cis*-3-hegzenol, lipoksigenaz enzimi tarafından linoleik ve linolenik asit gibi doymamış yağ asitlerinden üretilir (Galliard ve ark., 1977; Min ve Zhang, 2003).

Depolama boyunca karoten gibi pigmentler üzerindeki negatif etkileri ile kötü tat ve koku oluşumundaki rolü nedeniyle lipoksigenaz kalite kaybı ile bağlantılıdır (King ve Klein, 1987; Aguiló-Aguayo ve ark., 2008b). Lipoksigenaz depolama boyunca domates suyundaki önemli yağ asitlerini parçalayarak kötü tat oluşumuna neden olabilir. Ayrıca lipoksigenaz enziminin yağ asitlerini oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitler ve serbest radikaller, domates suyundaki vitaminleri ve proteinleri parçalayabilir (Min ve Zhang, 2003).

Min ve Zhang (2003) domates suyunda istenen lipoksigenaz aktivite miktarının domates suyunun kullanımına bağlı olabileceğini belirtmiştir. Eğer domates suyu uzun

süre muhafaza edilecekse minimum lipoksigenaz aktivitesi istenebilmektedir. Ancak meyve suyu taze lezzetini koruyarak buzdolabı sıcaklığında kısa süre muhafaza edilecekse, lipoksigenaz aktivitesi uzun raf ömürlü meyve suyuna göre daha yüksek kalabilmektedir.

1.3. Atımlı Elektrik Alanı

Isıl işlemler uzun raf ömürlü güvenilir gıda üretimi için ana teknolojidir, ancak bu işlemler gıda maddelerinin aroma, vitamin ve bazı fizikokimyasal özelliklerinin kaybolmasına neden olur. Son yıllarda tazeye en yakın şekilde üretilen gıda ürünlerine olan talep gıdaların işlenmesinde yeni metotlarla ilgilenilmesine neden olmuştur. Atımlı elektrik alanı (PEF) uygulaması geleneksel ısıl işlemlere alternatif olarak çalışılan ısıl olmayan bir muhafaza yöntemidir (Dunn, 2001; Mertens ve Knorr, 1992; Zhang ve ark., 1995a).

Klasik ısıl işlemlerden pastörizasyon ile karşılaştırıldığında PEF uygulaması mikroorganizma ve enzimleri inaktive ederek gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmakta; tatta, renkte ve gıda bileşenlerinde kayba neden olmadan gıda ürünlerinin mevcut kalitesini korumakta 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, 1995a,b; Qui ve ark., 1998; Zhang ve ark., 1994a).

PEF teknolojisinin esası, gıdaya mikro saniyelerle ifade edilen çok küçük zaman dilimlerinde uygulanan voltajın enzimler ve mikroorganizmalar üzerindeki etkisine dayanmaktadır (Martin-Belloso ve ark., 1997a,b). 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 sistemi genel olarak; elektrik enerjisinin oluşturulması için yüksek voltaj DC jeneratörü, jeneratör tarafından oluşturulan elektrik enerjisini depolayacak kapasitörler dizisi; enerjinin kapasitörlerden elektrotlara ulaştırılmasını sağlayacak yüksek voltaj anahtarı ve örneğin tutulması ve proses edilmesi için gerekli olan uygulama odacıkları gibi ekipmanlardan oluşur (Ngadi ve ark., 2003).

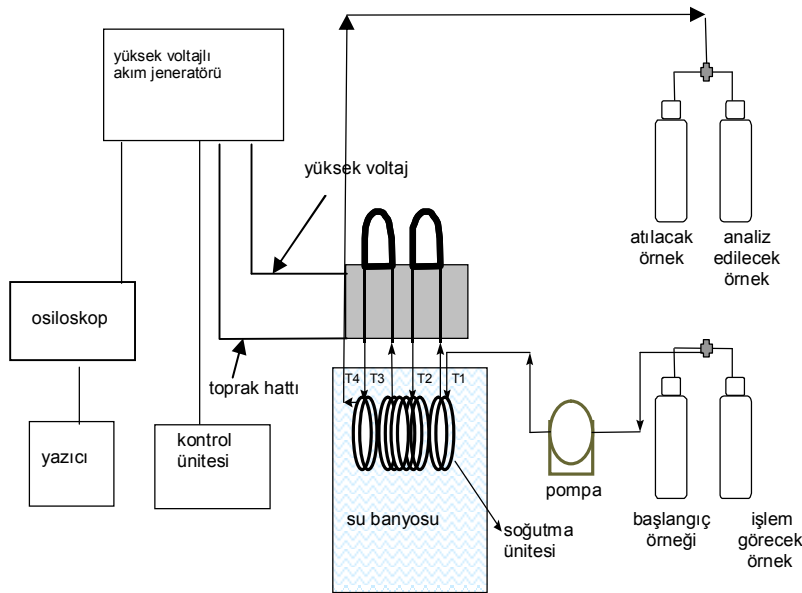
PEF prosesi iki elektrot arasından akışı sağlanan gıda üzerine kısa dalga boyuna sahip, yüksek voltajlı (20-80 kV/cm) elektrik akımının periyodik olarak uygulanması ile gerçekleştirilir (Qin ve ark., 1995a). Bu yöntem daha çok sıvı ve yarı sıvı gıdaların işlenmesine olanak vermektedir. Bu yüzden gıdanın viskozitesi ve elektrik iletkenliği (kondaktivitesi) yani iyonik yapısı çok büyük önem taşımaktadır. Gıdanın iletkenlik katsayısının belirli bir dereceye kadar yüksek olması elektriksel iletimini kolaylaştırmakta ve buna bağlı olarak etkili inaktivasyon için gereken enerji miktarını düşürmektedir. PEF prosesi özellikle düşük viskozite ve elektrik iletkenliğine sahip birçok sıvı gıdaya başarı ile uygulanmıştır (Altuntaş, 2007; Qin ve ark., 1995c).

PEF prosesi genellikle oda sıcaklığında veya oda sıcaklığının biraz altında veya üstündeki sıcaklıklarda gerçekleştirilmektedir. İşlem sırasında gıdanın elektrik akımına gösterdiği dirençten dolayı, ürünün sıcaklığında artış gerçekleşmekte ancak ısınma sisteme bağlı soğutucu donanım ile engellenmektedir (Qin ve ark., 1995a).

1.3.1. Atımlı Elektrik Alanı Ekipmanları

Gerek laboratuvar ölçekli gerekse ticari ölçekli PEF sistemleri temel olarak 3 ana kısımdan oluşmuştur (Şekil 1.1). Bunlar:

- Elektrik akım jeneratörü,
- Yüksek akım işlem odacıkları,
- Sıvı gıdanın PEF sisteminde taşınımını sağlayan sıvı taşıma sistemi



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

1.3.1.1. 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. Elektrik akımı mikro saniyelik sürelerde uygulandığından gıdanın ısınması minimum düzeyde olur (Zhang ve ark., 1995b).

1.3.1.2. Yüksek Akım İşlem Odacıkları

Uygulama odacıklarının asıl görevi gıdaya elektrik akımı vermektir. PEF ile yapılan proseslerde 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 odasına doğru değiştirilmiştir.

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 (Altuntaş, 2007).

1.3.1.2.1. Statik Odalar

Statik uygulama odacıkları çoğunlukla laboratuvar ölçekli çalışmalarda tercih edilmektedir (Min ve ark., 2007). Statik uygulama odacıkları U-şeklinde biçimlendirilmiş polisitiren odacık ve cam bobinli statik odacık olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

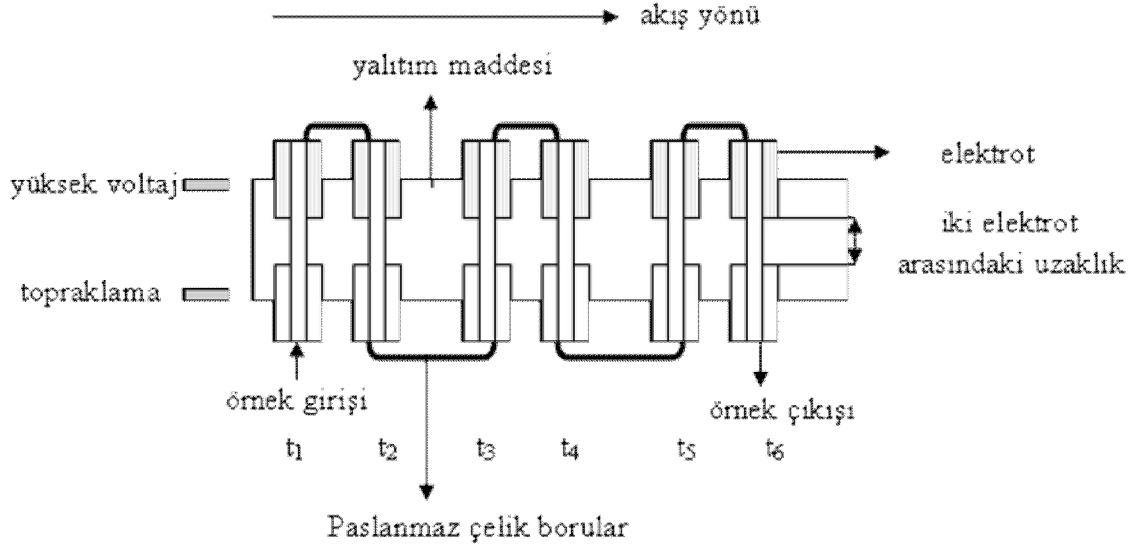
1.3.1.2.2. Sürekli Akış Sağlayan Odalar

Sürekli sistemler büyük miktarlardaki gıda prosesleri için uygundur ve statik sistemlere göre daha verimlidir. Çünkü gıdanın sistem içerisinde sirkülasyonu sağlanabilmektedir (Altuntaş, 2007). Dunn ve Pearlman (1987), tarafından geliştirilen sürekli odaların içerisinde dar ve geniş elektrot konfigürasyonları yüksek voltaj üretmektedir. Bu odacıklar iki paralel plak elektrot ve dielektrik ara yalıtıcıdan oluşmaktadır. Elektrotlar gıdadan sulfonat polisitiren ve akrilik asit kopolimerlerden yapılan iletken membranlar ile ayrılmaktadır (Akın, 2007).

Geliştirilen en son modellerden birisi olan sürekli akış sağlayan paralel akışlı odalar Yin ve ark. (1997) tarafından tasarlanmıştır. Bu sistemde iki yalıtıcı madde arasına belli bir mesafede özel olarak yerleştirilen elektrotlar sistemde sızdırmazlığı sağlamaktadır. Sistemde uygulanan voltaj (kV) elektrotların birbirine olan uzaklığına (cm) oranlandığında gıdaya uygulanan elektrik alan şiddetine (kV/cm) ulaşılmaktadır (Altuntaş ve ark., 2008) (Şekil 1.2).

1.3.1.3. Sıvı Gıdanın Sistemde 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).

1.3.2. Atımlı Elektrik Alanı Prosesinin Enzim İnaktivasyon Mekanizması

Enzimlerin denatürasyonu veya degradasyonu enzimin doğal yapısının bozulması ile ortaya çıkmaktadır. Enzimlerin yapısı hidrojen bağları, elektrostatik bağlar, van der Waals bağları ve hidrofobik etkileşimler; içinde bulunan tuz köprüleri ve bazı durumlarda disülfid bağları gibi zayıf kovalent olmayan bağlar ile sağlamlaşmaktadır (Price ve Stevens, 1991). Bunların büyüklüğünde değişimin denatürasyona neden olabileceği; yüksek elektrik alan şiddetine sahip atımların uygulanmasının, üç boyutlu yapının (ikincil, üçüncül ve dördüncül yapı) korunmasında yer alan bağları veya küresel protein yapısını etkilemiş olabileceği belirtilmiştir (Ho ve ark., 1997). Yapısal değişim teorisine göre, elektrik alan şiddeti faz değişimleri ile geçici gözenek oluşumuna neden olabilen yağların ve proteinlerin yapısal değişimlerini başlatabilir (Neumann and Rosenheck, 1972).

Tripsin, laktik dehidrogenaz, galaktosidazlar, plasmin, proteazlar, alkalın fosfataz, lipazlar, glikoz-oksidad, α -amilaz, peroksidaz, fenol oksidad, pektin metilesteraz ve papain gibi önemli enzimlerde farklı inaktivasyon oranları (% 30-99) elde edilmiştir (Castro ve ark., 2001a,b; Ho ve ark., 1997; Giner ve ark., 2000; Palomeque ve ark., 2001; Van Loey ve ark., 2002; Vega-Mercado ve ark., 1995, 2001a,b; Yeom ve ark., 1999). Farklı enzim inaktivasyon seviyeleri, aktif merkezlerdeki temel moleküler bağları ve küresel konfigürasyonun tamamını değiştiren ikincil ve üçüncül yapılarda meydana gelen değişikliklerin sonucu olarak değerlendirilmektedir (Góngora-Nieto ve ark., 2002).

1.3.3. Atımlı Elektrik Alanı Prosesinin Enzim İnaktivasyonu

Atımlı elektrik alanı (PEF) uygulamasının enzim aktivitesi üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar model çözeltiler, süt ve özellikle meyve ve sebze sularında gerçekleştirilmiştir. Enzimatik aktivite meyve ve sebze ürünlerinde süt ve diğer sıvı gıdalara göre daha etkili bir şekilde düşmüştür (Espachs-Barroso ve ark., 2003).

PEF uygulamasının enzim aktivitesi üzerine etkileri mikroorganizmalara etkilerinden daha az çalışılmıştır. Ancak enzimler PEF uygulamasına mikroorganizmalardan daha az duyarlıdır ve inaktivasyonları enzime, enzimin bulunduğu ortama ve proses parametrelerine bağlıdır (Martín-Belloso ve ark., 2004).

1.3.3.1. PEF Prosesine Bağlı Faktörler

1.3.3.1.1. Elektrik Alan Şiddeti ve Uygulama Süresi

Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi arttığında PEF uygulamasının enzim inaktivasyonuna etkisi artmaktadır (Vega-Mercado ve ark., 1997). Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin göstermiş olduğu etki deseni yüksek elektrik alan şiddeti veya daha uzun uygulama süresi altında mikrobiyal inaktivasyonda artış etkisine benzemektedir (Evrendilek ve ark., 1999; Hülshager ve ark., 1981; Ortega-Rivas ve ark., 1998; Qin ve ark., 1996), ancak enzimleri inaktive etmek için mikroorganizmalar için

gerekli olandan daha yüksek enerji yoğunluk girişine ihtiyaç vardır (Bendicho ve ark., 2002).

Espachs-Barroso ve ark. (2006) elektrik alan şiddeti arttığında 5 Hz atım sıklığında 0.5 Hz atım sıklığına göre genel olarak daha yüksek pektin metilesteraz inaktivasyonu sağlandığını belirtmiştir. Her iki atım sıklığında uygulama süresinin artması daha düşük kalıntı pektin metilesteraz aktivitesi sağlamıştır. Min ve ark. (2003b), yüksek elektrik alan şiddetinde domateste yüksek lipoksigenaz enzim inaktivasyonu elde edildiğini belirtmiştir.

Uzun uygulama süresine sahip PEF uygulamasının polifenol oksidaz enziminde yüksek inaktivasyon sağladığı tespit edilmiştir. Örneğin, 24.6 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 6000 μ s uygulama süresi ile elma ekstraktında %97, 22.3 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 6000 μ s uygulama süresi ile armut ekstraktında %72 (Giner ve ark., 2001) ve 24.3 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 5000 μ s uygulama süresi ile şeftali ekstraktında %70 inaktivasyon sağlanmıştır (Giner ve ark., 2002).

1.3.3.1.2. Atım Genişliği

Atım genişliği, PEF uygulaması sırasında enzim aktivitesinde önemli değişikliklere neden olan proses faktörüdür. Bu nedenle PEF ile enzim inaktivasyon mekanizmasının açıklanması için dikkate alınması gerekir (Elez-Martínez ve ark., 2007). Elez-Martínez ve ark. (2006b ve 2007) sabit elektrikselsel enerji yoğunluk girişinde (2336 MJ/m³) atım genişliği 1 μ s'den 10 μ s'ye değiştirildiğinde portakal suyunda peroksidaz

ve pektin metilesteraz aktivitelerinde azalma olduğunu belirtmiştir. Giner ve ark. (2002) şeftalinin polifenol oksidaz enzim inaktivasyonunda benzer bir eğilim gözlemlemiştir.

Atım genişliği optimum düzeyde olursa inaktivasyonda artış meydana gelmektedir. Atım genişliği gereğinden fazla uzun olursa gıdanın sıcaklığı istenmeyen bir seviyeye yükselir. Bu nedenle atım genişliğinin, sıcaklığın istenen aralığı geçmesine neden olmayacak şekilde ayarlanması gerekmektedir (Zhang ve ark., 1995c). Buna karşın atım genişliğinin kısa olması sistemin sürekli olarak elektrik akımı ile doldurulup boşaltılmasına neden olacağından kapasitöre ek bir yük getirmekte ve sistemin etkin olarak çalışmasını olumsuz yönde etkilemektedir (Altuntaş ve ark., 2008).

1.3.3.1.3. Atım Sıklığı (Frekans)

Atım sıklığı, saniyede uygulanan atım sayısı olarak tanımlanır ve uygulamanın etkinliğinin belirlenmesinde önemli role sahiptir. Yüksek atım sıklığı daha fazla elektrik enerjisinin şarj edilmesinde tercih edilmektedir (Evrendilek ve ark., 1999). Marsellés-Fontanet and Martín-Belloso (2007) farklı proses şartlarında ve 4 µs sabit atım genişliğinde PEF uygulanmış üzüm suyunda atım sıklığının peroksidaz ve polifenol oksidaz enziminin inaktivasyonunu etkileyen önemli bir faktör olduğunu tespit etmiştir.

Portakaldaki peroksidaz ve pektin metilesteraz enzimleri üzerine yapılan bazı çalışmalarda, atım sıklığı arttığında enzim aktivitelerinde azalma tespit edilmiştir (Elez-Martínez ve ark., 2006b ve 2007). Atım sıklığı artırılıp, diğer uygulama parametreleri

değişmeden kaldığında domates suyundaki peroksidaz enzimi de benzer eğilim göstermiştir (Aguiló- Aguayo ve ark., 2008c).

Monopolar modda düşük atım sıklığı (61.6 Hz'e kadar) uygulandığında, bipolar modda sırasıyla 218 Hz ve 5.40 μ s'den yüksek atım sıklığı ve genişliği kullanıldığında çilek suyunda başlangıç lipoksigenaz aktivitesinde değişikliğe neden olmamıştır (Aguiló-Aguayo ve ark., 2008b). Bezelye suyundaki lipoksigenaz enziminde benzer sonuçların elde edildiği çalışmada, 20 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 1 Hz atım frekansında, 1 μ s atım genişliğinde 400 atımın kullanıldığı PEF uygulaması sonrası enzimatik aktivitede değişiklik gözlenmemiştir. Diğer taraftan 59 Hz'ye kadar atım frekanslarında monopolar uygulamaların lipoksigenaz aktivitesini arttırdığı, bipolar uygulamaların yüksek atım frekansları ile ilgili benzer eğilim gösterdiği tespit edilmiştir (Van Loey ve ark., 2002).

1.3.3.1.4. Uygulanan Dalga Modeli

Atımlı elektrik alanı prosesinde kare şeklinde, 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 dalga modeline göre daha fazla öldürücü etkiye sahip olup kullanılan enerji bakımından daha verimlidir (Ho ve ark., 1995; Qin ve ark., 1994).

Bipolar atımların enzimlerin inaktive edilmesinde monopolar atımlara göre daha etkili olduğu bilinmektedir. 40 kV/cm elektrik alan şiddeti, 57 ms uygulama süresi ve bipolar 2- μ s kare dalga atımlar ile domates suyunda başlangıç lipoksigenaz aktivitesinin %54 azaldığı belirtilmiştir (Min ve Zhang, 2003). 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. Ayrıca bipolar uygulama monopolar uygulamaya göre enerji kullanımı yönünden daha ekonomiktir. (Barbosa-Cánovas ve ark., 1999; Zhang ve ark., 1995c).

Elez-Martínez ve ark. (2006b), 4 μ s atım genişliği ve 200 Hz atım frekansının kullanıldığı 25 kV/cm elektrik alan şiddetinde 300 μ s uygulama süresine sahip PEF uygulaması ile portakal suyunda peroksidaz enziminin monopolar modda bipolar moda göre daha etkili inaktive edildiğini, sırasıyla %30 ve %65 kalıntı aktivitesi sağlandığını belirtmiştir. Ancak elektrik alan şiddeti 25 kV/cm'den 30 veya 35 kV/cm'e yükseltildiğinde peroksidaz inaktivasyonu bipolar modda monopolar moda göre daha yüksek olup peroksidaz enzimi tamamen inaktive edilmiştir. Uygulanan atımların polaritesine bağlı kritik elektrik alan şiddeti değerinin varlığı ileri sürülmüştür. Ancak bu parametre domateste pektin metilesteraz aktivitesini önemli şekilde etkilememiştir. Açıklanan sonuçların farklılık göstermesi enzimin çeşidine ve bulunduğu gıdaya bağlı olabilmektedir (Giner ve ark., 2000).

Portakal veya domates suyundaki peroksidaz enzimi gibi diğer enzimlerin aksine (Aguiló- Aguayo ve ark., 2008c; Elez-Martínez ve ark., 2006b), monopolar uygulamaların bipolar uygulamalara göre çilek suyunda lipoksigenaz aktivitesini

azaltmada daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Aguiló- Aguayo ve ark., 2008b). Van Loey ve ark. (2002) lipoksigenaz enziminin oksidoredüktaz olduğu ve aktif merkezinde demir olduğu düşünülürse lipoksigenaz inaktivasyonunun elektrotların yüzeyinde meydana gelen elektrokimyasal reaksiyonlardan dolayı olduğuunu belirtmektedir.

1.3.3.1.5. Uygulama Sıcaklığı

Yapılan çalışmalarda uygulama sıcaklığının artırılmasıyla enzim inaktivasyonunun arttığı görülmüştür. PEF prosesi orta derecede ısı uygulaması (50 °C) ile kombine edildiğinde domates suyu lipoksigenaz enzim inaktivasyonunda sinerjistik etki gözlemlenmiştir. 30 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 60 µs uygulama süresine sahip PEF prosesi 50°C’de uygulandığında lipoksigenaz enzimi %88.1 inaktive edilirken, 10°C’deki uygulama ile %37.8 inaktivasyon sağlanmıştır (Min ve ark., 2003b) Ancak sıcaklık pastörizasyonda uygulanan sıcaklıkların altında tutulmalıdır. Elektrik akımının uygulanması gıdanın sıcaklığında artışa neden olmaktadır. Bu nedenle sistemde uygun soğutma ekipmanı kullanılarak sıcaklığın kontrol altına alınması gerekmektedir (Altuntaş, 2007).

