

***ALICYCLOBACILLUS ACIDOTERRESTRIS* SPORLARININ
DEĞİŞİK ORTAM KOŞULLARINDA ISIL DAYANIKLILIĞININ
BELİRLENMESİ**

**Pamukkale Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

Gülin CEVİZ

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yahya TÜLEK

**Temmuz, 2006
DENİZLİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

Gülin CEVİZ tarafından Yrd. Doç. Dr. Yahya TÜLEK yönetiminde hazırlanan “*Alicyclobacillus acidoterrestris* Sporlarının Değişik Ortam Koşullarında Isıl Dayanıklılığının Belirlenmesi” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



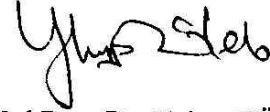
Prof Dr. Muharrem CERTEL

Jüri Başkanı



Doç. Dr. A. Hilmi ÇON

Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. Yahya TÜLEK

Jüri Üyesi

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

.../...../..... vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet Ali SARIGÖL

Müdür

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza: 

Öğrenci Adı ve Soyadı: Gülin CEVİZ

TEŞEKKÜR

Tüm Yüksek Lisans çalışmam boyunca maddi, manevi her türlü konuda beni destekleyen, her zaman yanımda olan aileme,

Tezi hazırlamamda büyük emeği geçen, laboratuvar aşamasında benimle birlikte büyük çaba sarfeden ve tüm yardımları için saygıdeğer tez danışmanı hocam Yrd. Doç. Dr. Yahya TÜLEK'e,

Tezin hazırlanmasında laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayarak, desteklerini esirgemeyen Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Aydın YAPAR'a, tezin hazırlık ve laboratuvar aşamasındaki yardımlarından dolayı sayın hocam Doç. Dr. A. Hilmi Çon'a, istatistikî analiz ve değerlendirilmenin yapılmasındaki katkılarından dolayı da sayın hocam Yrd. Doç. Dr. İlyas ÇELİK'e;

Denizli Tarım İl Müdürlüğü Kontrol Şube Müdürü Mustafa ACAR başta olmak üzere, anlayış, destek ve yardımlarından dolayı tüm mesai arkadaşlarıma,

Araştırmayı maddi yönden destekleyen Pamukkale Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Fonuna;

Teşekkür ederim.

ÖZET**ALICYCLOBACILLUS ACIDOTERRESTRIS SPORLARININ DEĞİŞİK ORTAM KOŞULLARINDA ISIL DAYANIKLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

Ceviz, Gülin
Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği ABD
Tez Yöneticisi: Yrd. Doç. Dr. Yahya TÜLEK

Temmuz 2006, 64 Sayfa

Alicyclobacillus acidoterrestris (DSM2498) sporlarının elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth gibi üç farklı ortamda briks (10 ve 20), pH (3,5 ve 4) ve sıcaklık (85, 90, 95 ve 100°C) değişkenlerine bağlı olarak ısıl dayanıklılığı araştırılmıştır. Her üç ortamda da briks ve pH'nın desimal azalma süresi (D değeri) ve inaktivasyon oranı [$\log(N/N_0)$] üzerine etkisi belirlenememiştir. Briksin artmasına bağlı olarak $\log(N/N_0)$ değerlerinde artış olmuş ancak bu durum istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Briks ve pH'nın Z değeri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Portakal suyunda briksin artışıyla Z değeri artarken, elma suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında azalmıştır. Portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında pH'nın artışına bağlı olarak D değeri artmış, elma suyunda ise azalma meydana gelmiştir. Diğer taraftan, pH'nın artışıyla $\log(N/N_0)$ değerlerinde artış olmuş, ancak bu durum istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Z değerleri ise pH artışıyla elma suyunda artarken, portakal suyu ve malt ekstrakt brothda azalmıştır. pH'ya bağlı olarak Z değerlerindeki değişim önemli bulunmuştur ($P<0.01$). *A. acidoterrestris* sporlarının ısıl dayanıklılığı üzerine etki eden en önemli faktör sıcaklık olarak belirlenmiştir. Sıcaklığın artışına bağlı olarak D değerlerindeki düşüşler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$).

Anahtar Kelimeler: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, meyve suyu, ısıl dayanıklılık, D değeri, Z değeri

Prof. Dr.: Muharrem CERTEL
Doç.Dr.: Ahmet Hilmi ÇON
Yrd. Doç. Dr.: Yahya TÜLEK

ABSTRACT**DETERMINATION OF THERMAL RESISTANCE OF ALICYCLOBACILLUS
ACIDOTERRESTRIS SPORES IN DIFFERENT MEDIUM CONDITIONS**

Ceviz, Gülin

M. Sc. Thesis in Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Yahya TÜLEK

July 2006, 64 Pages

The thermal resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSM2498) spores in apple juice, orange juice and a model system (malt extract broth) were investigated in various brix (10 and 20), pH values (3.5 and 4) and temperatures (85, 90, 95 and 100°C). Brix and pH was not affected on decimal reduction time (D value) and inactivation rate [$\log(N/N_0)$] in all three mediums. $\log(N/N_0)$ was increased, depending on increase of the brix contents used, but the relationship was not significant statistically. The influence of brix and pH on the Z value was important ($P<0.01$). Z value was increased with increasing brix in orange juice, but it was decreased in apple juice and malt extract broth. D value was increased with increasing pH in orange juice and malt extract broth, while it was decreasing in apple juice. On the other hand, $\log(N/N_0)$ value was decreased with increasing pH, but this relation was not important statistically. While Z value was increasing with raising pH in apple juice, decreased in orange juice and malt extract broth. Alteration of Z value in various pH values was determined significant statistically ($P<0.01$). Temperature was determined as the most effective factor on the thermal resistance of *A. acidoterrestris* spores. Decreases of D values, depending on the temperature used, was also significant ($P<0.01$).

Key Words: *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores, fruit juice, thermal resistance, D value, Z value

Prof. Dr.: Muharrem CERTEL

Assoc. Prof. Dr.: Ahmet Hilmi ÇON

Assist. Prof. Dr.: Yahya TÜLEK

İÇİNDEKİLER

Yüksek Lisans Tezi Onay Formu.....	i
Bilimsel Etik Sayfası.....	ii
Teşekkür.....	iii
Özet.....	iv
Abstract.....	V
İçindekiler.....	vi
Şekiller Dizini.....	vii
Tablolar Dizini.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Mikroorganizmaların Isı Etkisiyle İnaktive Edilmesi.....	1
1.2. Meyve Sularında Bulunan Mikrobiyal Flora.....	3
1.3. Meyva Sularında Alicyclobacillus.....	5
1.4. Alicyclobacillusların Isıl Dayanıklılığı.....	9
1.5. Alicyclobacillusların Bozulmaya Neden Olan Bileşenleri.....	13
1.5.1. Guaiacol.....	13
1.5.2. Halophoneller (2,6 dibromofenol ve 2,6 diclorofenol).....	15
2. MATERYAL VE METOT.....	16
2.1. Materyal.....	16
2.2. Metot.....	17
2.2.1. Deneme planı.....	17
2.2.2. Spor süspansiyonunun hazırlanışı.....	17
2.2.3. Isıl işlem ortamı.....	18
2.2.4. Isıl işlem çalışması.....	19
2.2.5. Mikroorganizmaların sayımı.....	19
2.2.6. D ve Z değerlerinin hesaplanması.....	19
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	23
3.1. Elma Suyu Ortamında <i>A. acidoterrestri</i> 's'in Isıl Dayanıklılığının Belirlenmesine Ait Bulgular.....	23
3.2. Portakal Suyu Ortamında <i>A. acidoterrestri</i> 's'in Isıl Dayanıklılığının Belirlenmesine Ait Bulgular.....	31
3.3. Malt Ekstrakt Broth Ortamında <i>A. acidoterrestri</i> 's'in Isıl Dayanıklılığının Belirlenmesine Ait Bulgular.....	39
4. GENEL DEĞERLENDİRME VE SONUÇ.....	47
4.1. Değerlendirme.....	47
4.2. Sonuç.....	53
KAYNAKLAR.....	54
EKLER.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> 'in değişik şekillerde çekilmiş fotoğrafları.	7
Şekil 1.2 Guaiacol.....	13
Şekil 1.3 2,6 dibromofenol.....	15
Şekil 2.1 Mikroorganizmaların birinci dereceden inaktivasyonu.....	20
Şekil 2.2 Termal Direnç Eğrisi.....	22
Şekil 3.1 Elma suyu ortamında briks X sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak D değerlerindeki değişim.	27
Şekil 3.2 Elma suyu ortamında pH X sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak D değerlerindeki değişim.	27
Şekil 3.3 Sıcaklığa bağlı olarak D değerlerinin değişimi.....	30
Şekil 3.4 Portakal suyu ortamında sıcaklığa bağlı olarak D değerlerinin değişimi...	35
Şekil 3.5 Portakal suyu ortamında pH X sıcaklık değişkenlerine bağlı D değerleri ...	36
Şekil 3.6 Portakal suyunda briks X sıcaklık değişkenlerine bağlı D değerleri.....	37
Şekil 3.7 Süre ve sıcaklığa bağlı olarak elde edilen $\log(N/N_0)$ değerleri.....	39
Şekil 3.8 Malt ekstrakt broth ortamında briks X sıcaklık değişkenlerine bağlı D değerleri.....	42
Şekil 3.9 Malt ekstrakt broth ortamında pH X sıcaklık değişkenlerine bağlı D değerleri.....	43
Şekil 3.10 Sıcaklığa bağlı D değerleri	46
Şekil 4.1 Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında briks değişkenine bağlı D değerleri.....	48
Şekil 4.2 Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında pH değişkenine bağlı olarak elde edilen D değerleri.....	51
Şekil 4.3 Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında D değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi.....	52