PEF uygulamalarında bazı durumlarda inaktivasyonu artırmak ve özellikle yüksek viskoziteli gıdaların akışı kolaylaştırmak amacı ile PEF prosesi orta derecede ısı uygulaması (20-50°C) ile kombine edilmektedir (Evrendilek ve ark., 2004b; Ratanatriwong ve ark., 2001; Yeom ve ark., 2004). Bu şekilde kombine uygulamalarda gıdanın sıcaklığı genellikle PEF uygulamasından önce yükseltilir. Böylece gıda ön ısı

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.

1.3.3.2. Gıdaya Bağlı Faktörler

Genel olarak PEF prosesi bir pompa yardımı ile pompalanabilen düşük viskoziteli ve elektrik akımını yeterli düzeyde iletebilecek miktarda iyon bulundurabilen, belli bir sınıra kadar yüksek elektrik iletkenliği gösteren ve yüksek asitliğe sahip gıdalara uygulanmaktadır. Bazı gıdalarda PEF prosesi öncesi ısı uygulaması ile viskozite düşürülmekte, böylece gıda peristaltik veya dişli pompa vasıtası ile belirli bir akış hızında pompalanabilmektedir (Ruhlman ve ark., 2001).

PEF ile proses edilecek olan gıdaların kondaktivite değerlerinin çok düşük ve çok yüksek olmaması gerekmektedir. Çok düşük olması durumunda elektrik akımını iletecek olan iyonların miktarı az olacağı için elektrik akımının iletilmesi zorlaşmaktadır. Kondaktivite değerinin çok yüksek olması durumunda ise sistemin elektrik akımına karşı göstereceği dirençte artış olmaktadır (Zhang ve ark., 1995b).

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Atımlı elektrik alanı teknolojisi (PEF) son ürün kalitesi açısından klasik gıda işleme yöntemlerine göre üstünlük göstermesi, besin içeriği bakımından kaliteli ve dengeli gıda üretimi sağlaması ve nihai üründe kayıplara neden olmaması bakımından dikkatleri üzerine çekmektedir (Amiali ve ark., 2002; Anonim, 2010). Bu sebeplerden dolayı son yıllarda özellikle meyve suyu işleme teknolojisi alanında PEF uygulamaları çalışmaları hız kazanmıştır. Çalışmalar genel olarak portakal ve elma suyu alanında yoğunlaşmış olmakla birlikte kayısı, şeftali, soya sütü, bira, yaban mersini suyu, süt ve süt ürünleri alanlarında da yapılmakta ve bu ürünler üzerinde mikrobiyal ve enzimatik inaktivasyon mekanizması incelenmektedir (Anonim, 2010).

Yeom ve ark. (2000a) 35 kV/cm elektrik alan şiddetinde 59 µs boyunca uygulanan PEF işleminin portakal suyunun kalitesi üzerine etkilerini araştırmış ve 94.6°C'de 30 s uygulanan ısı ile pastörizasyonun etkileri ile karşılaştırmıştır. PEF uygulaması 4, 22 ve 37°C'de 112 gün boyunca mikroorganizma gelişimini önlemiş ve pektin metilesteraz enziminin %88'ini inaktive etmiştir. 4°C'de depolama boyunca PEF ile proses edilmiş portakal suyunun ısı ile pastörize edilmiş meyve suyu ile karşılaştırıldığında daha fazla miktarda C vitamini içerdiği, oldukça yüksek beyazlık (L*) ve hue açısı (θ), oldukça düşük esmerleşme indeksi gösterdiği tespit edilmiştir.

Ayrıca PEF uygulanmış portakal suyunun ısı ile pastörize edilmiş portakal suyundan daha küçük parça büyüklüğüne sahip olduğu görülmüştür. Ancak °Briks ve pH değerleri proses metotlarından önemli derecede etkilenmemiştir.

Pilot ölçekli PEF sisteminin kullanıldığı çalışmada portakal suyuna PEF uygulanarak maksimum mikrobiyal inaktivasyon için gerekli PEF proses parametreleri ve PEF uygulamasının pektin metilesteraz aktivitesine etkileri araştırılmıştır. Elektrik alan şiddeti olarak 20, 25, 30 ve 35 kV/cm, uygulama süresi olarak 39, 49 ve 59 µs uygulanmıştır. Yüksek elektrik alan şiddeti ve uygulama süresinin mikroorganizmaları ve pektin metilesteraz enzimini inaktive etmede daha etkili olduğu görülmüştür ($p<0.05$). 35 kV/cm elektrik alan şiddetinde 59 µs uygulama süresine sahip PEF uygulamasının portakal suyunda pektin metilesteraz enzimini %90 oranında inaktive ettiği tespit edilmiştir. PEF uygulamasının portakal suyunda 4, 22 ve 37°C’de 112 gün boyunca mikroorganizma gelişimini ve pektin metilesteraz reaktivasyonunu önlediği görülmüştür (Yeom ve ark., 2000b).

Yeom ve ark. (2002) laboratuvar ölçekli PEF sistemi kullandıkları çalışmada sabit su banyosu sıcaklığında (30°C) 35 kV/cm’e kadar elektrik alan şiddeti değerlerine sahip PEF uygulamasının portakal suyunda pektin metilesteraz aktivitesi üzerine etkilerini araştırmıştır. Elektrik alan şiddetindeki artış, portakal suyunun sıcaklığında artış ile birlikte pektin metilesteraz enziminde önemli inaktivasyon sağlamıştır ($p<0.05$). Portakal suyuna PEF işleminin uygulandığı sıcaklıkta ısıtma işlem uygulamasının pektin metilesteraz inaktivasyonunda PEF uygulaması kadar etkili olmadığı görülmüştür. Farklı su banyosu sıcaklıklarında (10-50°C) 25 kV/cm’e kadar elektrik alan şiddeti kullanıldığında, yüksek su banyosu sıcaklığında yüksek elektrik alan şiddetinin pektin

metilesteraz enzimini inaktive etmede daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Su banyosu sıcaklığının 50°C olduğu 25 kV/cm elektrik alan şiddetine sahip PEF uygulamasının portakal suyundaki pektin metilesteraz enzim aktivitesini %90 oranında azalttığı bulunmuştur.

Min ve ark. (2003a) tarafından yapılan çalışmada ticari ölçekli PEF uygulamasının portakal suyunun mikrobiyal stabilite, askorbik asit, lezzet bileşikleri, renk, °Briks, pH ve duyu özellikleri üzerine etkisi araştırılmış ve elde edilen sonuçlar ısıtılmış portakal suyu ile karşılaştırılmıştır. Taze sıkılmış portakal suları 90°C'de 90 s ısı ile veya 40 kV/cm elektrik alan şiddetinde 97 ms boyunca PEF ile proses edilmiştir. Her iki işlem sonunda meyve suları 4°C'de mikrobiyal açıdan 196 günlük raf ömrü göstermiştir. PEF ile proses edilmiş meyve suyunda ısıtılmış meyve suyuna göre askorbik asit, lezzet ve rengin daha çok korunduğu tespit edilmiştir.

Atımlı elektrik alanı uygulamasının taze sıkılmış narenciye sularının (greyfurt, limon, portakal ve mandalina) fiziksel ve kimyasal özelliklerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada taze sıkılmış narenciye sularında pH, °Briks, elektriksel iletkenlik, enzimatik olmayan esmerleşme indeksi, hidroksimetilfurfural, viskozite, renk, organik asit içeriği ve uçucu aroma bileşiklerinin analizleri yapılmıştır. Meyve suları 28 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinde 50 atım ile işlenmiştir. Uygulama sıcaklığı çalışma boyunca 34°C'nin altında tutulmuştur. Yapılan çalışma sonunda pH, °Briks, elektriksel iletkenlik, viskozite, enzimatik olmayan esmerleşme indeksi ve hidroksimetilfurfural değerlerinde bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca örneklerin çoğunun rengine önemli bir değişim saptanmamıştır. İşlenmiş ve işlenmemiş örneklerin absorbans değerlerinin birbirine benzer olduğu ve PEF uygulaması sonucunda meyve sularının organik asit içeriğinin

aynı kaldığı belirtilmiştir. SPME GC-MS ile ölçülen sonuçlara göre işlenmiş ve işlenmemiş narenciye suyu örneklerindeki uçucu aroma bileşiklerinin değişmediği tespit edilmiştir (Cserhalmi ve ark., 2006).

Elez-Martínez ve ark. (2006a) tarafından yapılan çalışmada 35 kV/cm elektrik alan şiddeti, 1000 µs uygulama süresi, 200 Hz atım frekansı ve bipolar 4-µs atımlara sahip PEF uygulamasının portakal suyunun 4 ve 22°C’de depolama boyunca mikrobiyal raf ömrü ve kalite ile ilgili parametreleri üzerine etkileri araştırılmış, ısı pastörizasyonu (90°C’de 1 dak) ve işlem görmemiş portakal suyu ile karşılaştırılmıştır. Depolama süresince PEF uygulaması yapılan örnekler buzdolabı sıcaklığında 56 gün boyunca mikrobiyal stabiliteye sahipken, 22°C’lik depolamada 30. günde portakal suyunda doğal olarak bulunan bozulmaya neden olan mikroorganizmalar tespit edilmiştir. PEF uygulaması portakal suyunda pektin metilesteraz enzimini %81.6 inaktive ederken, ısı pastörizasyonu %100 inaktivasyon sağlamıştır. Depolama boyunca PEF uygulanmış meyve suyu ısı ile pastörize edilmiş meyve suyundan daha iyi renge sahipken, pH, asitlik ve °Briks değerleri açısından uygulamalar arasında herhangi bir farklılık bulunmamıştır. 4°C’de 56 günlük depolama boyunca günlük tavsiye edilen alım miktarı standartlarına uygun olarak PEF ile proses edilmiş portakal suyunun daha yüksek miktarda C vitamini içerdiği, 14 günün üzerindeki depolamada ise ısı işlem uygulanmış meyve suyunda C vitamini miktarının (%25.2-42.8) az olduğu görülmüştür. Depolama boyunca işlem görmüş ve görmemiş portakal suyunun antioksidan kapasitesi yavaşça azalmıştır. Isıl işlemlerin düşük serbest radikal tutma değerlerine neden olduğu, ancak PEF ile proses edilmiş ve proses edilmemiş portakal suyu arasında farklılık görülmediği belirtilmiştir.

Cortés ve ark. (2006) farklı elektrik alan şiddeti (25, 30, 35 ve 40 kV/cm) ve uygulama süresi (30-340 μ s) parametrelerine sahip PEF uygulamasının portakal suyunun karotenoid içeriğine etkisini değerlendirmiş ve ısı uygulaması (90°C’de 20 s) ile karşılaştırmıştır. Isı ile pastörize edilmiş portakal suyunda toplam karotenoid miktarı işlem görmemiş taze portakal suyuna göre %12.6 azalmıştır. Ancak 25, 30 veya 40 kV/cm elektrik alan şiddeti uygulandığında sırasıyla %9.6, %6.3 veya %7.8 oranında azalma görülmüştür. PEF ile işlem görmüş portakal suyu işlem görmemiş portakal suyuna göre sarı renge doğru daha fazla, kırmızı renge ise daha az eğilim gösterirken meyve suyunun parlaklığı neredeyse değişmeden kalmıştır.

Cortés ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada 2 ve 10°C’de 7 haftalık depolama boyunca PEF ve pastörizasyon uygulamasının portakal suyunun renk, esmerleşme ve hidroksimetilfurfural değerleri üzerine etkilerini araştırmıştır. PEF uygulanmış portakal suyu işlem görmemiş portakal suyuna çok benzer renk gösterirken, pastörize edilmiş meyve suyu işlem görmemiş meyve suyuna göre daha fazla sarıya eğilim (b^*) ve daha az kırmızıya eğilim (a^*) göstermiştir. Depolama boyunca pastörize edilmiş portakal suyundaki renk değişimleri PEF uygulanmış portakal suyuna göre daha yüksektir. PEF uygulanmış portakal suyu pastörize edilmiş olanlara göre daha az enzimatik olmayan esmerleşmeye sahiptir. 10°C’de depolanan tüm meyve sularında bu parametre depolamanın 4. haftasından itibaren önemli artış gösterirken 2°C’de depolanan meyve sularında esmerleşme indeks değerleri daha uzun süre korunmuştur. Pastörize edilmiş ve PEF ile işlem görmüş meyve sularının hidroksimetilfurfural içeriğinde önemli değişiklik olmamıştır. Depolama boyunca hidroksimetilfurfural miktarı her zaman tespit edilen maksimum değerlerin altında olmuştur.

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 ısıtma işlemi ve PEF uygulanmış meyve sularındaki C vitamininin kayıpları incelenmiştir. PEF uygulanmış portakal sularındaki C vitamini kayıplarının ısıtma işlemi uygulanmış 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.

Rivas ve ark. (2006) farklı şiddetlerde (25 kV/cm ve 280 μ s; 25 kV/cm ve 330 μ s) PEF ve geleneksel HTST (98°C'de 21 s) uygulamasının portakal havuç suyu karışımının kalite özellikleri üzerine etkisini araştırmıştır. HMF, L* (açıklık veya parlaklık) ve C* (doymunluk veya chroma) renk parametreleri hiçbir uygulama ile değışmemiştir. HTST uygulamasından sonra toplam asitlik ve bulanıklık çok az yüksek bulunmuştur. PEF ile işlem görmüş meyve suyunun duyuşal özellikleri işlem görmemiş meyve suyuna HTST ile pastörize edilmiş meyve suyundan daha çok benzerlik göstermiştir. Ancak ısıyla pastörizasyonun mikrobiyal florayı ve pektin metilesteraz enzimini inaktive etmekte daha etkili olduğu belirtilmiştir. Mikrobiyal floranın gelişimi ve pektin metilesteraz enziminin reaktivasyonu 2 ve 12°C'de 10 hafta süreyle engellenmiştir. PEF ile işlem görmüş meyve suyunun raf ömrü ise 2°C'de 4 hafta olarak belirlenmiştir.

Torregrosa ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada 25 kV/cm elektrik alan şiddetindeki atımlarla iki farklı sürede (280 μ s ve 330 μ s) PEF uygulanmış portakal-havuç suyunun raf ömrü ısı uygulanıp (98°C, 21 s) 2 ve 10°C’de depolanmış meyve suyuyla karşılaştırılmıştır. Pastörize edilmiş portakal-havuç suyundaki askorbik asit miktarı %83 iken PEF uygulanmış meyve suyunda %90’dır. 2°C’de depolanan meyve suyunda askorbik asit degradasyon hızı 10°C’de depolanan meyve suyuna göre daha düşük; pastörize edilmiş meyve suyunda ise daha yüksektir. 25 kV/cm elektrik alan şiddetinde 280-330 μ s uygulama süresine sahip PEF uygulaması 2°C’de depolanan meyve suyunun yarı ömrünü 50 güne uzatmıştır.

Elez-Martínez ve Martín-Belloso (2007) elektrik alan şiddeti, uygulama süresi, atım frekansı, genişliği ve polaritesi gibi PEF proses parametrelerinin portakal suyu ve *gazpacho*, soğuk sebze çorbasının C vitamini içeriği ve antioksidan kapasitesine etkilerini değerlendirmiş ve ısı ile pastörizasyonun etkileri ile karşılaştırmıştır. PEF uygulamasından sonra portakal suyunun % 87.5-98.2 ve *gazpacho*’nun % 84.3-97.1 oranında C vitamini muhafaza ettiği tespit edilmiştir. Bipolar modda uygulanan atımlar ile düşük elektrik alan şiddeti, uygulama süresi, atım sıklığı ve genişliği yüksek miktarda C vitamini muhafazası sağlamıştır. PEF uygulanmış portakal suyu ve *gazpacho* ısı ile pastörize edilmiş ürünlerden daha yüksek C vitamini içeriği göstermiştir. Antioksidan kapasitesi bakımından PEF uygulanmış ve işlem görmemiş ürünler arasında herhangi bir farklılık görülmezken, ısı uygulanmış ürünlerin daha düşük antioksidan kapasitesi değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Zulueta ve ark. (2010) PEF uygulamasının portakal suyu-süt içeceğine etkilerini ısı pastörizasyonunun (90°’de 20 s) etkileri ile karşılaştırmıştır. Raf ömrü çalışması için

25 kV/cm'de 280 μ s işlem süresinde PEF uygulanmış ve içecekler 4°C ve 10°C'de muhafaza edilmiştir. 4°C'de saklanan içeceklerde 10°C'de saklanarlardan daha çok askorbik asit bulunmuştur. Depolama boyunca ısı pastörizasyonu ve PEF uygulaması arasında önemli değişiklik olmamıştır.

Min ve Zhang (2003) ticari ölçekli PEF prosesinin 112 gün boyunca 4°C'de depolama boyunca domates suyunun lezzet ve rengine etkilerini araştırmıştır. Domates suyu 88°C'de 2 dak hazırlanıp 92°C'de 90 s ısıt işlem veya 40 kV/cm elektrik alan şiddetinde 57 μ s uygulama süresine sahip PEF uygulanmıştır. PEF ile proses edilmiş domates suyunun ısıt işlem görmüş ve işlem görmemiş (kontrol) domates suyundan daha çok lezzet bileşikleri içerdii, daha düşük enzimatik olmayan esmerleşmeye ve daha yüksek kırmızılığa sahip olduğu belirlenmiştir. Duyusal değerlendirmeler PEF ile proses edilmiş domates suyunun lezzetinin ısıt işlem görmüş domates suyunun lezzetine tercih edildiğini göstermiştir.

Aguiló-Aguayo ve ark. (2008a) tarafından yapılan çalışmada 35 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 100 Hz frekansta 4 μ s atımların kullanıldığı 1500 μ s uygulama süresine sahip PEF uygulamasının 4°C'de 77 günlük depolama süresi boyunca domates suyunun renk parametreleri ve viskozitesi ile peroksidaz, pektin metilesteraz ve poligalakturanaz enzimlerine etkileri değerlendirilmiş ve 90°C'de 1 dak veya 30 s ısıt uygulama ile karşılaştırılmıştır. Depolama süresi boyunca PEF uygulanmış domates suyu ısıt işlem görmüş ve işlem görmemiş meyve suyuna göre daha yüksek açıklık değerleri göstermiştir. Depolamanın ilk 35 gününde PEF uygulanmış meyve suyunun viskozitesi de ısıt işlem görmüş ve işlem görmemiş meyve suyundan yüksek bulunmuştur. PEF uygulanmış domates suyunda peroksidaz enzimi %97 inaktive edilirken, ısıt işlem

görmüş meyve sularında 1 dak ve 30 s için sırasıyla %90 ve %79 inaktivasyon sağlanmıştır. Domates suyunda en yüksek pektin metilesteraz inaktivasyonu PEF ile %82 ve 90°C’de 1 dak ısı uygulaması ile %96 sağlanmıştır. PEF ile proses edilmiş domates suyunda poligalakturanaz enzimi %12 inaktive edilirken 90°C’de 1 dak veya 30 s ısı uygulaması ile sırasıyla % 44 ve % 22 inaktivasyon sağlanmıştır.

Odriozola-Serrano ve ark. (2008a) PEF uygulamasının (100 Hz atım frekansı, bipolar 4-µs atım, 35 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 1500 µs uygulama süresi ile 8269 kJ/L enerji) domates suyunun temel biyoaktif bileşenleri ve antioksidan kapasitesine etkilerini araştırmış ve taze meyve suyunu referans alarak ısı pastörizasyonu (90°C’de 1 dak ya da 30 s) ile karşılaştırmıştır. PEF ve ısı uygulanmış domates suları işlem görmemiş domates suyuna göre daha yüksek likopen ve daha düşük C vitamini içeriği göstermiştir. Ancak işlemlerden hemen sonra işlem görmüş ve taze domates suları arasında toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi açısından önemli değişiklik gözlenmemiştir. İşlem görmüş ve görmemiş domates sularının likopen ve C vitamini miktarı ile antioksidan kapasitesi depolama boyunca azalırken, başlangıç fenolik içerikleri korunmuştur. Depolama süresi boyunca PEF ile işlem görmüş domates suyu ısıl işlem görmüş sulara göre daha yüksek likopen ve C vitamini içeriği göstermiştir.

Aguiló-Aguayo ve ark. (2009c) PEF uygulamasının çilek, domates ve karpuz suyunun renk ve 5-hidroksimetilfurfural değerlerine etkilerini değerlendirmiş; ısı uygulanmış ve işlem görmemiş meyve suları ile karşılaştırmıştır. PEF ile proses edilmiş meyve sularının rengini koruduğu, ısı uygulanmış örneklerden daha düşük hidroksimetilfurfural konsantrasyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Monopolar mod

ve 100 Hz'nin altındaki frekanslar başlangıçtaki hidroksimetilfurfural miktarının sabit kalmasını sağlayarak renk farkında az miktarda değişikliğe neden olmuştur. Atım genişliği çilek suyu için 4.5 μ s, domates ve karpuz suyu için 2.5 μ s olarak uygulandığında enzimatik olmayan esmerleşmeyi minimize etmenin mümkün olduğu görülmüştür.

Odriozola-Serrano ve ark. (2009) PEF prosesinin (100 Hz'de 4- μ s bipolar atımlar ile 35 kV/cm' de 1500 μ s toplam uygulama süresi) ve ısı pastörizasyonun (90°C'de 30 s veya 60 s) domates suyunda karotenoidler ve fenolik bileşikler ile bazı kalite özelliklerine (pH, çözülebilir katı maddeler ve renk parametreleri) etkilerini değerlendirmiş ve işlem görmemiş meyve suyunu referans alarak karşılaştırmıştır. İşleme bazı karotenoidleri (likopen, β -karoten ve phytofluene) ve meyve sularının kırmızı rengini geliştirirken, işlenmiş ve işlenmemiş meyve suları arasında fenolik bileşikler, pH ve çözülebilir katı maddeler yönünden önemli değişiklik gözlenmemiştir. Bazı karotenoidler (β -karoten ve phytoene) ve kafeik asit dışında zamanla sağlıkla ilgili bileşiklerin toplamında az bir düşüş tespit edilmiştir. Ancak depolama süresi boyunca PEF ile proses edilmiş domates suları ısıl işlem görmüş ve işlenmemiş meyve sularından daha yüksek karotenoid (likopen, neurosporene ve γ -karoten) ve kuersetin içeriği göstermiştir. Bu nedenle PEF uygulamasının güvenli olmasının yanında besleyici ve tazeye yakın domates suyu elde edilmesinde uygun bir yöntem olabileceği belirtilmiştir.