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1 Meyve sularında bulunabilen bazı mikroorganizmaların ısı dirençleri...	4
Tablo 1.2 Genel olarak meyve sularına uygulanan pastörizasyon normları.....	5
Tablo 2.1 Sıcaklıklara bağlı uygulanan ısı işlem süreleri.....	17
Tablo 3.1 Elma suyu ortamında briks, pH ve sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak elde edilen $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri.....	23
Tablo 3.2 Elma suyunda briks değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	25
Tablo 3.3 Elma Suyunda pH değişkenine ait ortalama $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	26
Tablo 3.4 <i>A. acidoterrestri</i> s AB-1 sporlarının McIlvaine tamponunda değişik pH ve sıcaklıklarda D değerleri.....	28
Tablo 3.5 Elma suyunda sıcaklık değişkenine ait $\log(N/N_0)$ ve D değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	29
Tablo 3.6 Elma suyunda sıcaklık X süre değişkenlerine asit $\log(N/N_0)$ değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	30
Tablo 3.7 Portakal suyu ortamında briks, pH ve sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak hesaplanan $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri.....	31
Tablo 3.8 Portakal suyunda briks değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	33
Tablo 3.9 Portakal suyu ortamında pH değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	34
Tablo 3.10 Portakal suyunda sıcaklık değişkenine ait $\log(N/N_0)$ ve D değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	35
Tablo 3.11 Portakal suyunda sıcaklık X süre değişkenine ait $\log(N/N_0)$ değerleri Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	38
Tablo 3.12 Malt ekstrakt broth uygulamasında briks, pH, sıcaklık ve süreye bağlı, genel olarak elde edilen ortalama $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri.....	39
Tablo 3.13 Malt ekstrakt broth ortamında sıcaklık X süre değişkenine göre $\log(N/N_0)$ değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	41
Tablo 3.14 Malt ekstrakt broth ortamında briks değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	43
Tablo 3.15 Briks değişkenine bağlı D değerleri.....	44
Tablo 3.16 Malt ekstrakt broth ortamında pH değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	45
Tablo 3.17 Malt ekstrakt broth ortamında sıcaklık değişkenine ait $\log(N/N_0)$ ve D değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	46
Tablo 4.1 Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında elde edilen verilere göre hesaplanan D ve Z değerleri.....	47
Tablo 4.2 Alicyclobacillusların ısı dayanıklılıklarıyla ilgili olarak yapılan bazı araştırma sonuçları.....	49

1. GİRİŞ

Meyvelerden hammaddenin özelliğine bağlı olarak berrak meyve suyu veya meyve eti içeren bulanık meyve suyu üretilebilir. Meyve suları %85-90 oranında su içerir ve meyveler gibi vitamin, mineral madde, şeker ve meyve asitlerince zengin gıdalardır. Bu nedenle de meyve suları mikroorganizmaların gelişmesi için son derece uygun bir ortam oluştururlar (Ünlütürk ve Turantaş 2003).

Gıdaların bozulmasına neden olabilecek mikroorganizmaları ısı etkisiyle inaktive etmek suretiyle, gıdalara sürekli bir dayanıklılık kazandırma işlemine “ısı uygulayarak muhafaza” yöntemi denir. Bu amaçla uygulanan ısıtmaya ise “ısıl işlem” denir (Cemeroğlu 2005).

Yapılan bu çalışmayla asidik karakterli meyve suyu ürünlerinde bozulma nedeni olan ve ısıl dayanıklılığı yüksek *Alicyclobacillus acidoterrestris* sporlarının ısıl direncinin farklı ortamlarda, farklı pH ve brikslerde ve değişik sıcaklıklarda belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylelikle, meyve suyu üretiminde uygulanabilecek pastörizasyon normlarının belirlenmesi için temel bazı verilerin elde edilmesi hedeflenmiştir.

1.1. Mikroorganizmaların Isı Etkisiyle İnaktive Edilmesi

Isıl işlemin mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkisi değişik şekillerde açıklanmaktadır. Ancak en fazla kabul gören açıklamaya göre, mikroorganizmaların yapılarında bulunan proteinler ve yaşamsal önemi bulunan enzimler ısı etkisiyle denatüre olmakta ve bunun doğal sonucu olarak da ölüm gerçekleşmektedir. Mikroorganizmaların ısıl dirençleri üzerine etki eden faktörlerin başlıcaları şöyle sıralanabilir (Ünlütürk ve Turantaş 2003).

1. Sıcaklık süre ilişkisi: Belirli koşullar altında mikroorganizmaların vejetatif hücre veya sporlarını öldürmek için gerekli olan ısı işlem süresi sıcaklık yükseldikçe kısalır. Diğer bir ifadeyle ısı işlemlerde sıcaklıkla süre arasında ters bir ilişki mevcuttur.

2. Mikroorganizmaların cins, tür ve sayısı: Mikroorganizmaların ısı direnci cins veya türe göre farklılık gösterir. Bunun dışında ısı direnç mikroorganizmanın hangi formda olduğuna bağlıdır. Bakteri, küf ve mayaların spor formlarının ısı direnci vejetatif formlarına kıyasla daha yüksektir.

3. Ortamın pH'sı: Mikroorganizmaların ısı dirençleri, içinde buldukları ortamın pH değeriyle yakından ilişkili olduğu için, gıdaların ısı işlemlerle muhafazasında gıdanın pH değeri önemli bir kriter olarak ortaya çıkmaktadır. Genel olarak mikroorganizmaların ısı direnci, optimum gelişme pH'ları civarında en yüksek düzeydedir ve pH değeri optimumdan uzaklaştıkça ısı direnci azalır. Nitekim, birkaç tür dışında bakteriler ısıya karşı en yüksek direnci pH 7 dolaylarında yani nötral ortamda göstermektedirler. Ortamın pH değeri düştükçe, mikroorganizmaların ısı direnci azalmaktadır. Bu yüzden gıdalar, pH değerine bağlı olarak farklı sıcaklık ve sürelerde uygulanan ısı işlemlerle dayanıklı hale getirilmektedir.

4. Ortamın Bileşimi: Mikroorganizmaların ısı direncini etkileyen diğer önemli bir faktör de mikroorganizmaların içinde buldukları ortamın bileşimidir. Mikroorganizmaların ısı direncini etkileyen önemli faktörlerden birisi ortamın nem oranı veya su içeriğidir. Ortamdaki nem oranı veya su miktarı yükseldikçe mikroorganizmaların ısı direnci azalır. Bunun nedeni ise yüksek nem veya su içeren ortamda protein denetürasyonunun daha düşük sıcaklıkta gerçekleşmesidir. Diğer taraftan ortamın tuz (NaCl) derişimi, belli bir noktaya kadar mikroorganizmaların ısı direncini artırmaktadır. %2'den %4'e kadar tuz oranlarının mikroorganizmaların ısı direncini arttırdığı, ancak daha yüksek tuz oranlarının ise ısı direnci azalttığı bildirilmiştir. Şekerler de derişime bağlı olarak mikroorganizmaların ısı direncini etkilemektedir. Düşük oranlardaki şeker, mikroorganizmaları ısıya karşı korumadığı halde, %50 gibi yüksek derişimlerdeki şeker ısı direnci arttırmaktadır. Aynı şekilde protein yapısındaki maddeler ve yağlar da mikroorganizmaları ısıya karşı korumaktadır. Yağların bu etkileri, ısıyı güç iletmeleri ile açıklanmaktadır. Aynı zamanda yağlar mikroorganizma hücresinin çevresini sararak su ile ilişkisini keserler ve böylece suyun proteinlerin koagülasyonu üzerindeki etkisini azaltırlar.

Isıl işlemin hedefleri;

- Gıdalardaki tüm patojen mikroorganizmaları öldürmek,
- Patojen olmasa dahi, normal depolama koşullarında o gıdada bozulmaya neden olabilecek tüm mikroorganizmaları öldürmek,
- Enzimleri inaktive etmek,
- Bütün bu hedeflere ulaşılırken, gıdanın kalitesinde ve beslenme değerinde en az olumsuzluğa neden olmak (Cemeroğlu 2005).