Ticari ölçekli PEF uygulamasının domates suyunun kalitesi üzerine etkileri çalışılmış ve ısıl işlemin etkileri ile karşılaştırılmıştır. Domates suyu 88°C'de 2 dak hot break yöntemi veya 68°C'de 2 dak cold break yöntemi ile hazırlanıp 92°C'de 90 s ısıl işlem veya 40 kV/cm elektrik alan şiddetinde 57 μ s PEF uygulanmıştır. Isıl işlem

görmüş, PEF uygulanmış ve işlem görmemiş (kontrol) örnekler 50 mL'lik sterilize polipropilen tüplere konulup 4°C'de 112 gün boyunca depolanmıştır. Isıl işlem ve PEF uygulanmış meyve sularının her ikisinin de raf ömrü 4°C'de 112 gün olarak tespit edilmiştir. Isıl işlem ve PEF uygulanmış suların lipoksigenaz aktivitesi sırasıyla 0 ve % 42 olarak bulunmuştur. 4°C'de 42 gün boyunca PEF uygulanmış domates suyunun ısıl işlem görmüş olana göre daha çok askorbik asit içerdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$). Depolama boyunca ısıl işlem ve PEF uygulanmış örnekler arasında likopen miktarı, °Briks, pH ve viskozite bakımından önemli bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). Duyusal değerlendirmeler PEF uygulanmış domates suyunun lezzeti ve genel kabul edilebilirliğinin ısıl işlem görmüş olan domates suyuna tercih edildiğini göstermiştir ($p<0.05$) (Min ve ark., 2003c).

Marsellés-Fontanet ve Martín-Belloso (2007) tarafından yapılan çalışmada beyaz üzüm suyuna 40°C sıcaklığın altında PEF uygulaması ile renk, aroma ve tatta belirgin değişikliklere neden olan oksidoredüktaz özellikteki polifenol oksidaz ve peroksidaz enzimlerinin aktiviteleri azaltılmıştır. Uygulama süresi, elektrik alan şiddeti ve atım frekansı bu enzimlerin bağıl kalıntı aktivitesi üzerinde önemli etkiye sahip olup, bahsedilen parametreler arttıkça enzimlerin aktiviteleri azalmıştır. Ayrıca atım genişliği belirgin bir meyil göstermeden peroksidaz inaktivasyonunu etkilemiştir. Bu açıklamalara göre 630 Hz atım frekansında 35 kV/cm elektrik alan şiddetine sahip atımlarla 5 ms'lik uygulama sonrasında polifenol oksidaz aktivitesi gözlenmezken, aynı uygulama süresinde 1000 Hz atım frekansı ve 30.2 kV/cm elektrik alan şiddeti kullanılarak 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.

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. Ayrıca kontrol numunelerinde ve PEF uygulanmış numunelerde pH değerinin 4.1-4.36 aralığında olduğu, PEF uygulanmamış elma suyunun kondaktivitesinin PEF uygulanmış olandan çok az yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum işlem görmemiş elma suyunda mineral konsantrasyonunun (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. (1997) tarafından yapılan 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 suyu da özelliklerinde değişikliğe rastlanmadan 32 gün süreyle depolanabilmiştir.

Evrendilek ve ark. (2000) 35 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 94 µs toplam uygulama süresine sahip PEF prosesinin depolama boyunca elma suyunun renk ve stabilitesini etkilemediğini bulmuştur. Isı uygulaması (60°C’de 30 s) ile kombine edilen PEF uygulamasının elma şarabına 4°C’de 68 günün üzerinde raf ömrü sağladığı, sadece PEF ile işlem görmüş örneklerin daha kısa raf ömrüne sahip olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca 4°C’de 90 günlük depolamanın sonunda PEF uygulanmış örneklerin (%68) ısı ile pastörize edilmiş örneklere (%46) göre daha fazla C vitamini içerdiği; PEF uygulamasının 4 ve 22°C’de elma suyunun C vitamini içeriğini artırırken elma şarabınınkini değiştirmedeği görülmüştür.

Evrendilek ve ark. (2001) tarafından yapılan başka bir çalışmada hem PEF uygulaması (32 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 47 µs uygulama süresi) hem de ısı uygulaması (60°C’de 32 s) ile kombine PEF uygulamasının 22 ve 37°C’de depolanan yaban mersini suyunun raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir. Her iki uygulama da yaban mersini suyunun rengini değiştirmemiştir.

Aguilar-Rosas ve ark. (2007) elma suyunun PEF teknolojisi ve HTST yöntemi ile pastörize edilmesinin fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisini araştırmıştır. Laboratuvar ölçekli PEF cihazının kullanıldığı PEF prosesi 35 kV/cm elektrik alan şiddeti, 4 µs atım genişliği, 1200 atım/s frekans ve bipolar dalga modelinde uygulanmıştır. HTST işlemi ise 90°C’de 30 s süresince gerçekleşmiştir. Her iki uygulamanın elma suyunun pH değeri, toplam asitlik, fenolik içerik ve uçucu bileşiklerine etkisi incelenmiştir. pH değerinde çok küçük değişiklik gözlenirken toplam asitlikte önemli bir değişiklik tespit edilmemiştir. Ancak fenolik içerik ve uçucu bileşik konsantrasyonu uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Genel olarak ölçülen değişkenler PEF uygulamasından ısı ile pastörizasyona göre daha az etkilenmiştir.

Laboratuvar ölçekli sürekli PEF sisteminin kullanıldığı çalışmada PEF uygulamasının taze olarak hazırlanmış elma suyunda peroksidaz ve polifenol oksidaz enzimlerinin inaktivasyonuna etkisi araştırılmıştır. Farklı elektrik alan şiddeti, ön işlem sıcaklığı ve uygulama süresi kombinasyonları ile kare dalga modelinin kullanıldığı PEF

uygulaması geleneksel pastörizasyon (72°C’de 26 s) ile karşılaştırılmıştır. 50°C’ye kadar ön ısıtma ile birlikte 40 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 100 µs uygulama süresine sahip PEF uygulaması ile polifenol oksidaz ve peroksidaz enzimlerinde sırasıyla %71 ve %68 oranında en yüksek inaktivasyon elde edilmiştir. Aynı çalışmada geleneksel pastörizasyon ile elma suyunda polifenol oksidaz ve peroksidaz enzim aktivitesinin sırasıyla %46 ve %48 oranında azaldığı, PEF uygulaması ile daha yüksek oranda enzim inaktivasyonu sağlandığı belirtilmiştir (Riener ve ark., 2008).

Aguiló-Aguayo ve ark. (2009b) tarafından yapılan çalışmada 1700 µs uygulama süresi, 35 kV/cm’lik elektrik alan şiddeti, bipolar mod, 100 Hz atım frekansı ve 4µs atım genişliğine sahip PEF uygulamasının çilek suyunda renk, viskozite, pektin metilesteraz ve poligalakturanaz enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve 63 günlük depolama süresi boyunca 90°C’de 60 s veya 30 s ısı uygulamalarının etkileri ile karşılaştırılmıştır. PEF uygulanmış çilek suyunda L^* ve viskozite değerlerinin ısı işlem uygulanmış olanlardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca depolama boyunca PEF uygulanmış meyve suyunun ısı işlem uygulanmış olanlara göre daha düşük 5-(hidroksimetil)-2-furfural konsantrasyonu ve esmerleşme indeksine sahip olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan, 63 gün boyunca PEF uygulanmış meyve suyu düşük miktarda kalıntı pektin metilesteraz aktivitesi (%13.1) gösterirken 60 s ve 30 s ısı uygulaması sonrasında ise sırasıyla %22.2 ve %48.8 aktivite tespit edilmiştir. PEF uygulanmış meyve suyu 90°C’de 60 s (%76.2) veya 30 s (%96.8) ısı işlem uygulanmış olanlardan daha düşük poligalakturanaz aktivitesi (%73.7) göstermiştir. Buna göre, depolama sırasında çilek suyunun esmerleşme ve viskozite kaybını minimize etme bakımından PEF uygulamasının ısı işlem prosesine alternatif bir proses olduğu

belirtilmiştir.

Akın ve Evrendilek (2009) tarafından yapılan çalışmada PEF ile proses edilen fonksiyonel havuç suyu içeceğinin PEF uygulaması öncesi ve sonrası fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiştir. PEF prosesinin pH, titrasyon asitliği, °Briks, kondaktivite, renk (L^* , a^* ve b^*), enzimatik olmayan esmerleşme indeksi, metal iyonu ve C vitamini konsantrasyonunu değiştirmedeği tespit edilmiştir ($p>0.05$)

Aguiló-Aguayo ve ark. (2010) PEF prosesinin (35 kV/cm elektrik alan şiddeti, 1727 uygulama süresi, 4 μ s atım genişliği, 188 Hz atım frekansı ve bipolar mod) 56 günlük depolama boyunca karpuz suyunun renk, viskozite ve ilgili enzimler üzerine etkilerini değerlendirmiş ve ısı uygulamaları (90°C'de 60 s veya 30 s) ile karşılaştırmıştır. Depolama süresi boyunca PEF ile işlem görmüş meyve suyunun ısı işlem uygulanmış meyve suyundan daha parlak kırmızı renge sahip olduğu, hem PEF hem de 90°C'de 60 s ısı uygulaması ile işlem görmemiş olanlardan daha yüksek viskoziteli meyve sularının elde edildiği belirlenmiştir. Diğer taraftan peroksidaz enzimi PEF prosesi ile ısı uygulamasına göre daha etkili inaktive edilmiştir. Ancak 7 günlük depolama süresinin üzerinde 90°C'de 60 s ısı uygulanmış meyve suyunun en düşük kalıntı peroksidaz aktivite değerlerini koruduğu tespit edilmiştir. Sıfırıncı günde uygulamalar arasında lipoksigenaz aktivitesindeki farklılıklar anlaşılmamıştır. Ancak ısı işlem görmüş örneklerin enzim aktivitesinin azalmasında depolama süresinin önemli etkisi olduğu görülmüştür. Tüm işlem görmüş meyve sularının pektin metilesteraz aktivitesinde önemli azalış (%50'den daha fazla) gözlenmesine rağmen poligalakturanaz aktivitesi az da olsa sadece PEF uygulaması ile düşürülmüştür.

Yapılan çalışmalarda PEF prosesinin meyve sularında önemli seviyede enzim inaktivasyonu sağladığı, kontrol örnekleri ve PEF ile proses edilmiş örnekler arasında fizikokimyasal özellikler bakımından önemli farkların olmadığı görülmüştür. PEF prosesi birçok meyve suyuna uygulanmış olmasına rağmen; aynı proses şartları altında portakal, domates ve üzüm sularının pastörizasyonu, fiziksel ve kimyasal özellikleri ile bu meyve sularına özgü enzimlerin inaktivasyonu ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, söz konusu çalışma kapsamında PEF prosesinin portakal, domates ve üzüm suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkileri incelenecek olup; portakal, domates ve üzüm sularında sırasıyla pektin metilesteraz, lipoksigenaz ve polifenoloksidaz enzimleri üzerinde etkinliği araştırılacaktır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Meyve Suları

Araştırmada kullanılan portakal, domates ve üzüm pazardan veya marketten satın alınarak temin edilmiştir. Narenciye sıkacağı (Beko, Model BKK 1145) ile portakal suyu, katı meyve sıkacağı (Sinbo, Model No. SJ-3124) yardımıyla domates ve üzüm suyu elde edilmiştir.

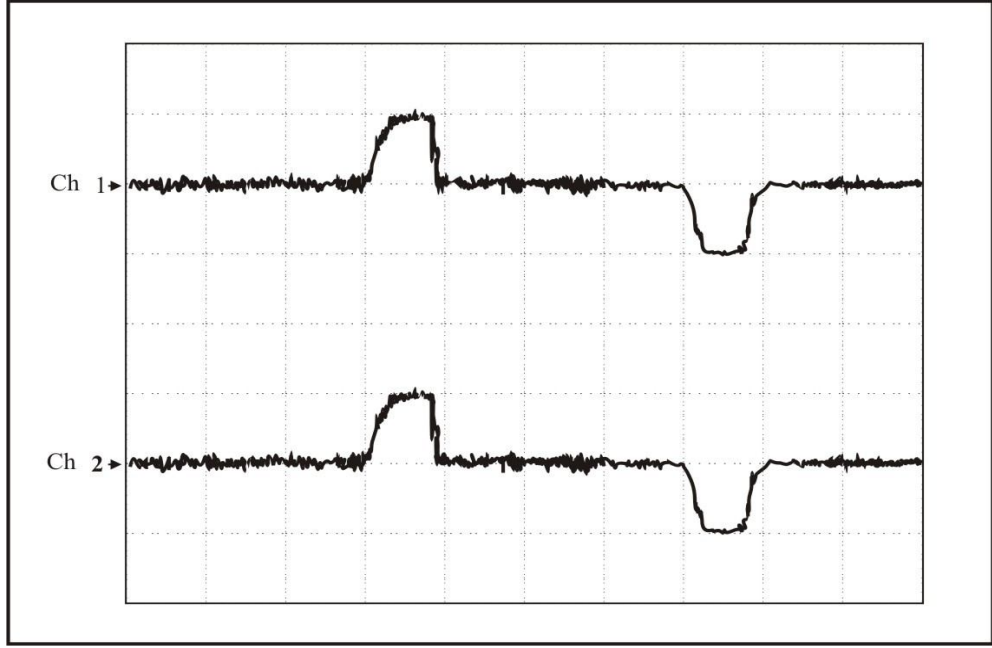
3.1.2. Atımlı Elektrik Alanı (PEF) Jeneratörü

Deneylerde laboratuvar ölçekli sürekli OSU-4A (Şekil 3.1) atımlı elektrik alanı 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 art 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 voltajı (V) ve akımı (I) 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. Uygulanan çift kutuplu dalga modelinin osiloskop görüntüsü (Ch1:voltaj, Ch2:akım)

3.2. Yöntem

3.2.1. Meyve Sularının Hazırlanması

Portakallar yıkama işleminden sonra tam ortadan ikiye kesilmiş ve vakit kaybetmeden narenciye sıkacağı ile meyve suyuna işlenmiştir. Domatesler yıkanıp kabukları ile birlikte parçalara ayrılmış ve katı meyve sıkacağına sıkılarak suyu elde edilmiştir. Yıkanıp saplarından ayrılmış üzümler de yine aynı şekilde katı meyve sıkacağı sıkılmıştır. Elde edilen meyve suları cam şişelere konularak PEF ile proses edilene kadar soğukta muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Meyve Sularına Atımlı Elektrik Alanı Uygulanması

Portakal, domates ve üzüm sularının PEF ile prosesi için değişik parametreler denenmiş olup ürünün pompa vasıtası ile akışı, viskozitesi ve kondaktivitesi göz önünde bulundurularak optimum parametreler belirlenmiştir. Çalışmalarda uygulama süresi (μ s) bağımsız değişken olarak ele alınmıştır. Bu amaçla öncelikle akış hızı 40 mL/dak, atım genişliği 3 μ s, iki atım arasındaki zaman aralığı 20 μ s, atım frekansı 400 atım/s (pps) ve elektrik alan şiddeti 24 kV/cm olarak belirlenmiştir. Bu parametreler sabit iken uygulama süreleri 0 (kontrol), 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s olarak belirlenmiş olup, bu uygulamalarda meyve sularına verilen toplam enerji 0 (kontrol), 14.9, 18.7, 22.4, 26.1 ve 29.9 kJ olarak hesaplanmıştır. Proses sırasında su banyosu sıcaklığı 40°C'ye ayarlanmıştır. PEF prosesi sırasında elektrik alan şiddeti değişmediği için sıcaklık artışı bütün uygulamalarda ortalama 5.5°C'dir.

3.2.3. Fiziksel ve Kimyasal Analizler

3.2.3.1. Asitlik

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

3.2.3.2. Titrasyon Asitliği

Beş mL meyve suyu örneğine 5 mL su ilave edilip homojen bir karışım haline getirdikten sonra 0.5 mL fenol ftalein ayracı eklenip 0.1 N NaOH ile 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 507-1 model refraktometre (Nippon Optical Works Co. Ltd, JAPAN) kullanarak yapılmıştır. Sonuçlar °Briks derecesi olarak belirtilmiştir.

3.2.3.4. Kondaktivite Ölçümü

Meyve sularının kondaktivitesi 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; sonuçlar CSI sisteminde L* (0: koyuluk, 100: açıklık), a* (-: yeşillik, +: kırmızılık) ve b* (-: mavilik, +: sarılık) değerleri olarak verilmiştir. Meyve suyu örnekleri için Chroma (C*) ve hue (h°)

değerleri, $C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ ve $h^\circ=\arctan (b^*/a^*)$ eşitlikleri kullanılarak hesaplanmıştır. Ayrıca kontrol ve işlem görmüş meyve suları arasındaki toplam renk değişimi ($\Delta E = \sqrt{(L_o - L)^2 + (a_o - a)^2 + (b_o - b)^2}$) belirlenmiştir. L_o , a_o ve b_o değerleri kontrol örneklerinin; L , a ve b değerleri ise işlem görmüş meyve sularının renk değerleridir.

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. Analiz edilen meyve suyu 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 alınıp üzerine 5 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra 4 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi ilave edilip tüp içeriği karıştırılmıştır. $50\pm5^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanmış su banyosunda 5 dakika beklendikten sonra tüp içeriği hemen soğutulup 760 nm dalga boyunda UV spektrofotometreyle (Shimadzu, UV 1800, Model TCC 240A) absorbans ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerlerinden fenolik madde miktarını saptayabilmek için daha önce hazırlanmış olan gallik asit eğrisinden yararlanılmıştır. Bu amaçla 100, 200, 300, 400 ve 500 mg/L'lik gallik asit çözeltileri hazırlanmış ve bu konsantrasyonlardan elde edilen standart eğri kullanılmıştır. Sonuçlar mg/mL gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir.

3.2.3.7. Toplam Antioksidan Kapasitesi Tayini

Toplam antioksidan kapasitesi tayininde öncelikle 0.1 mL meyve suyu örneği ve kontrol örneği (etanol) alınmış olup bu örneklerle pH'sı 7.4'e ayarlanmış olan Tris-HCl tampon çözeltisinden 0.9 mL ilave edilmiştir. Daha sonra 1 mL DPPH (etanolde çözülmüş) eklenerek hızla karıştırılmıştır. Meyve suyu örneğinde 30 dak beklendikten sonra kontrol örneğinde ise hiç bekletilmeden 517 nm dalga boyunda UV spektrofotometreyle absorban ölçülmüştür. Ölçülen değerler formülde yerine konularak $((1 - (\text{Abs}_{\text{örnek}} (517 \text{ nm}) / \text{Abs}_{\text{kontrol}} (517 \text{ nm}))) \times 100)$ % antioksidan aktivite değeri bulunmuştur (Moon ve Terao, 1998).

3.2.3.8. Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarı Tayini

Toplam monomerik antosiyanin miktarının saptanması tayininde meyve suyu örneği pH'sı 1.0'e ayarlanmış 0.025 M KCl ile seyreltilerek hızla karıştırılmış ve 2 dak beklendikten sonra 520 nm ve 700 nm dalga boylarında absorbanları okunmuştur. Aynı şekilde meyve suyu örneği pH'sı 4.5 a ayarlanmış 0.4 M sodyum asetat ile seyreltilerek hızla karıştırılmış ve 2 dak beklendikten sonra 520 nm ve 700 nm dalga boylarında absorbanları okunmuştur. Okunan absorban değerleri aşağıdaki formüle yerleştirilerek toplam monomerik antosiyanin miktarı hesaplanmıştır (Lee ve ark., 2005).

$$\text{Antosiyanin miktarı} = \frac{A.M_w.DF.10^3}{\varepsilon.l} \quad (\text{mg/100 mL})$$

$$A = (\text{Abs}_{520} - \text{Abs}_{700})_{\text{pH}1.0} - (\text{Abs}_{520} - \text{Abs}_{700})_{\text{pH}4.5}$$

Antosiyanin pigmenti: cyanidin 3-glucoside eşdeğeri mg/L

M_w (molecular weight)= 449.2 g/mol

ε= 26900 molar extinction factor L/mol.cm× 1000 g mg'ye çevirme faktörü

3.2.3.9. Pektin Metilesteraz Aktivitesi Tayini

Alınan 200 mL meyve suyu örnekleri 3 dak süre ile blenderde yüksek hızda karıştırılmıştır. Karışım 40 meşlik elek ile süzülüp, daha önceden su banyosunda sıcaklığı 30 °C'ye getirilmiş % 1' lik pektin çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışımın pH'sı 2 N'lik NaOH ile 7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra 0.05 N NaOH ile pH' sı 7.7' ye ayarlanmıştır. pH 7.7 olduğu anda 0.1 mL 0.05 N NaOH ilave edilip kronometre çalıştırılmış ve pH' nın tekrar 7.7' ye geldiği anda kronometre durdurulup geçen süre kaydedilmiştir. Elde edilen süre ve ilgili değerler aşağıdaki formüle işlenerek PME aktivitesi hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2007).

$$\text{PME } A_o = \frac{[\text{NaOH normalitesi}] * [V_{\text{NaOH}}]}{t' * \text{örnek miktarı}}$$

t': pH 7.7'ye ulaşma süresi (dk)

$$\text{Kalıntı PME aktivitesi} = \frac{A_t * 100}{A_o}$$

A_t: İşlem sonrası PME aktivitesi

A₀: İşlem öncesi PME aktivitesi

3.2.3.10. Lipoksigenaz Aktivitesi Tayini

Lipoksigenaz enzim aktivitesi Rodrigo ve ark. (2007)'nın belirttikleri yöntemde bazı değişiklikler yapılarak tayin edilmiştir. 50 µL linoleik asit ve 50 µL Tween-20 karışımı üzerine karışım berraklaşana kadar damla damla ve çalkalanarak 0.1 N KOH çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra çözelti hacmi damıtık su eklenerek 10 mL'ye tamamlanmıştır. Meyve suyu örnekleri 8000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenmiş ve üst kısımdaki berrak sıvı enzim ekstraktı olarak kullanılmıştır. Kuars spektrofotometre küvetine 30°C'ye getirilmiş 0.1 N Na-fosfat tampon çözeltisinden (pH 7) 2.95 mL ve 25 µL linoleik asit çözeltisi eklenip iyice karıştırılmıştır. Üzerine 25 µL enzim ekstaktından alınıp derhal 234 nm dalga boyunda absorbans ölçümlerine başlanmıştır. Absorbans ölçümleri 5 dak boyunca eşit aralıklarla yapılarak zamana karşı lineer bir grafiğe aktarılmıştır. Oluşan eğrinin başlangıçtaki düz kısmının eğimi hesaplanmış ve lipoksigenaz aktivitesinde bir ünitelik değişim enzim ekstraktının absorbans ölçümünde 1 mL'sinde 1 dakikada 0.001 U değişim olarak hesaplanmıştır. Ölçülen değerler aşağıdaki formülde yerine konularak % kalıntı aktivite değeri bulunmuştur.

$$\% \text{Kalıntı aktivite} = \left[\frac{(\text{işlem sonrası LOX aktivitesi})}{(\text{işlem öncesi LOX aktivitesi})} \right] \times 100$$