Bu amaçlara ulaşmak için ısıl işlemde öyle bir sıcaklık ve süre seçilmelidir ki, o gıdada bulunabilecek ısıya en dirençli patojen ve bozulma etmeni olabilecek mikroorganizma öldürülmüş olsun. Başka bir ifadeyle; ısıl işlemde öldürülmesi hedeflenen mikroorganizma, ısıya en dirençli patojen veya bozulma etmeni mikroorganizmadır. Bu hedefe ulaşıncaya, ısıya daha az dirençli olan patojen veya bozulma etmeni olan diğer mikroorganizmaların zaten öldürülmüş olacağı gerçeği, bu uygulamanın mantığını oluşturmaktadır (Cemeroğlu 2005).

1.2. Meyve Sularında Bulunan Mikrobiyal Flora

Meyve sularının uzun süre bozulmaksızın saklanabilmesi için bunlara mutlaka bir ısıl işlem uygulanması gerekmektedir. Meyve sularına ısıl işlem uygulanması hem bozulmayı önlemek hem de hastalık riskini ortadan kaldırmak için zorunludur (Cemeroğlu ve Karadeniz 2001). Burada en önemli noktalardan biri, bir taraftan bozulma etmeni mikroorganizmaların öldürülmesini gerçekleştiren diğer taraftan gıdaların fiziksel yapılarında ve besin değerlerinde en az kayba neden olabilen en uygun ısıl işlem koşullarının sağlanmasıdır (Acar ve Cemeroğlu 1998).

Taze sıkılmış ve herhangi bir muhafaza yöntemi uygulanmamış meyve sularında genellikle *Saccharomyces*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Byssoschlamys*, *Lactobacillus*, *Acetobacter*, *Bacillus* türleri ile bazı koliform ve fekal orjinli bakteriler bulunabilir (Ünlütürk ve Turantaş 2003). Taze meyve sularını öncelikle bozan mikroorganizmalar mayalar ve laktik asit bakterileridir. Hiçbir ısıl işlem görmemiş taze meyve suyunun dayanma süresi sınırlıdır. Eğer uygun koşullarda üretilir, hijyene titizlikle uyulur ve

donma noktası üstünde soğukta saklanırsa raf ömrü en çok 1-2 hafta olabilir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2001).

Meyve sularının pH değerleri düşük ve genellikle 3-4 civarındadır (Ünlütürk ve Turantaş 2003). pH derecesi 4,5'un üzerinde olan yani düşük asitli gıdalarda belli normlarda ısı işlem uygulandığı halde, meyve suları gibi yüksek asitli gıdalarda ısı işlem normları pek fazla önemli görülmemektedir. Çünkü bunlarda bulunan mikroorganizmalar pastörizasyon olarak tanımlanan basit bir ısı uygulamasıyla kolaylıkla öldürülebilmektedir. (Ünlütürk ve Turantaş 2003, Cemeroğlu ve Karadeniz 2001). pH'sı 3,7-4'den küçük meyve sebze ve bunların ürünlerini içeren yüksek asitli gıdalarda genellikle sporsuz mezofiller, küfler, mayalar ve/veya laktik asit bakterileri bozulma nedenidir (Jay 1992). Bu gibi asidik gıdalarda uygulanan pastörizasyon işlemi ile laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri, enterobakterler, mayalar ve ısıya dirençli olmayan küfler gibi bozulmaya neden olan sporsuz mikroorganizmalar inaktif hale getirilebilmektedir (Karagözü 2004).

Tablo 1.1'de meyve sularında bulunan bazı mikroorganizmaların ısı dirençleri verilmiştir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2001). Tablo 1.2'de ise bazı meyve sularına uygulanan pastörizasyon normları yer almaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2001, Ünlütürk ve Turantaş 2003).

Tablo 1.1 Meyve sularında bulunabilen bazı mikroorganizmaların ısı dirençleri (Cemeroğlu ve Karadeniz 2001).

Mikroorganizma	Meyve suyu	D ve Z değeri
<i>A. niger</i> Konidiosporları	Elma suyu	D ₆₀ =37 saniye Z = 6 °C
<i>Z. baillii</i> askosporları	Elma suyu Portakal Suyu Üzüm suyu Elma suyu	D ₅₀ = 15,6 dakika D ₅₀ = 10,4 dakika D ₅₀ = 33,3 dakika D ₇₅ = 0,02 saniye
<i>L. fermentum</i>	Portakal suyu Portakal Suyu	D ₆₀ = 1000 saniye Z = 5 °C D ₇₅ = 0,53 saniye
<i>S. cerevisiae</i>	Portakal Suyu	D ₇₅ = 0,004 saniye

Tablo 1.2 Genel olarak meyve sularına uygulanan pastörizasyon normları (Cemeroğlu ve Karadeniz 2001, Ünlütürk ve Turantaş 2003).

Meyve suyu	Sıcaklık (°C)	Kalış süresi (s)
Genel meyve suyu	82-85	15
	92-95	10-12
	110-115	<10
	82-90	15-150
	87-92	10-15
	105	30
Elma suyu	85	10
Portakal suyu	95	30

Meyve sularında bulunabilen bakterilerin büyük bir kısmı *Bacillus* ve *Clostridium* türlerinin sporları hariç ısı işlemler sırasında ölür. Ancak meyve sularının pH değerleri düşük olduğundan bu bakterilerin sporları çimlenerek gelişemezler. Meyve sularında sporlu bakterilere bozulma etmeni olarak sık rastlanmamakla birlikte *Bacillus coagulans* ve *Clostridium pasterianum* gibi bazı sporlu bakteriler pH 3,8'de gelişebilmekte ve meyve sularında bozulmalara neden olabilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş 2003). Son yıllara kadar meyve sularındaki düz ekşime tipindeki bozulmalardan büyük oranda *Bacillus coagulans* sorumlu tutulmuş ve bu nedenle *Bacillus coagulans* meyve sularında kalitenin belirlenmesinde hedef mikroorganizma olarak dikkate alınmıştır (Murakami vd 1998, Ünlütürk ve Turantaş 2003).

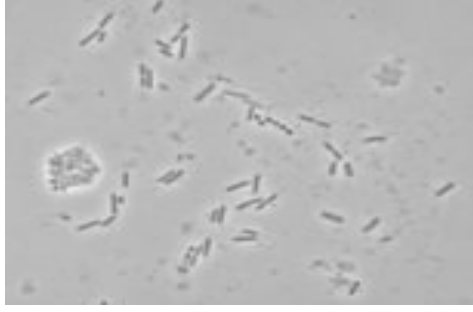
1.3. Meyve Sularında Alicyclobacillus

Darland ve Brock (1971) yaptıkları çalışmada çeşitli gram özelliklerde, sporlu, çubuk şeklinde, aside ve sıcaklığa dayanıklı *Bacillus coagulans*'a benzeyen bir mikroorganizma keşfetmişler ve bunu *Bacillus acidocaldarius* olarak tanımlamışlardır. Daha sonra Cenry vd' de (1984) yaptığı araştırmada bozulmuş elma sularından yeni bir *Bacillus* suşu izole etmiştir. *B. acidocaldarius* gibi ω -cyclohexane yağ asitleri ve haponoidler içeren mikroorganizma 1987 yılında *B. acidoterrestris* olarak adlandırılmıştır (Deinhard vd 1987). Goto vd' de (2002b) bildirildiğine göre, bu mikroorganizmalar 16S rRNA gen zincirine sahip olmaları ve membranlarında bulunan yağ asitleriyle Alicyclobacillus olarak yeniden sınıflandırılmıştır .

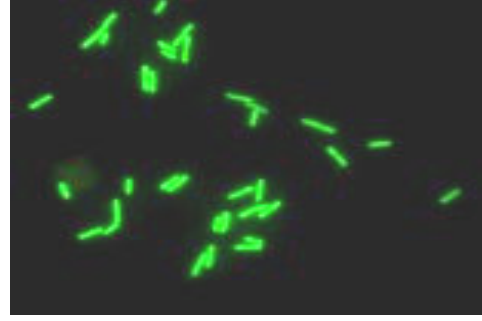
Alicyclobacillus ilk olarak 1982'de Almanya'da elma sularında bozulmaya neden olmasıyla belirlenmiştir (Cenry vd 1984). 1990'larda National Food Processors Association (NFPA) araştırmalarında üye firmalar tarafından, dayanıklı meyve ürünlerinde sporlu bakterilerin bozulma yaptığı bildirilmiştir (Chang ve Kang 2004). Yapılan bir araştırmada ticari sterilizasyon işlemleri uygulanmış çeşitli meyve sularında, yaşayan asidurik bakterilerin var olup olmadığı sorusuna cevap aramak amacıyla marketlerden 33 adet meyve suyu örneği toplanmıştır. Bu 33 meyve suyundan 8 tanesinin elma suyu, 7 üzüm suyu, 3'ü kızılcığa benzer bir meyve), 3'ü vişne suyu ve 12'sinin karışık meyve suyundan oluştuğu belirtilmiştir. 33 örnekten sadece 3 tanesinde canlı spora rastlanmıştır. Bir elma suyu örneğinde 25/300 ml, bir üzüm suyu örneğinde 1/100 ml ve bir vişne aromalı meyve suyu örneğinde 3/245 ml miktarında spor bulunmuştur (Splittstoesser vd 1994). Yamazaki vd (1996) bozulmuş asidik meyve sularından, izotonik sudan, limonatadan, meyve suyu karışımlarından ve meyve suyu-havuç suyu karışımlarından *A. acidoterrestis* izole etmişlerdir. Benzer bir çalışmada da içeriğini kuşburnu ve hibiscusun (bir nevi ebeğümeci) oluşturduğu soğuk çaylarda Alicyclobacillus tespit edilmiş, siyah ve yeşil çayda ve berry (frenk üzümü, çilek, böğürtlen gibi meyveler) konsantresinde olmadığı bildirilmiştir (Duong ve Jensen 2000).