3.2.3.11. Polifenol Oksidaz Aktivitesi Tayini

Polifenol oksidaz enziminin ekstraksiyonu ve aktivite tayini Marsellés-Fontanet ve Martín-Belloso (2007)'nin belirttikleri yöntemde bazı değişiklikler yapılarak

belirlenmiştir. Meyve suyu örneğinden 10 mL tüpe alınarak 12 mM askorbik asit içeren 10 mL sodyum fosfat tampon (pH 7.0) çözeltisi üzerine eklenmiştir. Oluşan karışım 4600 rpm'de 10 dak santrifüjlenmiş ve üst kısımdaki berrak sıvı atılmıştır. Alttaki tortuya %1.5 (w/v) Triton[®] X-100, %2 (w/v) polivinilpirrolidone (PVP) ve 50 mM kalsiyum klorid içeren 5 mL sodyum fosfat tampon çözeltisi eklenmiştir. İki dak karıştırıldıktan sonra karışım 4600 rpm'de 15 dak santrifüjlenmiştir. Sıvı karışım Whatman no. 41 ile süzölmüş ve elde edilen berrak süzöntü enzim ekstraktı olarak kullanılmıştır. Tüm işlemler örnek ve çözeltilerin sıcaklığı 5°C'nin altında tutularak gerçekleştirilmiştir. Daha sonra spektrofotometre küvetine 20 mM kateşol içeren McIlvine çözeltisinden (pH 4.75±0.02) 2.45 mL alınarak üzerine 0.05 mL enzim ekstraktı eklenmiş ve yavaş bir şekilde karıştırılarak homojenize edilmiştir. Kontrol örneği ise enzim ekstraktı yerine distile su kullanılarak hazırlanmıştır. Absorbans ölçümleri 25°C'de 400 nm dalga boyunda yapılmış ve 5 dak boyunca 20 s aralıklarla kaydedilmiştir. Enzim aktivitesi absorbans-zaman eğrisinin düz kısmının eğimi alınarak belirlenmiştir. Polifenol oksidaz enzim aktivitesinde bir ünitelik değişim, enzim ekstratının 1 mL'sinde 1 dak 0.001 absorbans ünitesinin değişimi olarak hesaplanmıştır. Ölçülen değerler aşağıdaki formülde yerine konularak % kalıntı aktivite değeri bulunmuştur.

$$\% \text{Kalıntı aktivite} = \left[\frac{(\text{işlem sonrası PPO aktivitesi})}{(\text{işlem öncesi PPO aktivitesi})} \right] \times 100$$

3.2.3.12. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri

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

Apodization modu: Happ-Genzel

Tarama sayısı: 120/sn

Dalga boyu aralığı: 650-4000 nm

3.2.4. Verilerin Analizi

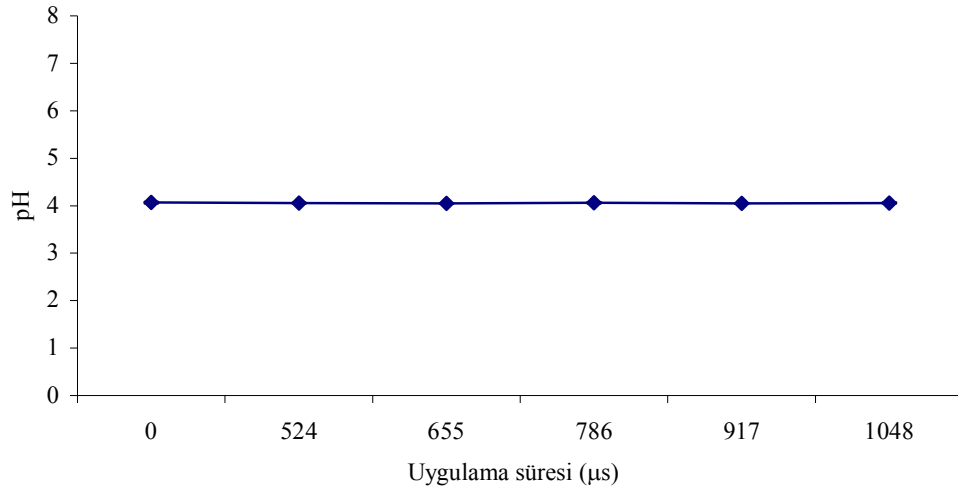
Veri analizinde uygulama süresi bağımsız değişken olarak ele alınmış olup uygulama süresinin ölçülen özellikler veya enzim inaktivasyonu üzerindeki etkisi test edilmiştir. Verilerin analizinde tek yönlü ANOVA kullanılmış olup uygulamalar arasındaki farklılıklar Tukey's çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Minitab (13.1 versiyon) istatistik programı kullanılmıştır ($\alpha:0.05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

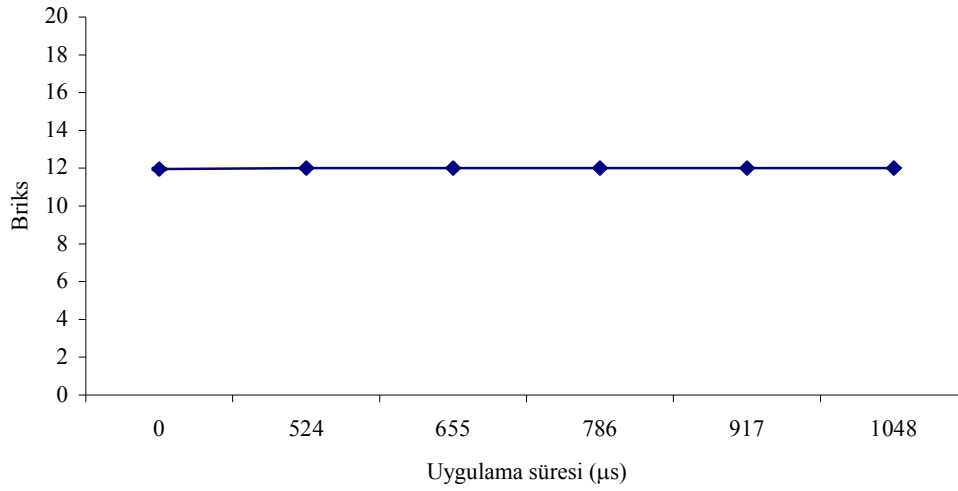
4.1. Atımlı elektrik alanı uygulamasında uygulama süresinin portakal suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi

Atımlı elektrik alanı ile proses edilen portakal sularında PEF prosesi öncesi ve sonrası portakal suyu örneklerinin pH değerleri ölçülmüştür. Buna göre kontrol örneklerinde 4.06 ± 0.01 olarak tespit edilen pH değeri, 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s sürelerinde proses edilmiş portakal sularında sırasıyla 4.05 ± 0.004 , 4.05 ± 0.00 , 4.06 ± 0.01 , 4.05 ± 0.00 ve 4.05 ± 0.008 olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar ışığında işlenmiş portakal suyu ile kontrol örnekleri arasında istatistiksel açıdan önemli sayılabilecek bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.1).

Benzer şekilde PEF uygulaması öncesi ve sonrasında portakal suyunun °Briks değeri ölçülmüş ve kontrol örneğinde °Briks değeri 11.95 ± 0.05 olarak tespit edilmiştir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s sürelerinde proses edilmiş portakal sularında °Briks değerleri sırasıyla 12.00 ± 0.00 , 12.00 ± 0.00 , 12.00 ± 0.00 , 12.00 ± 0.00 ve 12.00 ± 0.00 olarak bulunmuş olup uygulama süresi arttırıldığında portakal suyunun °Briks değerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim görülmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.2).



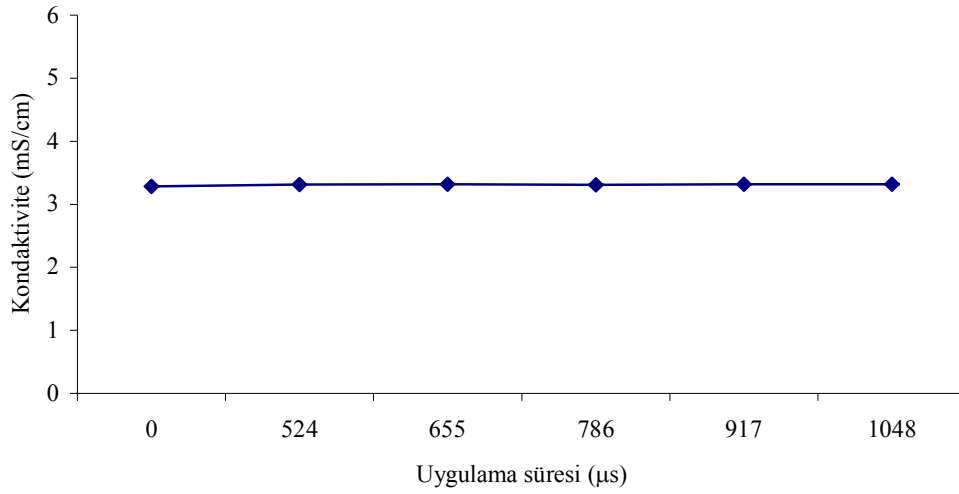
Şekil 4.1. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda pH değerleri.



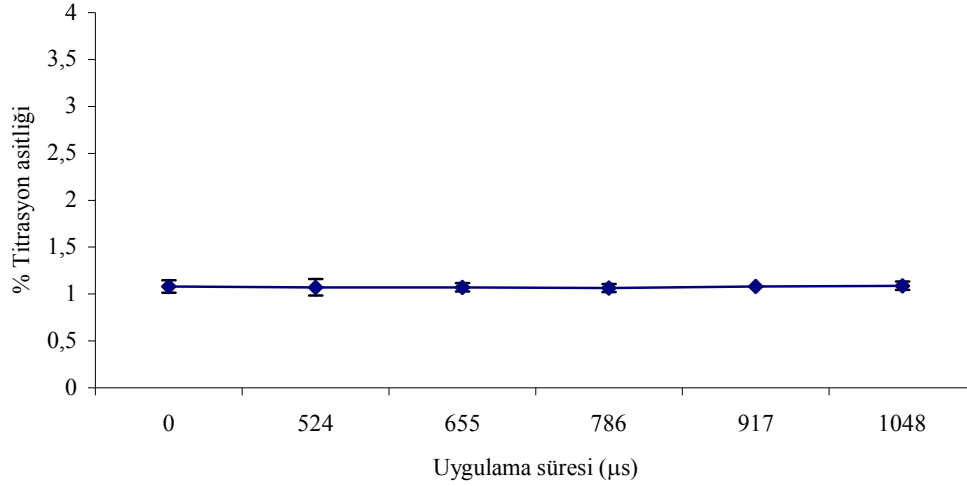
Şekil 4.2. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda °Brix değerleri.

Kontrol örneklerinde kondaktivite değeri 3.28 ± 0.004 mS/cm olarak bulunmuş olup; 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde PEF uygulanmış portakal sularında kondaktivite değerleri sırasıyla 3.31 ± 0.004 , 3.31 ± 0.004 , 3.31 ± 0.006 , 3.32 ± 0.00 ve 3.31 ± 0.004 mS/cm olarak ölçülmüştür ($p > 0.05$) (Şekil 4.3).

Kontrol örneğinde titrasyon asitliği değeri 1.08 ± 0.06 olarak bulunmuş olup, sırasıyla 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde titrasyon asitliği değerleri 1.07 ± 0.08 , 1.07 ± 0.04 , 1.06 ± 0.04 , 1.08 ± 0.00 ve 1.08 ± 0.04 olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde uygulama süresinin artışı sonucunda örneklerin titrasyon asitliği değerlerinde istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.4).



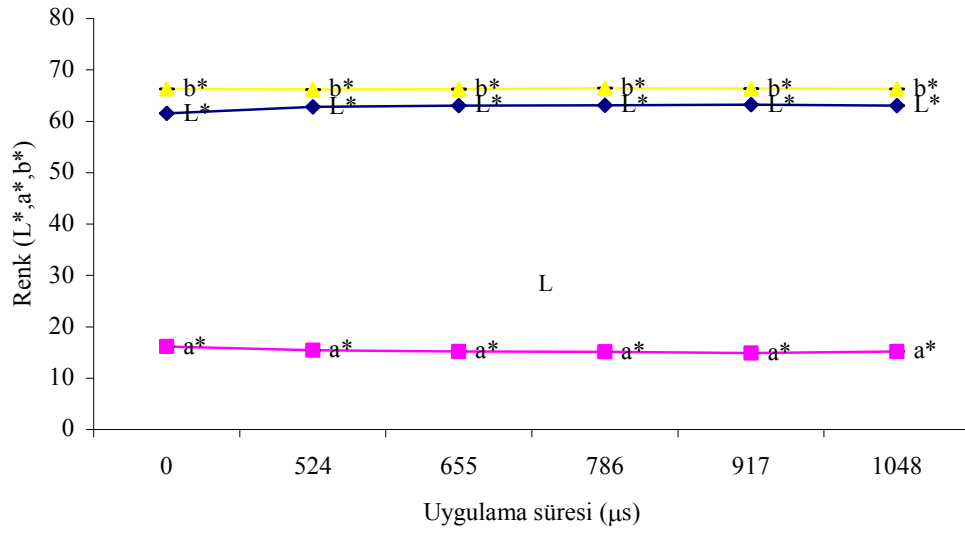
Şekil 4.3. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda kondaktivite değerleri.



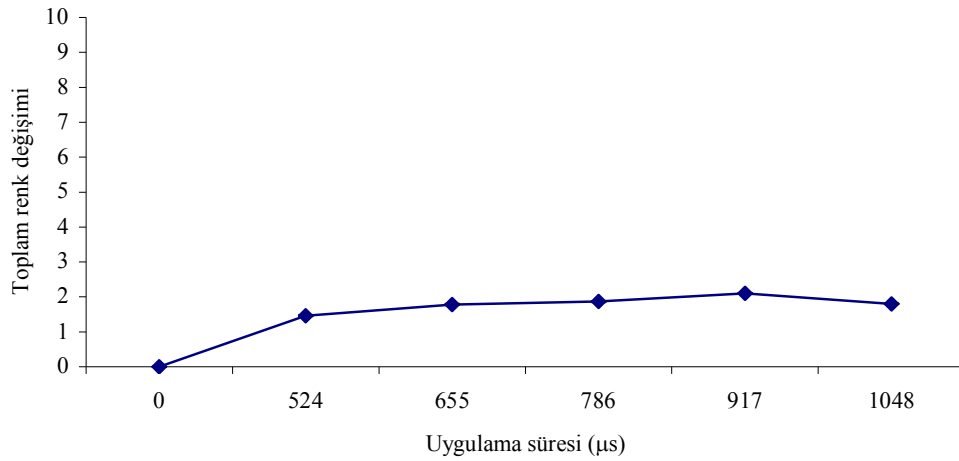
Şekil 4.4. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda % titrasyon asitliği değerleri.

PEF prosesinin portakal suyunun rengi üzerine etkisine bakmak için L^* , a^* ve b^* ölçümleri yapılmış olup kontrol örneklerinde L^* , a^* ve b^* değerleri sırasıyla 61.57 ± 0.005 , 16.18 ± 0.005 ve 66.3 ± 0.03 olarak saptanmıştır. Uygulanan sürelerdeki artış renk değerlerinde önemli bir değişime yol açmamış olup; söz konusu değerler uygulama süresinin en yüksek derece uygulandığı 1048 μs değerinde 63.07 ± 0.005 , 15.19 ± 0.00 ve 66.31 ± 0.04 olarak tespit edilmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.5).

PEF uygulaması öncesi kontrol örneğinin toplam renk değişim (ΔE) değeri 0 ± 0.00 olup, PEF uygulandıktan sonra 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde portakal suyu örneğinde ise ΔE değerleri sırasıyla 1.46 ± 0.011 , 1.78 ± 0.012 , 1.86 ± 0.011 , 2.1 ± 0.012 ve 1.8 ± 0.008 olarak hesaplanmıştır. Buna göre PEF prosesi uygulanmış portakal suyu örneklerinde artan uygulama süresine bağlı olarak toplam renk farkında artış gözlenmiştir ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.6).

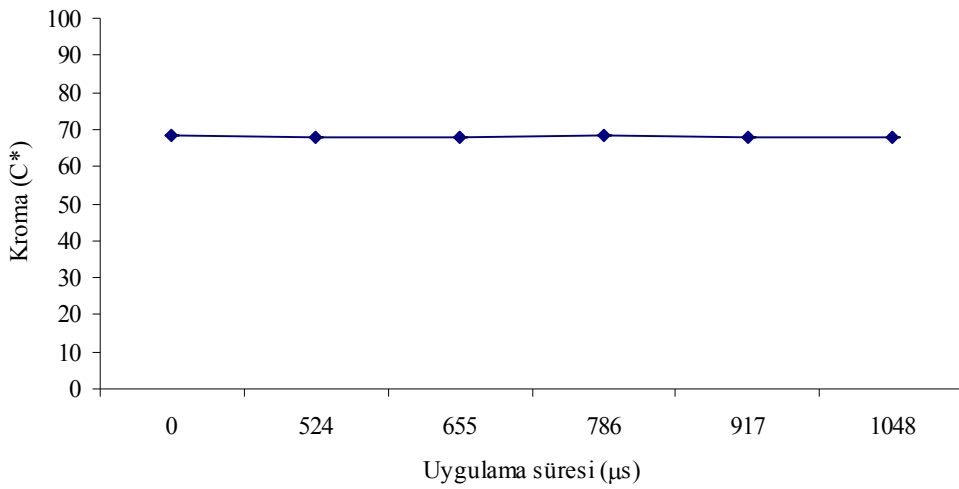


Şekil 4.5. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda renk (L^* , a^* ve b^*) değerleri.



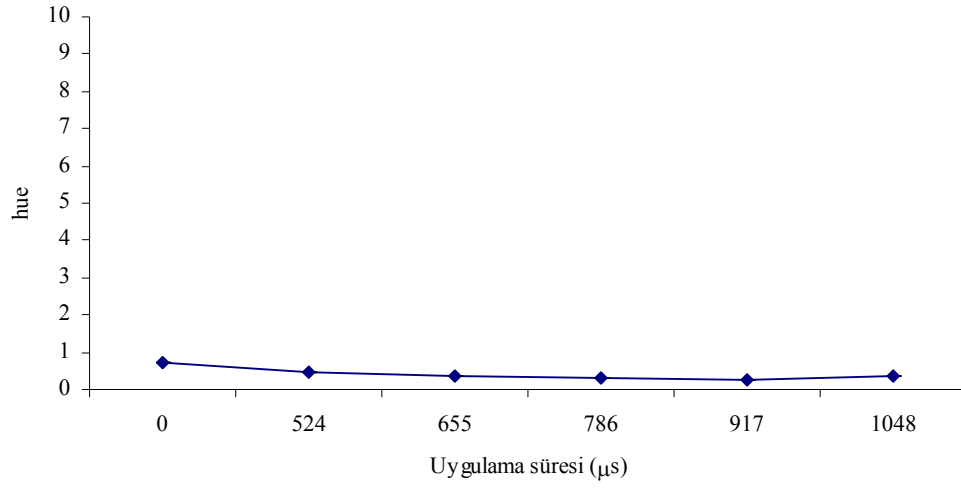
Şekil 4.6. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda toplam renk değişimi.

Kontrol örneğinde kroma değeri (C^*) 68.24 ± 0.034 olarak bulunmuş olup, 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde kroma değerleri (C^*) sırasıyla 67.96 ± 0.023 , 67.98 ± 0.066 , 68.17 ± 0.018 , 68.02 ± 0.043 ve 68.02 ± 0.038 olarak saptanmıştır. Buna göre artan uygulama süresine bağlı olarak portakal suyu örneklerinin kroma değerinde önemli bir değişim olmadığı gözlenmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.7).

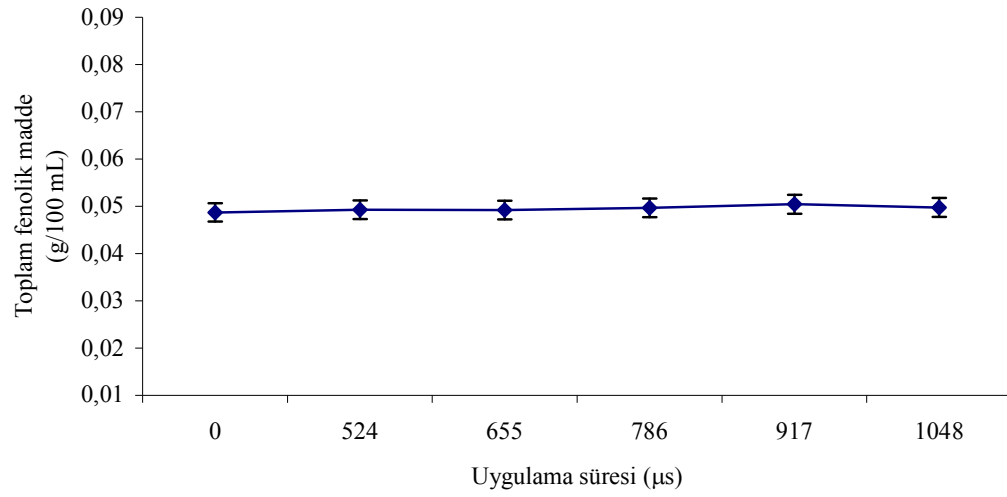


Şekil 4.7. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda kroma (C^*) değerleri.

Benzer şekilde PEF uygulaması öncesi ve sonrasında portakal suyunun hue (h°) değerleri hesaplanmış ve kontrol örneğinde hue değeri 0.7 ± 0.003 olarak bulunmuştur. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde hue değerleri sırasıyla 0.45 ± 0.008 , 0.37 ± 0.007 , 0.32 ± 0.003 , 0.26 ± 0.000 ve 0.36 ± 0.002 olarak saptanmıştır. Buna göre PEF prosesi uygulanmış portakal suyu örneklerinin hue değerlerinde artan uygulama süresine bağlı olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.8).

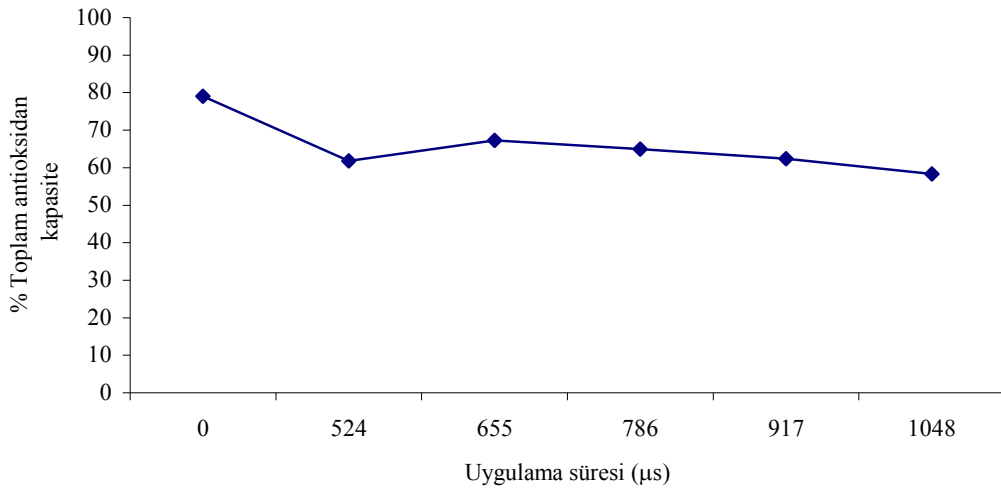


Şekil 4.8. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda hue (h°) değerleri.