Alicyclobacillus gram pozitif, çubuk şeklinde, aerobik, termofilik, asidofilik, sporlu ve patojen olmayan bir bakteridir (Silva ve Gibbs 2001, Chang ve Kang 2004). *A. acidoterrestis*'in resimleri Şekil 1.1'de görülmektedir (WEB_1 2006).

Alicyclobacilluslar 2'den 7'ye kadar olan pH aralığında ve 20°C'den 71°C'ye kadar sıcaklıkta gelişebilmektedir (Palop vd 2000). *A. acidoterrestis*'in optimal gelişme sıcaklığı suşu bağlı olarak 42-53°C'dir. Yapılan bir çalışmada *A. acidoterrestis*'in 25°C, 35°C ve 44°C sıcaklıklarda elma suyu, portakal suyu ve karbonlanmamış meyve sularında gelişebildiği ancak 4°C sıcaklıkta gelişemediği tespit edilmiştir (Pettipher vd 1997). Diğer bir araştırma sonucuna göre Alicyclobacillus'un termofilik yapısından dolayı 50°C'de 2 saat depektinizasyondan sonra bulunan spor sayısı 25°C'de 24 saat depektinizasyondan sonra bulunan spor sayısına göre daha yüksektir (Bahçeci vd 2003).



Analiz edilen örneklerin faz kontrast mikroskopta görünüşü



Yeşil ışık veren bakteriler *Alicyclobacillus* cinsine aittir

Şekil 1.1 *Alicyclobacillus acidoterrestris*'in değişik şekillerde çekilmiş fotoğrafları (WEB_1 2006).

Başka bir çalışma sonucunda ise *A. acidoterrestris*'in 2,2'den 5,8'e kadar pH değerinde gelişebildiği bildirilmiştir (Deinhard vd 1987). McIntyre vd (1995) tarafından yapılan çalışmada PDA besiyerinde pH 3'den 5,3'e kadar gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Yine aynı konuyla ilgili olarak yapılan bir diğer çalışma sonucunda VF ve WAC suşlarının 2,5 – 7 pH aralığında gelişme kabiliyetine sahip olduğu belirtilmiştir (Splittstoesser vd 1994). Sinigaglia vd (2003) tarafından yapılan çalışma sonuçlarına göre *A. acidoterrestris* sporlarının en iyi pH 4,5'da ve 43°C'de gelişme gösterdiği saptanmıştır.

A. acidoterrstris'in pH 4'de 50°C'de Bacillus Acidocaldarius Medium (BAM)'da 6 gün inkübe edilmesiyle yuvarlak, krem beyaz renkte, yarı saydamdan mata doğru, 3 mm'den 5 mm'ye kadar çapta koloniler oluşturduğu belirlenmiştir (Deinhard vd 1987, McIntyre vd 1995).

Alicyclobacillus patojen olmayan bir mikroorganizmadır. *Alicyclobacillus*'un patojenitesini belirlemek için yapılan bir çalışmada *Alicyclobacillus* suşları farelere direkt olarak injekte edilmiş ve fareler hastalık belirtileri için bir hafta boyunca gözlenmiştir. Bu süre sonunda injekte edilen seviyede *Alicyclobacillus* suşlarından kaynaklanan hastalık belirtileri gözlenmemiştir. Diğer taraftan *Alicyclobacillus* suşları meyve suyuna injekte edilmiş ve bu şekilde bozulması sağlanan meyve sularıyla kobaylar beslenmiştir. Bu deneme sonucunda da kobaylarda hatalık belirtisi veya ölüm gözlenmemiştir. Ayrıca kişisel bilgiler sonucunda insanların bu mikroorganizmalarla

bozulmuş meyve sularını tüketmeleri ile herhangi bir hastalık belirtisi gözlenmediği bildirilmiştir (Walls ve Chuyate 2000).