Şekil 4.9. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda toplam fenolik madde miktarı.

Uygulanan PEF prosesinin portakal suyunun 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 0.0487 ± 0.00 g/100 mL olarak tespit edilmiştir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 0.04929 ± 0.01 , 0.04919 ± 0.005 , 0.04968 ± 0.003 , 0.05043 ± 0.005 ve 0.04976 ± 0.004 g/100 mL olarak bulunmuştur ($p > 0.05$) (Şekil 4.9).

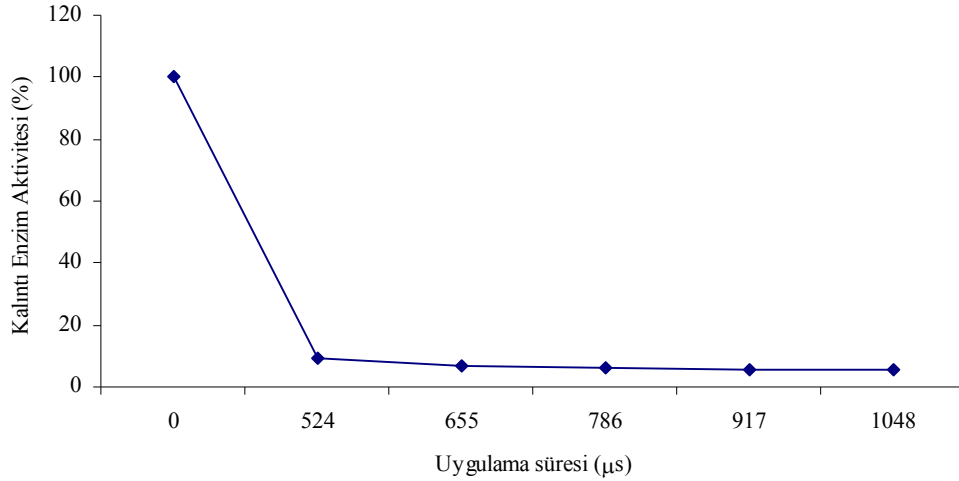


Şekil 4.10. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda (%) toplam antioksidan kapasitesi.

Artan uygulama süresinin portakal suyunun toplam antioksidan kapasitesi (%) üzerindeki etkisinin değerlendirildiği analizlerde kontrol örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi 79.02 ± 0.12 olarak ölçülmüştür. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde sırasıyla toplam antioksidan kapasitesinin 61.80 ± 0.45 , 67.29 ± 0.27 , 64.97 ± 0.17 , 62.34 ± 0.66 ve 58.31 ± 0.54 olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre portakal

suyu örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinin artan uygulama süresine bağlı olarak azaldığı görülmüştür. Kontrol örnekleriyle karşılaştırıldığında artan uygulama süresine bağlı olarak antioksidan kapasitesinde meydana gelen azalmanın önemli olduğu ($p \leq 0.05$), ancak uygulanan süreler arasında istatistiksel değerlendirme yapıldığında istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$) (Şekil 4.10).

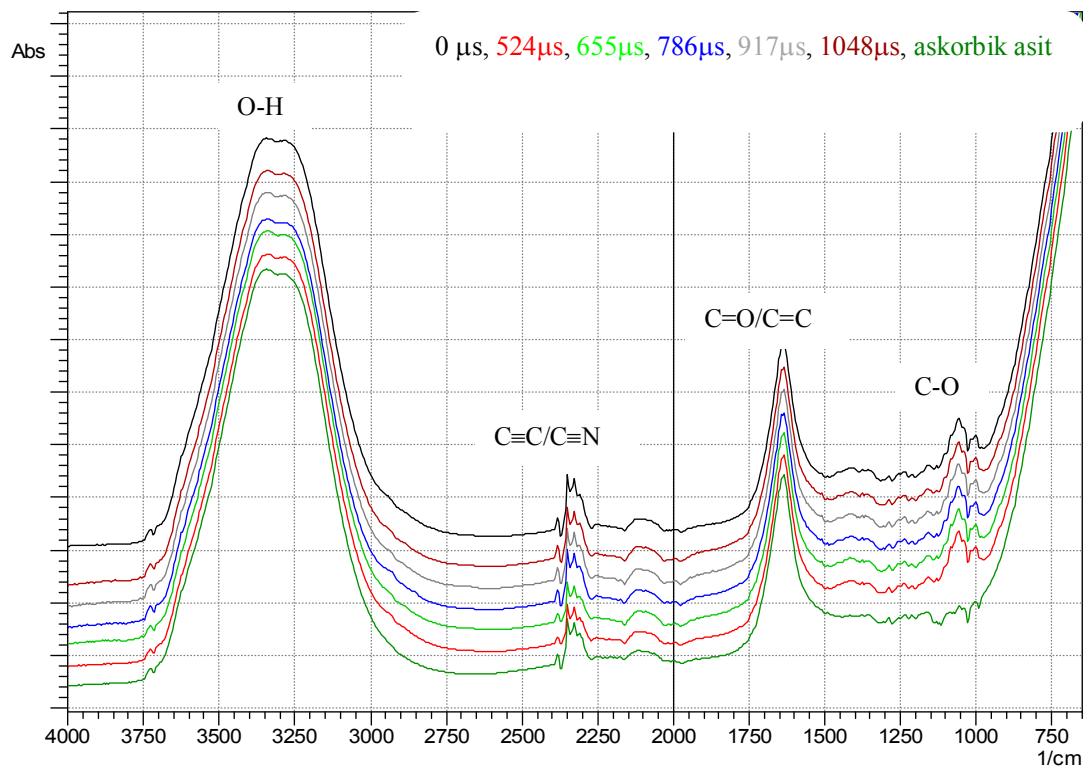
PEF uygulamasının pektin metilesteraz enzimi üzerindeki etkisinin incelendiği bölümde ise kontrol örneğindeki enzim aktivitesi %100 olarak kabul edilmiştir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama süreleri sonucu elde edilen kalıntı enzim aktivitesi (%) sırasıyla 9.09, 7.09, 5.88, 5.76 ve 5.38 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre uygulama süresinin artması ile kalıntı enzim aktivitesinin (%) azaldığı görülmüştür. Uygulanan PEF işlemleri ile ortalama %90-95 oranında pektin metilesteraz inaktivasyonu sağlanmıştır ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda pektin metilesteraz aktivitesi.

Uygulanan PEF prosesinin portakal suyu örneklerinin izomerizasyon kinetiklerinde (komponent içeriklerinde) bir değişime neden olup olmadığını tespit etmek amacıyla FT-IR spektroskopisi ile ölçümler yapılmıştır. Ölçümler cihazın ATR attachmantına her defasında bir ömektan 10 µL yerleştirilmesi ve direk olarak tüm örneklerin ATR 400-3000 nm dalga boyunda ölçülmesiyle gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.12’de askorbik asit, portakal suyu, 524, 655, 786, 917 ve 1048 µs uygulama sürelerinde PEF ile muamele edilmiş portakal suyu örneklerine ait infrared spektrumlar görölmektedir. Grafikte x düzlemi 750-4000 cm⁻¹ arasındaki dalga boyunu, y düzlemi örneklerdeki absorbans değerlerini göstermektedir. Tüm örneklerin absorpsiyon pik eğrileri incelendiğinde; 3250-3400 cm⁻¹, 2250-2400 cm⁻¹, 1650-1700 cm⁻¹, 1050 -1100 cm⁻¹ dalgaboyu aralıklarında piklerin oluştuğu görölmektedir. Pik eğrilerinin oluştuğu dalga boyu aralıkları, element bağları-dalga boyu arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon tablosu ile karşılaştırıldığında var olan bağların sırasıyla O-H, C≡C/C≡N, C=O/C=C ve C-O olduğu görölmektedir. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında 3600-3200 cm⁻¹ aralığı O-H hidrojen bağı olarak görölüp, genelde alkoller, fenoller ve karboksilik asit komponentlerinden oluşan gerilme kuvveti olarak karşımıza çıkmaktadır. Portakal suyu için bu gerilme kuvvetine ait pik büyük oranda su moleküllerinden kaynaklanmaktadır. 2260-2100 cm⁻¹ aralığındaki pik alkinlere ait C≡C bağı, 2260-2220 cm⁻¹ aralığındaki pik ise nitrillere ait C≡N bağı göstermektedir. 1760-1670 cm⁻¹ aralığı aldehit, keton, karboksilik asit ve esterlere ait C=O bağına ait olabilmektedir. Bunun yanı sıra 1600-1500 cm⁻¹ aralığındaki pik C=C aromatik halkasal yapıya ait gerilme kuvvetini, 1260-1000 cm⁻¹ aralığındaki pik ise alkol, eter, karboksilik asitler ve esterlere ait C-O gerilme kuvvetini temsil etmektedir. Sonuç olarak, askorbik asit, portakal suyu ve portakal

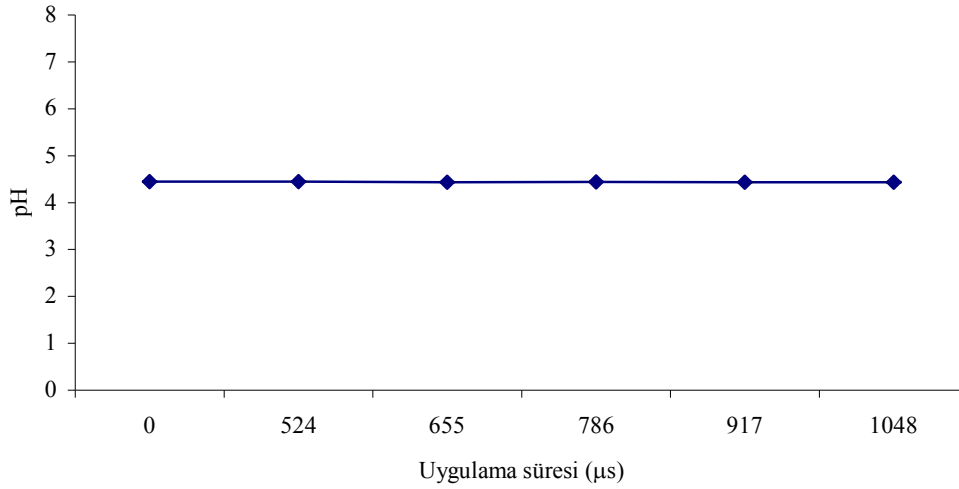
suyunun değişik uygulama sürelerinde PEF ile prosesi sonucu elde edilen veriler incelendiğinde genel olarak PEF ile proses edilmemiş kontrol örneği ile proses edilmiş örneklerin FT-IR spektrumlarında herhangi bir değişimin olmadığı gözlenmektedir ($p>0.05$). Dolayısıyla, PEF prosesinin örneklerin izomerizasyon kinetiklerinde herhangi bir değişime neden olmadığı görülmüştür.



Şekil 4.12. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş portakal suyunda FT-IR spektrumu.

4.2. Atımlı elektrik alanı uygulamasında uygulama süresinin domates suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi

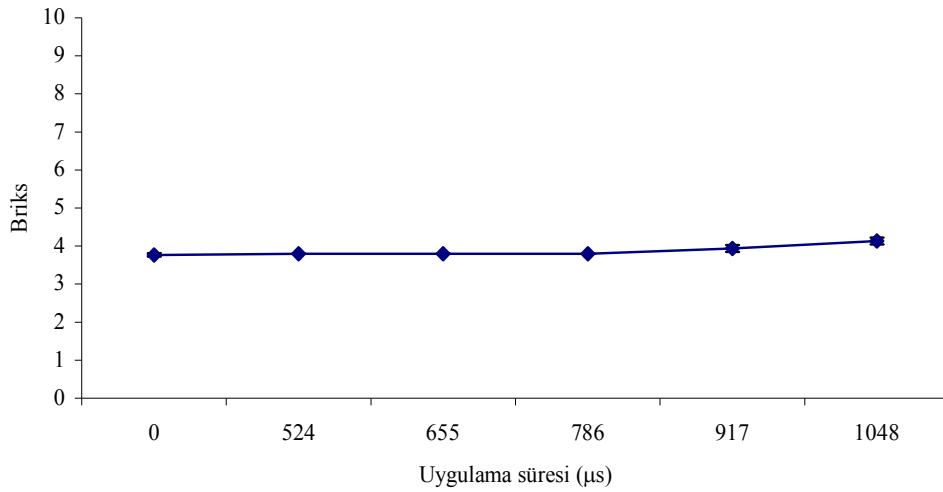
Atımlı elektrik alanı ile proses edilen domates sularında PEF prosesi öncesi ve sonrası domates suyu örneklerinin pH değerleri ölçülmüştür. Buna göre kontrol örneklerinde 4.44 ± 0.004 olarak tespit edilen pH değeri, 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs sürelerinde sırasıyla 4.44 ± 0.004 , 4.43 ± 0.004 , 4.44 ± 0.00 , 4.43 ± 0.004 ve 4.43 ± 0.004 olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar ışığında işlenmiş domates suyu ile kontrol örnekleri arasında istatistiksel açıdan önemli sayılabilecek bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.13).



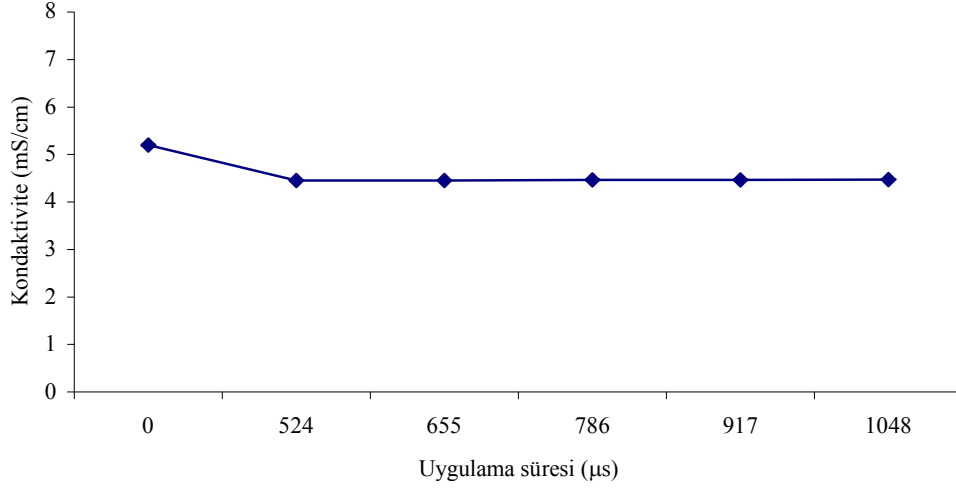
Şekil 4.13. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda pH değerleri.

Benzer şekilde PEF uygulaması öncesi ve sonrasında domates suyunun °Briks değeri ölçülmüş ve kontrol örneğinde °Briks değeri 3.76 ± 0.04 olarak tespit edilmiştir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs sürelerinde °Briks değerleri sırasıyla 3.8 ± 0.00 , 3.8 ± 0.00 , 3.8 ± 0.00 , 3.93 ± 0.08 ve 4.13 ± 0.08 olarak bulunmuş olup uygulama süresi arttırıldığında domates suyunun °Briks değerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim görülmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.14).

Kontrol örneklerinde kondaktivite değeri 5.19 ± 0.008 mS/cm olarak bulunmuş olup; 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde PEF uygulanmış domates sularında kondaktivite değerleri sırasıyla 4.45 ± 0.004 , 4.45 ± 0.004 , 4.46 ± 0.004 , 4.46 ± 0.004 ve 4.47 ± 0.004 mS/cm olarak ölçülmüştür ($p > 0.05$) (Şekil 4.15).



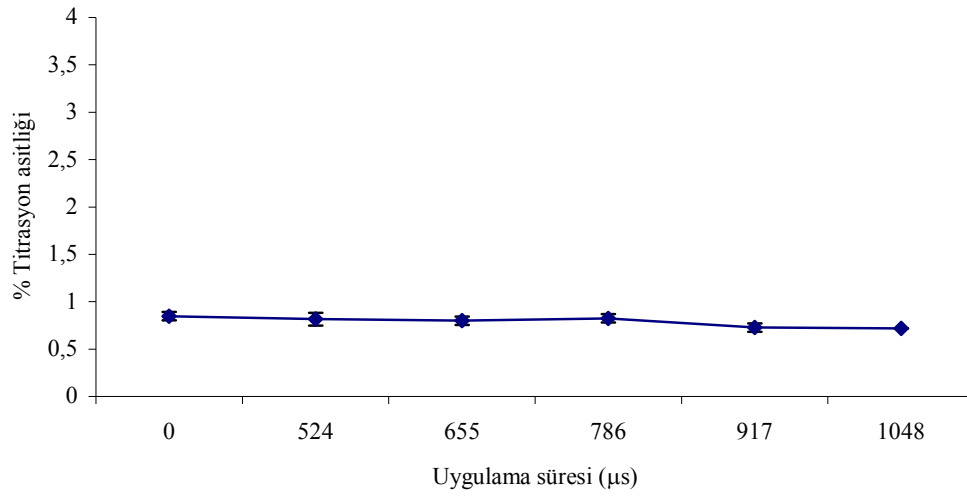
Şekil 4.14. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunun °Briks değerleri.



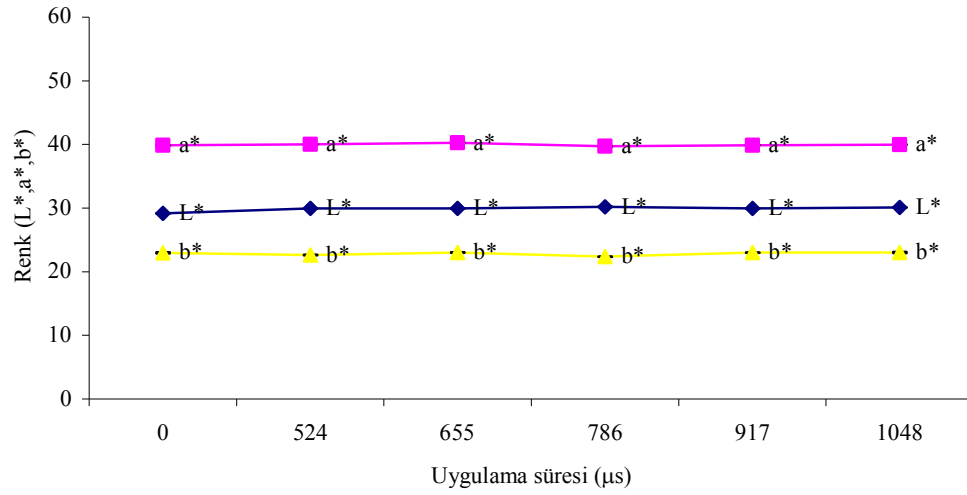
Şekil 4.15. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda kondaktivite değerleri.

Kontrol örneğinde titrasyon asitliği değeri 0.84 ± 0.04 olarak bulunmuş olup, sırasıyla 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde titrasyon asitliği değerleri 0.81 ± 0.06 , 0.8 ± 0.04 , 0.82 ± 0.04 , 0.72 ± 0.04 ve 0.72 ± 0.00 olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde uygulama süresinin artışı sonucunda örneklerin titrasyon asitliği değerlerinde istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.16).

PEF prosesinin domates suyunun rengi üzerine etkisine bakmak için L^* , a^* ve b^* ölçümleri yapılmış olup kontrol örneklerinde L^* , a^* ve b^* değerleri sırasıyla 29.17 ± 0.01 , 39.85 ± 0.02 ve 22.96 ± 0.08 olarak saptanmıştır. Uygulanan sürelerdeki artış renk değerlerinde önemli bir değişime yol açmamış olup söz konusu değerler uygulama süresinin en yüksek derece uygulandığı 1048 μs değerinde 30.11 ± 0.003 , 39.97 ± 0.03 ve 23.01 ± 0.07 olarak tespit edilmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.17).



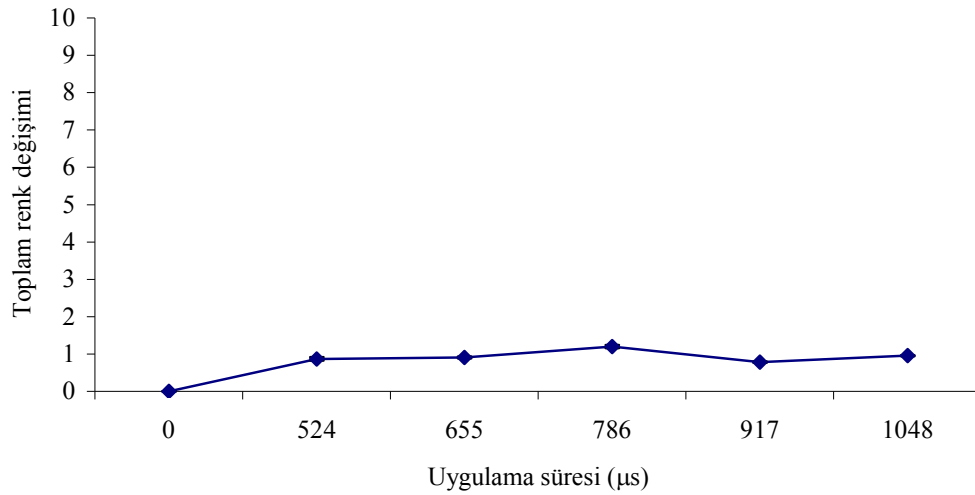
Şekil 4.16. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda % titrasyon asitliği değerleri.



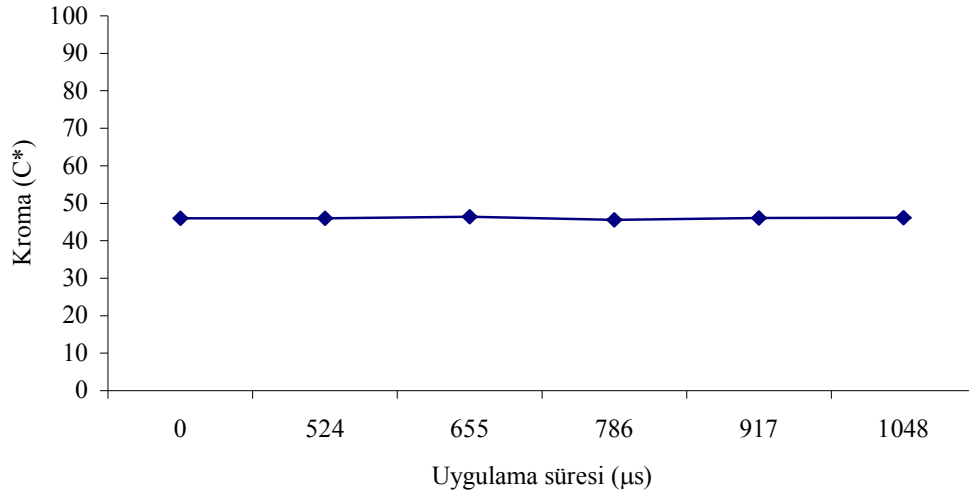
Şekil 4.17. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda renk (L*, a* ve b*) değerleri.

PEF uygulaması öncesi kontrol örneğinin toplam renk değişim (ΔE) değeri 0 ± 0.00 olup, PEF uygulandıktan sonra 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde domates suyu örneğinde ise ΔE değerleri sırasıyla 0.86 ± 0.04 , 0.9 ± 0.02 , 1.19 ± 0.04 , 0.78 ± 0.01 ve 0.95 ± 0.01 olarak hesaplanmıştır. Buna göre PEF prosesi uygulanmış domates suyu örneklerinde artan uygulama süresine bağlı olarak toplam renk farkında artış gözlenmiştir ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.18).

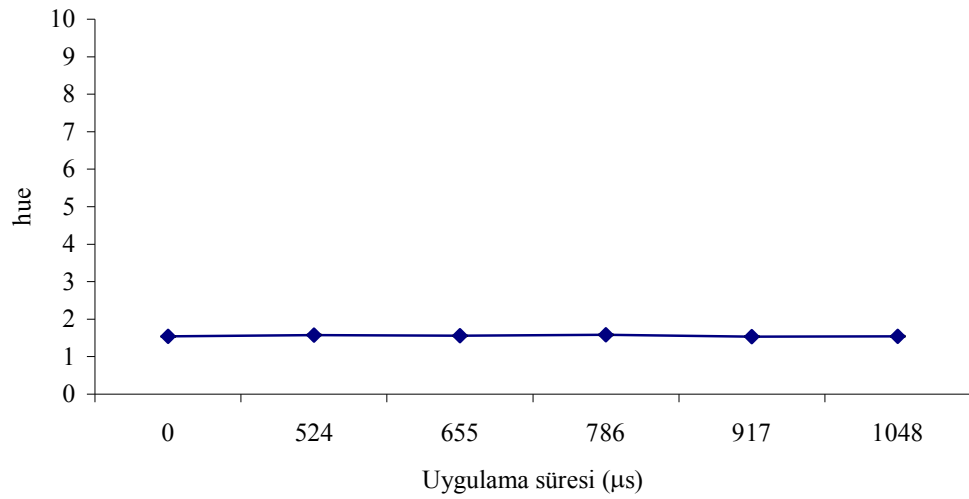
Kontrol örneğinde kroma değeri (C^*) 45.99 ± 0.04 olarak bulunmuş olup, 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde kroma değerleri (C^*) sırasıyla 45.96 ± 0.06 , 46.39 ± 0.04 , 45.56 ± 0.04 , 46.03 ± 0.02 ve 46.12 ± 0.02 olarak saptanmıştır. Buna göre artan uygulama süresine bağlı olarak domates suyu örneklerinin kroma değerinde önemli bir değişim olmadığı gözlenmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.19).



Şekil 4.18. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda toplam renk değişimi.



Şekil 4.19. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda kroma (C*) değerleri.

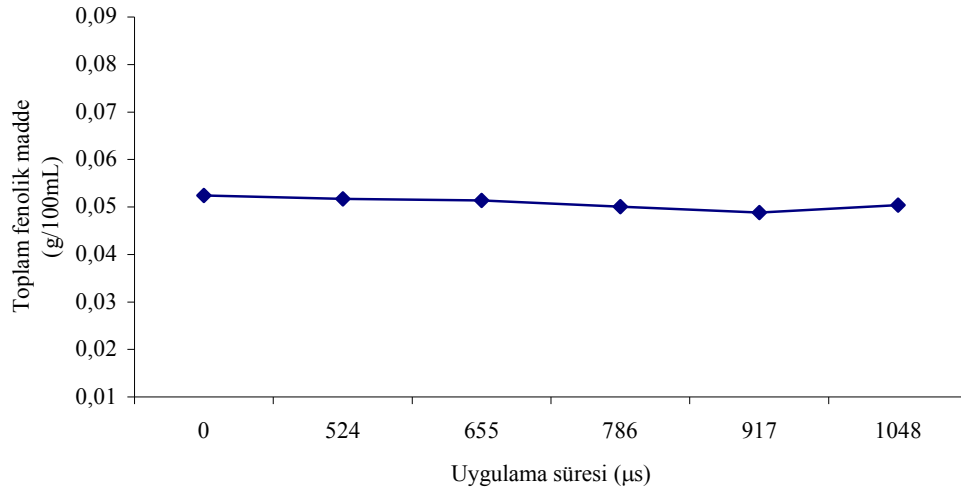


Şekil 4.20. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda hue (h°) değerleri.

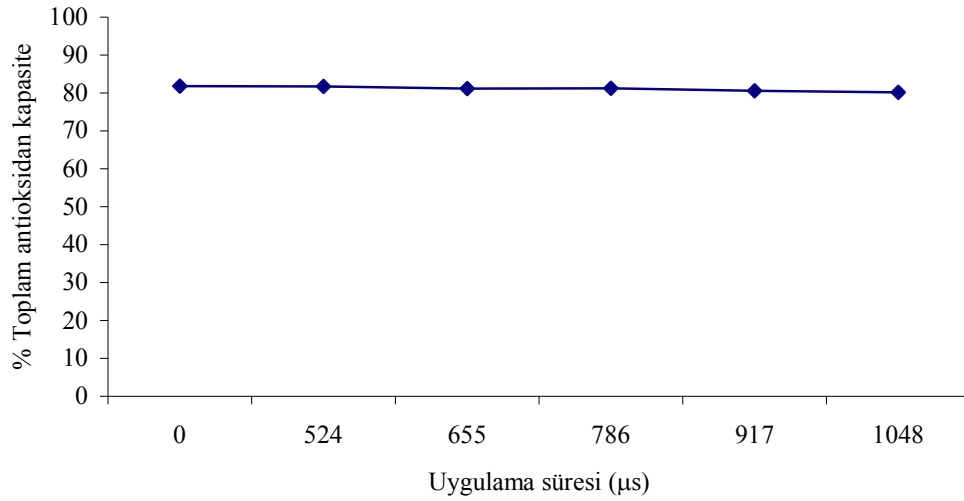
Benzer şekilde PEF uygulaması öncesi ve sonrasında domates suyunun hue (h°) değerleri hesaplanmış ve kontrol örneğinde hue değeri 1.53 ± 0.006 olarak bulunmuştur. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde hue değerleri sırasıyla 1.57 ± 0.004 , 1.55 ± 0.005 , 1.58 ± 0.005 , 1.53 ± 0.001 ve 1.54 ± 0.007 olarak saptanmıştır. Buna göre domates suyu örneklerinin hue değerlerinde artan uygulama süresine bağlı olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.20).

Uygulanan PEF prosesinin domates suyunun 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 0.05242 ± 0.00 g/100 mL olarak tespit edilmiştir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 0.05169 ± 0.00 , 0.05135 ± 0.00 , 0.05003 ± 0.00 , 0.04884 ± 0.00 ve 0.05040 ± 0.00 g/100 mL olarak bulunmuştur ($p > 0.05$) (Şekil 4.21).

Artan uygulama süresinin domates suyunun toplam antioksidan kapasitesi (%) üzerindeki etkisinin değerlendirildiği analizlerde kontrol örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi 81.79 ± 0.56 olarak ölçülmüştür. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde sırasıyla toplam antioksidan kapasitesinin 81.72 ± 0.13 , 81.14 ± 0.59 , 81.22 ± 0.16 , 80.57 ± 0.12 ve 80.14 ± 0.27 olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre domates suyu örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinde artan uygulama süresine bağlı olarak önemli bir fark olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$) (Şekil 4.22).

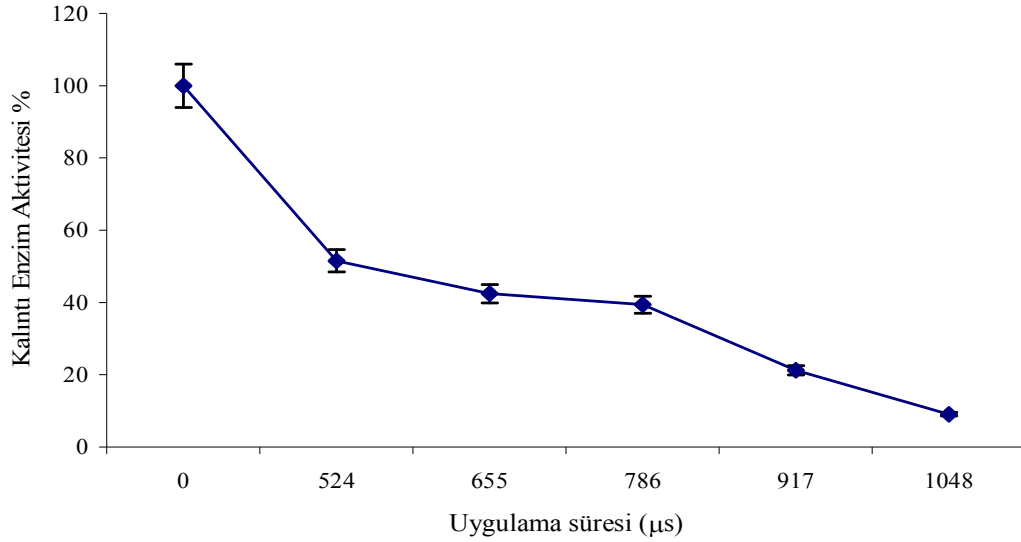


Şekil 4.21. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda toplam fenolik madde miktarı.



Şekil 4.22. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda (%) toplam antioksidan kapasitesi.

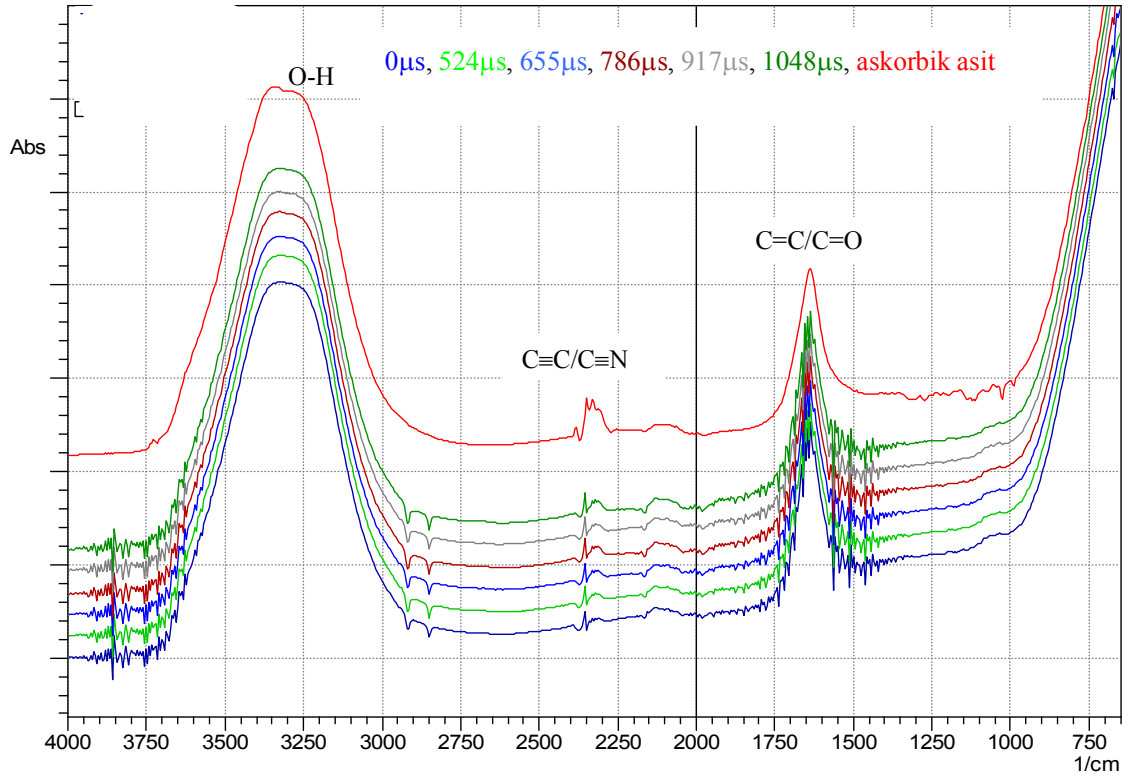
Atımlı elektrik alanı uygulamasının lipoksigenaz enzimi üzerindeki etkisinin incelendiği bölümde ise kontrol örneğindeki enzim aktivitesi %100 olarak kabul edilmiştir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama süreleri sonucu elde edilen kalıntı enzim aktivitesi (%) sırasıyla 51.51, 42.42, 39.39, 21.21 ve 9.09 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre uygulama süresinin artması ile lipoksigenaz aktivitesinin (%) azaldığı görülmüştür ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda lipoksigenaz aktivitesi.

Uygulanan PEF prosesinin domates suyu örneklerinin izomerizasyon kinetiklerinde (komponent içeriklerinde) bir değişime neden olup olmadığını tespit etmek amacıyla FT-IR spektroskopisi ile ölçümler yapılmıştır. Şekil 4.24’de askorbik asit, domates suyu, 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde PEF ile

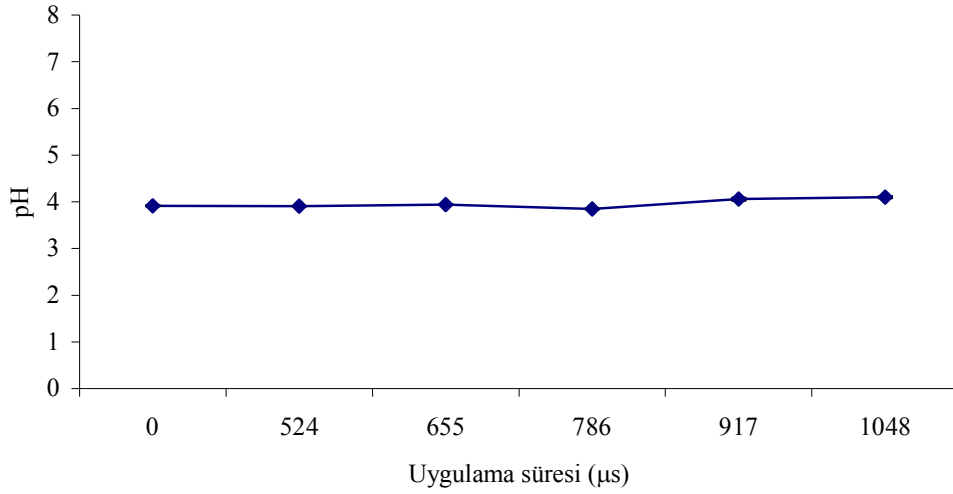
muamele edilmiş domates suyu örneklerine ait infrared spektrumlar görülmektedir. Grafikte x düzlemi $750-4000\text{ cm}^{-1}$ arasındaki dalga boyunu, y düzlemi örneklerdeki absorban değerlerini göstermektedir. Tüm örneklerin absorpsiyon pik eğrileri incelendiğinde; $3250-3400\text{ cm}^{-1}$, $2250-2400\text{ cm}^{-1}$ ve $1650-1700\text{ cm}^{-1}$ dalgaboyu aralıklarında piklerin olduğu görülmektedir. Pik eğrilerinin olduğu dalga boyu aralıkları, element bağları-dalga boyu arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon tablosu ile karşılaştırıldığında var olan bağların sırasıyla O-H, $\text{C}\equiv\text{C}/\text{C}\equiv\text{N}$ ve $\text{C}=\text{O}/\text{C}=\text{C}$ olduğu görülmektedir. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında $3600-3200\text{ cm}^{-1}$ aralığı O-H hidrojen bağı olarak görülüp, genelde alkoller, fenoller ve karboksilik asit komponentlerinden oluşan gerilme kuvveti olarak karşımıza çıkmaktadır. Domates suyu için bu gerilme kuvvetine ait pik büyük oranda su moleküllerinden kaynaklanmaktadır. $2260-2100\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pik alkinlere ait $\text{C}\equiv\text{C}$ bağı, $2260-2220\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pik ise nitrillere ait $\text{C}\equiv\text{N}$ bağı göstermektedir. $1760-1670\text{ cm}^{-1}$ aralığı aldehit, keton, karboksilik asit ve esterlere ait $\text{C}=\text{O}$ bağına ait olabilmektedir. Bunun yanı sıra $1600-1500\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pik $\text{C}=\text{C}$ aromatik halkasal yapıya ait gerilme kuvvetini göstermektedir. Sonuç olarak, askorbik asit, domates suyu ve domates suyunun değişik uygulama sürelerinde PEF ile prosesi sonucu elde edilen veriler incelendiğinde genel olarak PEF ile proses edilmemiş kontrol örneği ile proses edilmiş örneklerin FT-IR spektrumlarında herhangi bir değişimin olmadığı gözlenmektedir ($p>0.05$). Dolayısıyla, PEF prosesinin örneklerin izomerizasyon kinetiklerinde herhangi bir değişime neden olmadığı görülmüştür.



Şekil 4.24. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş domates suyunda FT-IR spektrumu.

4.3. Atımlı elektrik alanı uygulamasında uygulama süresinin üzüm suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi

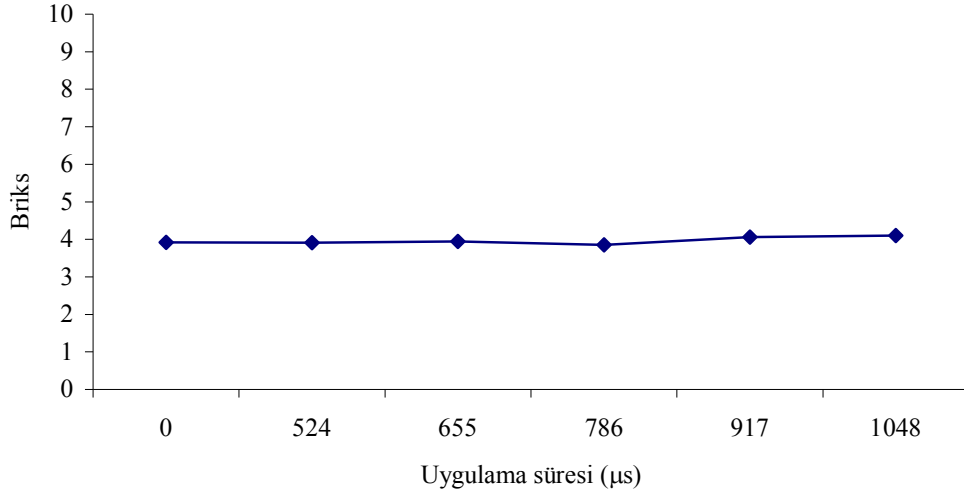
Atımlı elektrik alanı ile proses edilen üzüm sularında PEF prosesi öncesi ve sonrası üzüm suyu örneklerinin pH değerleri ölçülmüştür. Buna göre kontrol örneklerinde 3.91 ± 0.01 olarak tespit edilen pH değeri, 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s sürelerinde sırasıyla 3.91 ± 0.00 , 3.94 ± 0.004 , 3.85 ± 0.006 , 4.05 ± 0.02 ve 4.1 ± 0.02 olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar ışığında işlenmiş üzüm suyu ile kontrol örnekleri arasında istatistiksel açıdan önemli sayılabilecek bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.25).



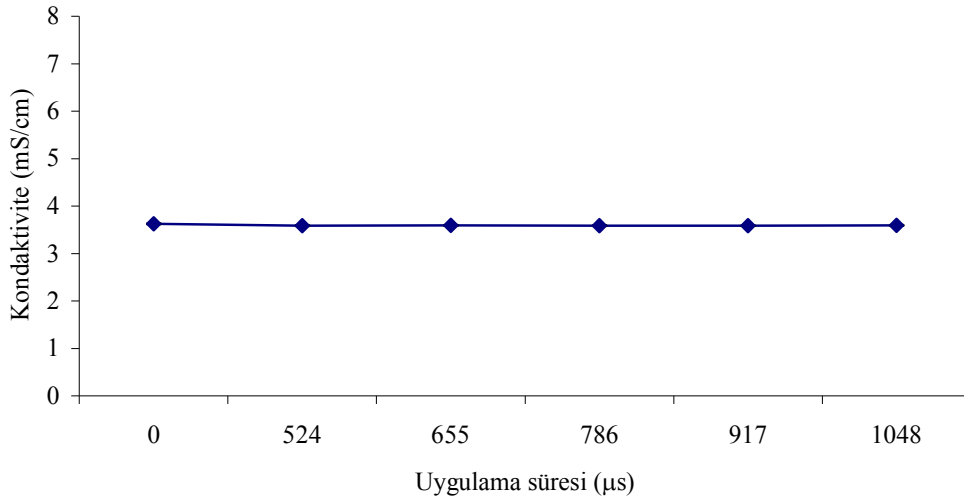
Şekil 4.25. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda pH değerleri.

Benzer şekilde PEF uygulaması öncesi ve sonrasında üzüm suyunun °Briks değeri ölçülmüş ve kontrol örneğinde °Briks değeri 3.91 ± 0.01 olarak tespit edilmiştir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 µs sürelerinde °Briks değerleri sırasıyla 3.91 ± 0.00 , 3.94 ± 0.004 , 3.85 ± 0.006 , 4.05 ± 0.02 ve 4.1 ± 0.02 olarak bulunmuş olup uygulama süresi arttırıldığında üzüm suyunun °Briks değerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim görülmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.26).

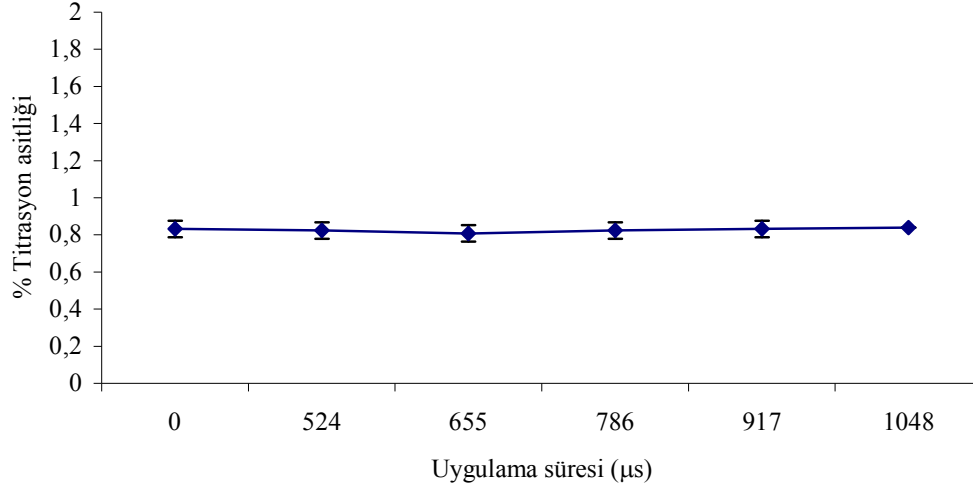
Kontrol örneklerinde kondaktivite değeri 3.62 ± 0.004 mS/cm olarak bulunmuş olup; 524, 655, 786, 917 ve 1048 µs uygulama sürelerinde PEF uygulanmış üzüm sularında kondaktivite değerleri sırasıyla 3.59 ± 0.006 , 3.59 ± 0.004 , 3.58 ± 0.004 , 3.59 ± 0.00 ve 3.59 ± 0.004 mS/cm olarak ölçülmüştür ($p > 0.05$) (Şekil 4.27).



Şekil 4.26. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda °Brix değerleri.



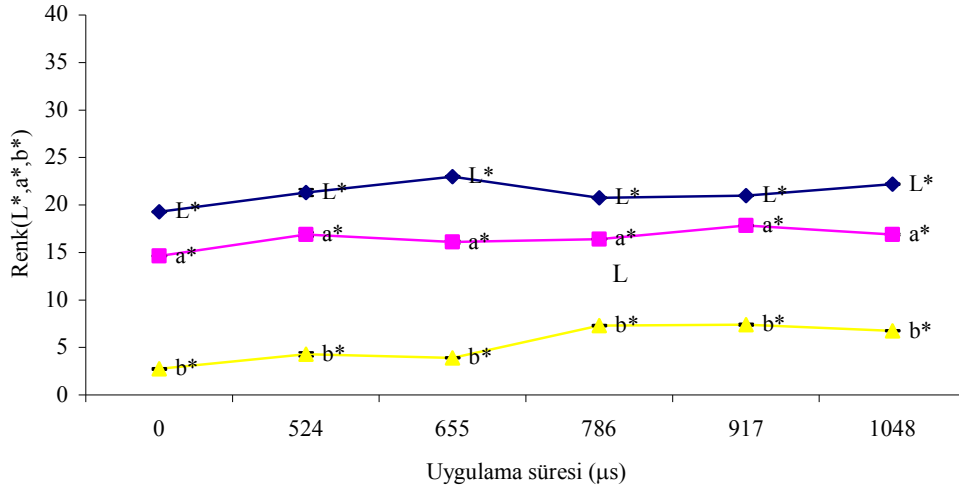
Şekil 4.27. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda kondaktivite değerleri.



Şekil 4.28. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda % titrasyon asitliği değerleri.

Kontrol örneğinde titrasyon asitliği değeri 0.83 ± 0.04 olarak bulunmuş olup, sırasıyla 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde titrasyon asitliği değerleri 0.82 ± 0.04 , 0.8 ± 0.04 , 0.82 ± 0.04 , 0.83 ± 0.04 ve 0.84 ± 0.00 olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde uygulama süresinin artışı sonucunda örneklerin titrasyon asitliği değerlerinde istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.28).

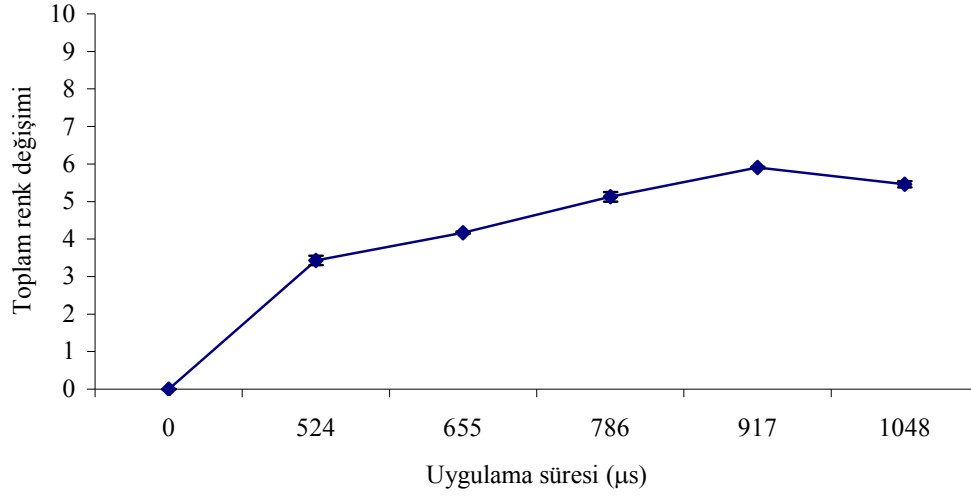
PEF prosesinin üzüm suyunun rengi üzerine etkisine bakmak için L^* , a^* ve b^* ölçümleri yapılmış olup kontrol örneklerinde L^* , a^* ve b^* değerleri sırasıyla 19.27 ± 0.02 , 14.63 ± 0.04 ve 2.74 ± 0.08 olarak saptanmıştır. Uygulanan sürelerdeki artış renk değerlerinde önemli bir değişime yol açmamış olup söz konusu değerler uygulama süresinin en yüksek derece uygulandığı 1048 μs değerinde 22.19 ± 0.05 , 16.9 ± 0.1 ve 6.75 ± 0.03 olarak tespit edilmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.29).



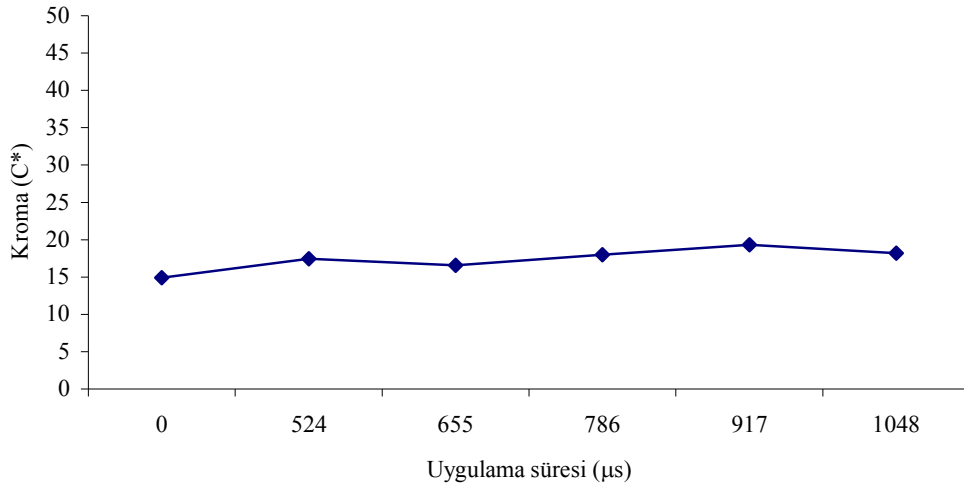
Şekil 4.29. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda renk (L^* , a^* ve b^*) değerleri.

PEF uygulaması öncesi kontrol örneğinin toplam renk değişim (ΔE) değeri 0 ± 0.00 olup, PEF uygulandıktan sonra 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde üzüm suyu örneğinde ise ΔE değerleri sırasıyla 3.42 ± 0.12 , 4.16 ± 0.02 , 5.12 ± 0.12 , 5.9 ± 0.02 ve 5.45 ± 0.08 olarak hesaplanmıştır. Buna göre PEF prosesi uygulanmış üzüm suyu örneklerinde artan uygulama süresine bağlı olarak toplam renk farkında artış gözlenmiştir ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.30).

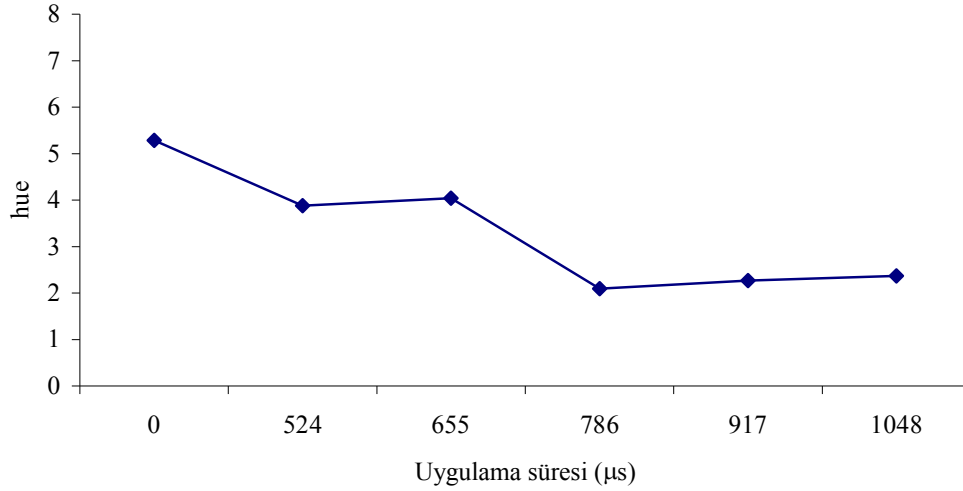
Kontrol örneğinde kroma değeri (C^*) 14.89 ± 0.02 olarak bulunmuş olup, 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde kroma değerleri (C^*) sırasıyla 17.42 ± 0.15 , 16.56 ± 0.15 , 17.96 ± 0.03 , 19.3 ± 0.03 ve 18.2 ± 0.1 olarak saptanmıştır. Buna göre artan uygulama süresine bağlı olarak üzüm suyu örneklerinin kroma değerinde önemli bir değişim olmadığı gözlenmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.31).



Şekil 4.30. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda toplam renk değışimi.



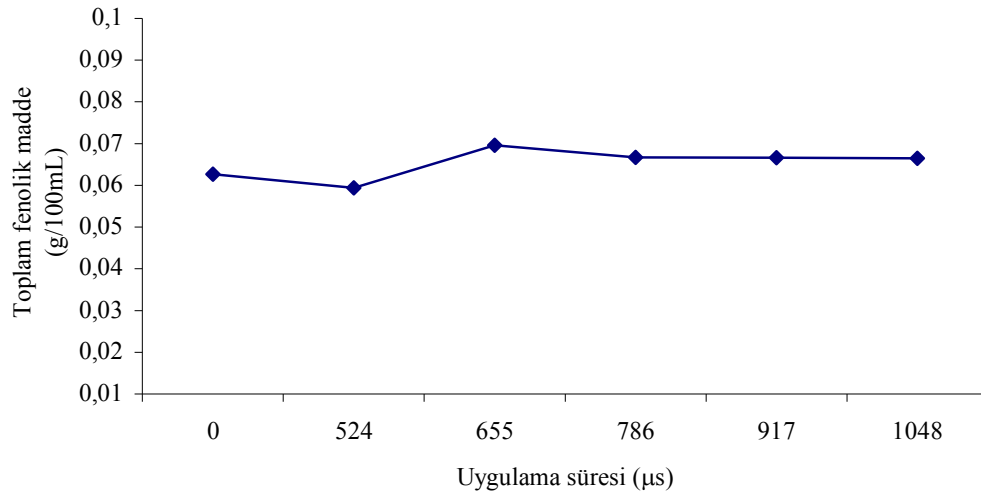
Şekil 4.31. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda kroma (C*) değeri.



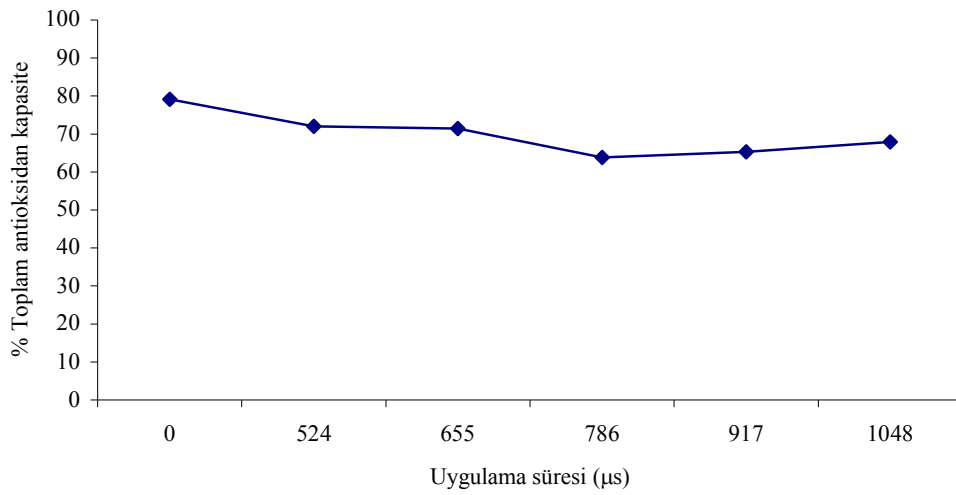
Şekil 4.32. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda hue (h°) değerleri.

Benzer şekilde PEF uygulaması öncesi ve sonrasında üzüm suyunun hue (h°) değerleri hesaplanmış ve kontrol örneğinde hue (h°) değeri 5.28 ± 0.16 olarak bulunmuştur. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde hue değerleri sırasıyla 3.87 ± 0.24 , 4.03 ± 0.11 , 2.09 ± 0.02 , 2.26 ± 0.03 ve 2.36 ± 0.02 olarak saptanmıştır. Buna göre üzüm suyu örneklerinin hue değerlerinde artan uygulama süresine bağlı olarak azalış gözlenmiştir ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.32).

Uygulanan PEF prosesinin üzüm suyunun 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 0.06264 ± 0.00 g/100 mL olarak tespit edilmiştir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 0.05936 ± 0.00 , 0.06957 ± 0.00 , 0.06668 ± 0.00 , 0.06659 ± 0.00 ve 0.06649 ± 0.00 g/100 mL olarak bulunmuştur ($p > 0.05$) (Şekil 4.33).



Şekil 4.33. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda toplam fenolik madde miktarı.

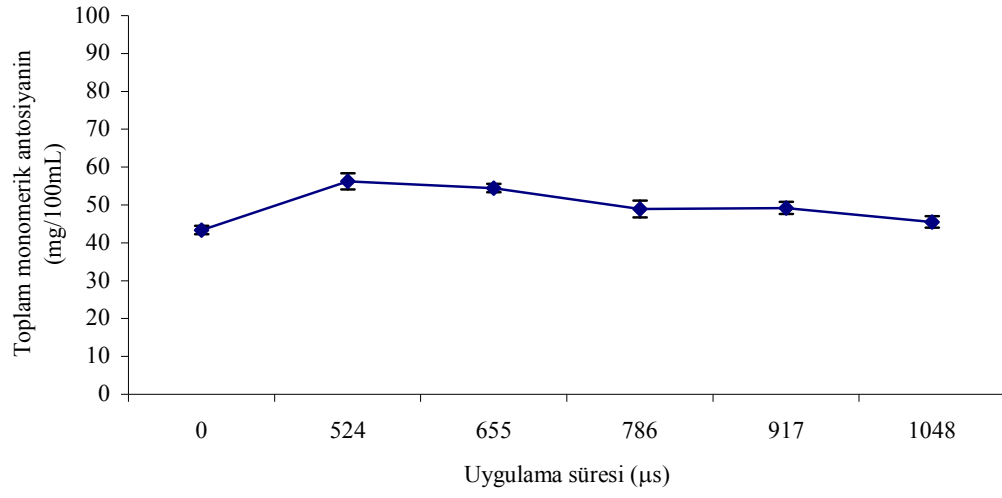


Şekil 4.34. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda (%) toplam antioksidan kapasitesi.

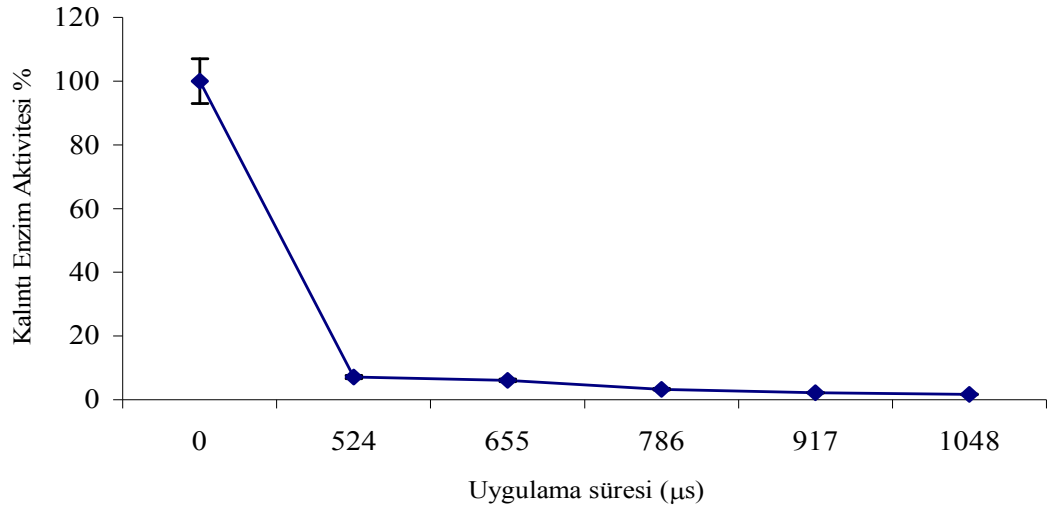
Artan uygulama süresinin üzüm suyunun toplam antioksidan kapasitesi (%) üzerindeki etkisinin değerlendirildiği analizlerde kontrol örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi 79.11 ± 0.51 olarak ölçülmüştür. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde sırasıyla toplam antioksidan kapasitesinin 71.99 ± 0.46 , 71.45 ± 0.66 , 63.85 ± 0.37 , 65.3 ± 0.27 ve 67.9 ± 1.05 olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre üzüm suyu örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinin artan uygulama süresine bağlı olarak azaldığı görülmüştür. Kontrol örnekleriyle karşılaştırıldığında artan uygulama süresine bağlı olarak antioksidan kapasitesinde meydana gelen azalmanın önemli olduğu görülmüştür ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.34).

PEF prosesinde kontrol üzüm suyu örneklerinin tespit edilen toplam monomerik antosiyanin miktarı 43.38 ± 1.10 mg/100 mL'dir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama sürelerinde sırasıyla toplam monomerik antosiyanin miktarının 56.24 ± 2.14 , 54.47 ± 1.13 , 48.94 ± 2.21 , 49.2 ± 1.57 ve 45.51 ± 1.49 olduğu görülmüştür. Buna göre artan uygulama süresine rağmen proses edilen üzüm suyu ile kontrol örneklerinin toplam monomerik antosiyanin miktarları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.35).

Atımlı elektrik alanı uygulamasının polifenol oksidaz enzimi üzerindeki etkisinin incelendiği bölümde ise kontrol örneğindeki enzim aktivitesi %100 olarak kabul edilmiştir. 524, 655, 786, 917 ve 1048 μ s uygulama süreleri sonucu elde edilen kalıntı enzim aktivitesi (%) sırasıyla 7.14, 6.04, 3.29, 2.19 ve 1.64 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre uygulama süresinin artması ile kalıntı enzim aktivitesinin (%) azaldığı görülmüştür. Uygulanan PEF işlemleri ile ortalama %93-98 oranında polifenol oksidaz inaktivasyonu sağlanmıştır ($p \leq 0.05$) (Şekil 4.36).

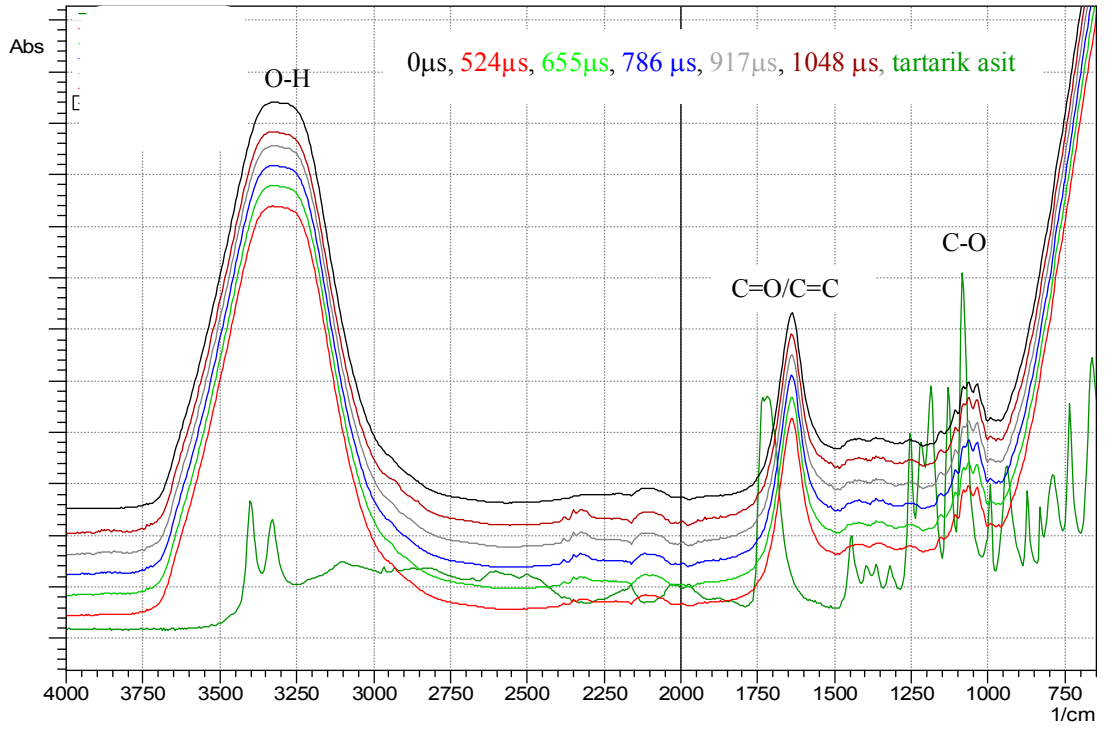


Şekil 4.35. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda toplam monomerik antosiyanin miktarı.



Şekil 4.36. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda polifenol oksidaz aktivitesi.

Şekil 4.37’de tartarik asit, üzüm suyu, 524, 655, 786, 917 ve 1048 μs uygulama sürelerinde PEF ile muamele edilmiş üzüm suyu örneklerine ait infrared spektrumlar görülmektedir. Tüm örneklerin absorpsiyon pik eğrileri incelendiğinde; 3250-3400 cm^{-1} , 1650-1700 cm^{-1} , 1050-1100 cm^{-1} dalgaboyu aralıklarında piklerin oluştuğu görülmektedir. Pik eğrilerinin oluştuğu dalga boyu aralıkları, element bağları-dalga boyu arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon tablosu ile karşılaştırıldığında var olan bağların sırasıyla O-H, C=O/C=C ve C-O olduğu görülmektedir. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında 3600-3200 cm^{-1} aralığı O-H hidrojen bağı olarak görülüp, genelde alkoller, fenoller ve karboksilik asit komponentlerinden oluşan gerilme kuvveti olarak karşımıza çıkmaktadır. Üzüm suyu için bu gerilme kuvvetine ait pik büyük oranda su moleküllerinden kaynaklanmaktadır. 1760-1670 cm^{-1} aralığı aldehit, keton, karboksilik asit ve esterlere ait C=O bağına ait olabilmektedir. Bunun yanı sıra 1600-1500 cm^{-1} aralığındaki pik C=C aromatik halkasal yapıya ait gerilme kuvvetini, 1260-1000 cm^{-1} aralığındaki pik ise alkol, eter, karboksilik asitler ve esterlere ait C-O gerilme kuvvetini temsil etmektedir. Sonuç olarak tartarik asit, domates suyu ve domates suyunun değişik uygulama sürelerinde PEF ile prosesi sonucu elde edilen veriler incelendiğinde genel olarak PEF ile proses edilmemiş kontrol örneği ile proses edilmiş örneklerin FT-IR spektrumlarında herhangi bir değişimin olmadığı gözlenmektedir ($p>0.05$). Dolayısıyla, PEF prosesinin örneklerin izomerizasyon kinetiklerinde herhangi bir değişime neden olmadığı görülmüştür.



Şekil 4.37. Uygulama süresinin fonksiyonu olarak atımlı elektrik alanı uygulamasıyla proses edilmiş üzüm suyunda FT-IR spektrumu.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada PEF prosesinin meyve sularındaki enzimlerin inaktivasyonu üzerinde etkinliğini değerlendirmek için portakal suyunda pektin metilesteraz, domates suyunda lipoksigenaz ve üzüm suyunda polifenol oksidaz enzimi ele alınmıştır. Ayrıca PEF prosesi öncesi ve sonrasında meyve sularının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla pH, °Briks, kondaktivite, titrasyon asitliği, renk, toplam fenolik madde miktarı, toplam antioksidan kapasitesi, toplam monomerik antosiyanin miktarı analizleri yapılmıştır.

Yapılan analizlerden elde edilen sonuçlara göre artan uygulama süresinin portakal suyunun toplam antioksidan kapasitesi dışında pH, °Briks, kondaktivite, titrasyon asitliği, toplam fenolik madde miktarı ve FT-IR analiz değerlerinde önemli bir değişime neden olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Toplam renk farkındaki (ΔE) artış dışında L^* , a^* ve b^* değerleri ile kroma (C^*) ve hue (h°) değerlerinde önemli bir değişim olmamıştır. Artan uygulama süresi portakal suyundaki PME aktivitesinde önemli miktarda azalmaya neden olmuştur. Uygulanan PEF işlemleri ile PME enziminde ortalama %90-95 oranında inaktivasyon sağlanmıştır ($p\leq 0.05$).

Domates suyunda yapılan analizlerin sonucu elde edilen verilere göre artan uygulama süresinin domates suyunun pH, °Briks, kondaktivite, titrasyon asitliği, toplam antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde miktarı ve FT-IR analiz değerlerinde önemli bir değişime neden olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Toplam renk farkındaki

artış dışında L^* , a^* ve b^* değerleri ile C^* ve h° değerlerinde önemli bir değişim olmamıştır. Artan uygulama süresi domates suyundaki lipoksigenaz aktivitesinde önemli miktarda azalmaya neden olmuştur. Lipoksigenaz enziminin en yüksek inaktivasyonu 1048 μ s uygulama süresi sonunda görülmüş olup bu parametredeki inaktivasyon oranı %90.91'dir ($p \leq 0.05$).

Üzüm suyunda yapılan analizlere göre artan uygulama süresinin toplam antioksidan kapasitesinde azalış dışında üzüm suyunun pH, $^\circ$ Briks, kondaktivite, titrasyon asitliği, toplam fenolik madde miktarı, toplam monomerik antosiyanin miktarı ve FT-IR analiz değerlerinde önemli bir değişime neden olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Artan uygulama süresi L^* , a^* ve b^* değerleri ile C^* değerinde değişikliğe neden olmazken ΔE 'de artış ve h° değerinde ise azalış tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$) Artan uygulama süresi üzüm suyundaki polifenol oksidaz aktivitesinde önemli miktarda azalmaya neden olmuştur. Uygulanan PEF işlemleri ile ortalama %93-98 oranında polifenol oksidaz inaktivasyonu sağlanmıştır ($p \leq 0.05$).

Bu çalışma sonucunda farklı uygulama süresi parametresine sahip PEF prosesiyle portakal suyunda pektin metilesteraz, domates suyunda lipoksigenaz ve üzüm suyunda polifenoloksidaz enzimlerinin inaktivasyonu sağlanırken, ürünlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinde önemli bir değişim meydana gelmediği saptanmıştır. Böylece ısı ile pastörizasyona alternatif olarak PEF uygulamasının portakal, domates ve üzüm suyunda stabilizasyonun ve enzim inaktivasyonunun sağlanabilmesinde etkili olduğu görülmüştür. Mikrobiyal inaktivasyon ve duyu özellikleri ile ilgili yapılacak çalışmalar PEF uygulamasının meyve sularının pastörizasyonunda potansiyel olarak kullanılabilmesine olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Aguilar-Rosas, S.F., Ballinas-Casarrubias, M.L., Nevarez Moonillon, 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. *Journal of Food Engineering*. 83(1): 41-46.

Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R. and Martín-Belloso, O. 2008a. Comparative study on color, viscosity and related enzymes of tomato juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *European Food Research and Technology*. 227(2): 599-606.

Aguiló-Aguayo, I., Sobrino-López, Á., Soliva-Fortuny, R. and Martín-Belloso, O. 2008b. Influence of high-intensity pulsed electric field processing on lipoxygenase and β -glucosidase activities in strawberry juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9(4): 455-462.

Aguiló-Aguayo, I., Odriozola-Serrano, I., Quintão-Teixera and Martín-Belloso, O. 2008c. Inactivation of tomato juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as affected by process conditions. *Food Chemistry*. 107: 949-955.

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 Science and Technology*. 42(4): 813-818.

Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R. and Martín-Belloso, O. 2009c. Avoiding non-enzymatic browning by high-intensity pulsed electric fields in strawberry, tomato and watermelon juices. *Journal of Food Engineering*. 92: 37-43.

Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R. and Martín-Belloso, O. 2010. Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 11: 299-305.

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

Akın, E. ve Evrendilek, G.A. 2009. Effect of pulsed electric fields on physical, chemical and microbiological properties of formulated carrot juice. *Food Science and Technology*. 15(3): 275-282.

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, s. 109.

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

Amiali, M., Ngadi, M.O. and Raghavan, V.G.S. 2002. Determination of electrical properties of liquid foods exposed to pulsed electric fields. *Nonthermal Processing: Nonthermal Processing of Foods*. Session 91E.

Amiot, M.J., Fleuriet, A., Cheynier, V. and Nicolas, J. 1997. Phenolic compounds and oxidative mechanisms in fruits and vegetables. In Tomás-Barberán, F.A. and Robins, R.J. (Eds.). *Phytochemistry of Fruit and Vegetables*. Oxford: Science Publications. pp. 51-85.

Anonim, 2010. 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.

Arab, L. and Steck, S. 2000. Lycopene and cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 71(6): 1691S–1695S.

Ayala-Zavala, J.F., Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G.A., Álvarez-Parrilla, E. and Martín-Belloso, O. 2008. Bio-preservation of fresh-cut tomatoes using natural antimicrobials. *European Food Research and Technology*. 226: 1047-1055.

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

Bendicho, S., Estela, C., Giner, J., Barbosa-Cánovas, G.V. and Martín-Belloso, O. 2002. Effects of high intensity pulsed electric fields and thermal treatments on a lipase from *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Dairy Science*. 85(1): 19-27.

Burdurlu, H.S., Koca, N. ve Karadeniz, F. 2006. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering*. 74: 211-216.

Castro, A.J., Swanson, B.G., Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, Q.H. 2001a. Pulsed electric field modification of milk alkaline phosphatase activity. In: Barbosa-Cánovas G.V. and Zhang, H. (Eds). *Electric Fields in Food Processing*. Lancaster, PA: Technomic. pp. 65-82.

Castro, A.J., Swanson, B.G., Barbosa-Cánovas, G.V. and Dunker, A.K. 2001b. Pulsed electric field denaturation of alkaline phosphatase. In: Barbosa-Cánovas G.V. and Zhang, H. (Eds). *Electric Fields in Food Processing*. Lancaster, PA: Technomic. pp. 83-104.

Cemeroğlu, B. 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. 1. Cilt. Kültür ve Turizm Bakanlığı Yayınları. s. 79-95.

Cemeroğlu, B. 2007. Gıda Analizleri. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*. No: 34, Ankara. s. 168-171.

Cortés, C., Esteve, M.J., Rodrigo, D., Torregrosa, F. and Frígola, A. 2006. Changes of colour and carotenoids contents during high intensity pulsed electric field treatment in orange juices. *Food and Chemical Toxicology*. 44(11): 1932-1939.

Cortés, C., Esteve, M.J. and Frígola, A. 2008. Color of orange juice treated by high intensity pulsed electric fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. *Food Control*. 19: 151-158.

Cserhalmi, Zs., Sass-Kiss, Á., Toóth-Markus, M., and Lechner, N. 2006. Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 7(1-2): 49-54.

Dani, C., Oliboni, L.S., Vanderlinde, R., Bonatto, D., Salvador, M. and Henriques, J.A.P. 2007. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally-produced grapes. *Food and Chemical Toxicology*. 45: 2574-2580.

Dhuique-Mayer, C., Caris-Veyrat, C., Tbatou, M, Amiot, M.J., Carail, M. and Dornier, M. 2007. Thermal degradation of antioxidant micronutrients in citrus juice: Kinetics and newly formed compounds. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 55: 4209-4216.

Dumas, Y., Dadomo, M., Di Lucca, G. and Grolier, P. 2003. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83(5): 369-382.

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.

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*. Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, PA. pp. 1-30.

Elez-Martínez, P., Soliva-Fortuny, R.C. and Martín-Belloso, O. 2006a. Comparative study on shelf life of orange juice processed by high intensity pulsed electric fields or heat treatment. *European Food Research and Technology*. 222: 321-329.

Elez-Martínez, P., Aguiló-Aguayo, I., and Martín Belloso, O. 2006b. Inactivation of orange juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as influenced by process parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 71-81.

Elez-Martínez, P. and Martín-Belloso, O. 2007. Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and *gazpacho*, a cold vegetable soup. *Food Chemistry*. 102: 201-209.

Elez-Martínez, P., Suárez-Recio, M., and Martín Belloso, O. 2007. Modeling the reduction of pectin methyl esterase activity in orange juice by high intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*. 78: 184-193.

Espachs-Barroso, A., Barbosa-Cánovas, G.V. and Martín-Belloso, O. 2003. Microbial and enzymatic changes in fruit juices induced by high-intensity pulsed electric fields. *Food Reviews Internarional*. 19(3): 253-273.

Espachs-Barroso, A., Van Loey, A., Hendrickx, M. and Martín-Belloso, O. 2006. Inactivation of plant pectin methylesterase by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 7: 40-48.

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

Evrendilek, G.A., Jin, Z.T., Ruhlman, K.T., 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. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 1: 77-86.

Evrendilek, G.A., Streaker, C.B., Dantzer, W.R. and Zhang, Q.H. 2001. Microbial inactivation and shelf life evaluation of cranberry juice processed by pilot plant PEF processing system. Abstracts of papers of IFT annual meeting, New Orleans, Louisiana, USA, June 23–27, 2001. Institute of Food Technologists, Chicago, Illinois.

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. *Journal of Food Process Engineering*. 27: 191-212.

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

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

Fraga, C.G., Motchnik, P.A., Shigenaga, M.K., Helbock, H.J., Jacob, R.A. and Ames, B. N. 1991. Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm. *Proceeding of the National Academy of the Sciences of the United States of America*. 88: 11003-11006.

Galliard, T., Matthew, J.A., Wright, A.J. and Fishwick, M.J. 1977. The enzymatic breakdown of lipids to volatile and non-volatile carbonyl fragments in disrupted tomato fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 28: 863-868.

Giner, J., Gimeno, V., Espachs, A., Elez, P., Barbosa-Cánovas, G.V. and Martín, O. 2000. Inhibition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) pectin methylesterase by pulsed electric fields. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 1: 57-67.

Giner, J., Gimeno, V., Barbosa-Cánovas, G. V. and Martín, O. 2001. Effects of pulsed electric field processing on apple and pear polyphenoloxidases. *Food Science and Technology International*. 7(4): 339-345.

Giner, J., Ortega, M., Mesegué, M., Gimeno, V., Barbosa-Cánovas, G.V., and Martín, O. 2002. Inactivation of peach polyphenoloxidase by exposure to pulsed electric fields. *Journal of Food Science*. 67(4): 1467-1472.

Giner, J., Grouberman, P. Gimeno and Martín, O. 2005. Reduction of pectinesterase activity in a commercial enzyme preparation by pulsed electric fields: comparison of inactivation kinetic models. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85: 1613-1621.

Gould, W.V. 1992. Tomato production, processing and technology. Baltimore: CTI Publications.

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

Góngora-Nieto, M.M., Sepúlveda, D.R., Pedrow, P., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 2002. Food processing by pulsed electric fields: treatment delivery, inactivation level and regulatory aspects. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 35(5): 375-388.

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. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 4(2): 167-175.

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

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

Hülshager, H., Potel, J. and Niemann, E.G. 1981. Killing of bacteria with electric pulses of high field strenght. *Radiation and Environmental Biophysics*. 20: 53-65.

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

King, D.L. and Klein, B.P. 1987. Effect of flavonoids and related compounds on soybean lipoxygenase-1 activity. *Journal of Food Science*. 57(1): 220-221.

Konar, N. 2007. Domates Karotenoidlerinden Likopenin Doğal Renklendirici ve Antioksidan Olarak Fonksiyonel Gıda Üretiminde Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi. İleri Teknolojiler, Gazi Üniversitesi, Ankara, s.1.

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

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. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 5(1): 9-16.

Lehr, H.A., Frei, B., Olofsson, A.M., Carew, T.E. and Arfors, K.E. 1995. Protection from oxidized LDLG-induced leukocyte adhesion to microvascular and macrovascular endothelium in vivo by vitamin C but not vitamin E. *Circulation*. 91(5): 1525-1532.

Leoni, O., Iori, R. and Palmieri, S. 1985. Purification and properties of lipoxygenase in germinating sunflower seeds. *Journal of Food Science*. 50: 88-92.

- Luo, W., Zhang, R.B., Wang, L.M., Chen, J. and Guan, Z.C. 2010. Conformation changes of polyphenol oxidase and lipoxygenase induced by PEF treatment. *Journal of Applied Electrochemistry*. 40(2): 295-301.
- 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. *Journal of AOAC International*. 88(5): 1269-1278.
- Marsellés-Fontanet, Á.R. and Martín-Belloso, O. 2007. Optimization and validation of PEF processing conditions to inactivate oxidative enzymes of grape juice. *Journal of Food Engineering*. 83(3): 452-462.
- Martín-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. *Journal of Food Processing and Preservation*. 21(3): 193-208.
- Martín-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. *Journal of Food Process Engineering*. 20(4): 317-336.
- Martín-Belloso, O., Bendicho, S., Elez-Martínez, P. and Barbosa-Cánovas, G.V. 2004. Do high intensity pulsed electric fields induce changes in enzymatic activity, protein conformation and vitamin and flavor stability? In Barbosa-Cánovas, G.V., Tapia, M.S. and Cano, M.P. (Eds.). *Novel Food Processing Technologies*. New York: Marcel Dekker Inc. pp. 87-104.
- Mertens, B. and Knorr, D. 1992. Developments of nonthermal processes for food preservation. *Food Technology*. 46(5): 124-133.
- Min, S. and Zhang, Q.H. 2003. Effects of commercial-scale pulsed electric field processing on flavor and color of tomato juice. *Journal of Food Science*. 68(5): 1600-1606.
- Min, S., Jin, Z.T., Min, S.K., Yeom, H. and Zhang, Q.H. 2003a. Commercial-scale pulsed electric field processing of orange juice. *Journal of Food Science*. 68(4): 1265-1271.

Min, S., Min, S.K. and Zhang, Q.H. 2003b. Inactivation kinetics of tomato juice lipoxygenase by pulsed electric fields. *Journal of Food Science*. 68(6): 1995-2001.

Min, S., Jin, Z.T., and Zhang, Q.H. 2003c. Commercial scale pulsed electric field processing of tomato juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(11): 3338-3344.

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

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

Neumann, E. and Rosenheck, K. 1972. Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes. *Journal of Membrane Biology*. 10: 279-290.

Ngadi, M. O., Bazhal, M.I. and Raghavan, G.S.V. 2003. Engineering aspects of pulsed electroplasmolysis of vegetable tissues. *Agricultural Engineering International*. 5: 1-10.

O'Donnell, C.P., Tiwari, B.K., Bourke, P. and Cullen, P.J. 2010. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in Food Science and Technology*. 21(7): 358-367.

Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R. and Martín-Belloso, O. 2008a. Changes of health-related compounds throughout cold storage of tomato juice stabilized by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9: 272-279.

Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Hernández-Jover, T. and Martín-Belloso, O. 2009. Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. *Food Chemistry*. 112: 258-266.

Ortega-Rivas, E., Zárate-Rodríguez, E., and Barbosa-Cánovas, G. V. 1998. Apple juice pasteurization using ultrafiltration and pulsed electric fields. *Institution of Chemical Engineers*. 76: 193-198.

Palomeque, L.A., Góngora-Nieto, M.M., Bermudez, A.S., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 2001. Nonthermal inactivation of endoproteases by pulsed electric field technology. In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, H. (Eds). *Electric Fields in Food Processing*. Lancaster, PA: Technomic. pp. 135-148.

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

Price, N.C. and Stevens, L. 1991. Enzymes: structure and function. In Fox, P.F. (eds). *Food Enzymology*. Elsevier Applied Science. New York. Volume I and II, pp. 1-25.

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 Transactions on Dielectric Electric Insulation*. 1(6): 1047-1057.

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. *Food Technology*. 49: 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. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 28(6): 564-568.

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

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

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

Rao, A.V. and Agarwal, S. 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the preservation of chronic diseases: A review. *Nutritional Research*. 19(2): 305-323.

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

Riener, J., Noci, F., Cronin, D.A., Morgan, D.J. and Lyng, J.G. 2008. Combined effect of temperature and pulsed electric fields on apple juice peroxidase and polyphenoloxidase inactivation. *Food Chemistry*. 109:402-407.

Rivas, A., Rodrigo, D., Martinez A., Barbosa-Cánovas, G.V. and Rodrigo, M. 2006. Effect of PEF and heat pasteurization on the physical-chemical characteristics of blended orange and carrot juice. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 39(10): 1163-1170.

Rodrigo, D., Jolie, R., Van Loey, A. and Hendrickx, M. 2007. Thermal and high pressure stability of tomato lipoxygenase and hydroperoxide lyase. *Journal of Food Engineering*. 79: 423-429.

Rombouts, F.M., Versteeg, C., Karman, A.H. and Pilnik, W. 1982. Pectinesterase in components parts of citrus fruits related to problems of cloud loss and gelation in citrus products. In Dupuy, P. (Ed.). *Use of Enzymes in Food Technology*. Paris, France: Technique et documentation Lavoisier. pp. 483-487.

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

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

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

Şener, A. ve Denkbaş, E.B. 2006. Fonksiyonel Gıdalar ile Gelen Sağlık Probiyotikler ve Prebiyotikler. *Standart Ekonomik ve Teknik Dergi*. 45(536): 72-77.

Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Patras, A., Brunton, N. and Cullen P.J. 2009. Anthocyanins and color degradation in ozonated grape juice. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 2824-2829.

Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Cullen P.J. and O'Donnell, C.P. 2010. Effect of ultrasonic processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 17: 598-604.

Torregrosa, F., Esteve, M.J., Frígola, A. and Cortés, C. 2006. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange-carrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. *Journal of Food Engineering*. 73: 339-345.

Van Loey, A., Verachtert, B., and Hendrickx, M. 2002. Effects of high electric field pulses on enzymes. *Trends in Food Science and Technology*. 12: 94-102.

Vega-Mercado, H., Powers, J.R., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1995. Plasmin inactivation with pulsed electric fields. *Journal of Food Science*. 60: 1132-1136.

Vega-Mercado, H., Martín-Belloso, O., Qin, B.L., Chang, F.J., Góngora-Nieto, M.M., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 1997. Non-thermal food preservation: Pulsed electric fields. *Trends in Food Science and Technology*. 8: 151-157.

Vega-Mercado, H., Powers, J.R., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 2001a. Effect of added calcium and EDTA on the inactivation of a protease from *Pseudomonas fluorescens* M3/6 when exposed to pulsed electric fields. In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, H. (Eds). *Electric Fields in Food Processing*. Lancaster, PA: Technomic, pp.121-134.

Vega-Mercado, H., Powers, J.R., Martín-Belloso, O., Luedecke, L., Barbosa-Cánovas, G.V. and Swanson, B.G. 2001b. Change in susceptibility of proteins to proteolysis and the inactivation of an extracellular protease from *Pseudomonas fluorescens* M3/6 when exposed to pulsed electric fields. In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, H. (Eds). *Electric Fields in Food Processing*. Lancaster, PA: Technomic. pp. 105-120.

Vilariño, C., del Giorgio, J.F., Hours, R.A. and Cascone, O. 1993. Spectrophotometric method for fungal pectinesterase activity determination. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 26: 107-110.

Yemenicioğlu, A. ve Cemeroğlu, B. 2003. Consistency of polyphenol oxidase (PPO) thermostability in ripening apricots (*Prunus armeniaca* L.): evidence for the presence of thermostable PPO forming and destabilizing mechanisms in apricots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(8): 2371-2379.

Yeom, H.W., Zhang, Q.H. and Dunne, C.P. 1999. Inactivation of enzyme papain by pulsed electric field in a continuous system. *Food Chemistry*. 67: 53-59.

Yeom, H.W., Streaker, C.B., Zhang, Q.H. and Min, D.B. 2000a. Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(10): 4597-4605.

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

Yeom, H.W., Zhang, Q.H. and Chism, C. 2002. Inactivation of pectin methyl esterase in orange juice by pulsed electric fields. *Food Engineering and Physical Properties*. 67(6): 2154-2159.

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. *Journal of Food Processing and Preservation*. 28(3): 161-178.

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.

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. *Transactions of 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. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 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. *Journal of Food Processing and Preservation*. 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. *Journal of Food Processing and Preservation*. 19: 103-118.

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

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

Zulueta, A., Esteve, M.J. and Frígola, A. 2010. Ascorbic acid in orange juice-milk beverage treated by high intensity pulsed electric fields and its stability during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 11: 84-90.