A. acidoterrestris zorunlu aerobik bir mikroorganizmadır. *A. acidoterrestris* (DSM2498)'in oksijen ihtiyacıyla ilgili olarak yapılan çalışmada anaerobik koşullarda gelişiminin sınırlandığı belirlenmiştir. %0,1 rezidüal oksijen miktarı portakal suyu ortamında gelişim için yeterli olurken, aynı miktarda oksijen, üzüm suyunda gelişimi desteklememektedir (Cerny vd 2000). Elma suyu ortamında yapılan bir çalışmada çalkalanarak havalanması sağlanan örneklerde *A. acidoterrestris* gelişiminin daha fazla olduğu, bu durumun çalkalanmayan örneklerde az oksijen bulunmasından kaynaklanabileceği ortaya konulmuştur (Walker ve Phillips 2005)

Alicyclobacillus'un farklı kaynaklardan izole edildiği bildirilmiştir. *Alicyclobacillus*'un kaynakları temelde iki gruba ayrılabilir : toprak kaynaklı ve kaplıca kaynaklı (Chang ve Kang 2004, Deinhard vd 1987). Darland ve Brock, (1971) yaptıkları çalışmada asitli sıcak ortamlardan değişik *Bacillus acidocaldarius* suşları izole etmişlerdir. Bu çalışmada ortam pH'ları 2,5-3,3 ve sıcaklıkları 44-72°C olan kaplıcalardan izolasyon yapılmıştır. Diğer bir çalışmada ω-cyclohexane yağ asidi içeren 13 *Bacillus* suşu çeşitli topraklardan ve elma suyundan izole edilmiştir (Deinhard vd 1987). Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada *Alicyclobacillus sendaiensis*'in Japonya'da bir parkın toprağından izole edildiği belirtilmiştir (Tsuruoka vd 2003). Termoasidofilik bakteri suşundan 60 tanesi Japonya'da asidik çevrelerdeki toprak ve sulardan izole edilmiştir. İzole edilen bu mikroorganizmaların *Alicyclobacillus* türüne ait olduğu belirlenmiştir (Goto vd 2002b).

Alicyclobacillus türleri sık sık meyve sularına bulaşmakta ve sonuçta bozulmalara neden olmaktadır. Yapılan araştırmalar hasat sırasında kontamine olan meyvelerin veya üretim aşamasında yıkanmayan yada yıkamanın yetersiz olduğu meyvelerin, son ürün olan meyve suyunda *Alicyclobacillus* bozulmasına neden olduğunu göstermiştir (Chang ve Kang 2004). McIntyre vd (1995) yaptıkları çalışmada ingredient olarak kullanılan sudan *Alicyclobacillus* izole etmişlerdir. Dolayısıyla meyve suyu üretiminde kullanılan su da bulaşma kaynağı olabilmektedir.

1.4. Alicyclobacillusların Isıl Dayanıklılığı

Isıl işlem uygulamalarında en dayanıklı spor seçilirse ve tüm işlemler bunun öldürülmesini sağlamaya yöneltilirse, ısıl direnci daha düşük olan diğer mikroorganizmalar zaten öleceğinden güvenli ve tam yeterli bir ısıl işlem belirlenmiş olur. Şu halde ısıya en dayanıklı mikroorganizma, ısıl işlemde hedef alınan mikroorganizmadır (Acar ve Cemeroğlu 1998).

Alicyclobacillus bugünkü pastörizasyon uygulamalarına dayanabilmekte (95°C'de 30 saniye) ve tat ve aroma kayıplarıyla meyve suyu endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Pettipher vd 1997). Bu konuyla ilgili olarak yapılan diğer bir çalışma sonuçlarına göre *A. acidoterrestris* sporları sıcak dolum yapılan proseslerde 88-96°C sıcaklıklarda 2 dakikaya kadar yaşayabilmektedir (Pontius vd 1998). *A. acidoterrestris* sporları asidik koşullarda 90°C sıcaklığa 40 dakika dayanabilmektedir. Ancak bu mikroorganizmanın vejetatif hücrelerinin %99'dan fazla kısmı 80°C sıcaklıkta 20 dakikada yok edilmektedir (pH 4.0). Önce ısıl işlem uygulanarak çimlenmesi sağlanan sporların ısıya dayanıklılığı çimlenmemiş sporlara göre daha az bulunmuştur. Çimlenmiş sporlarda ısıyla hızlı bir azalma meydana gelirken, uyku halindeki sporlarda azalma meydana gelmemiştir (Terano vd 2005).

Yapılan çalışmalar sonucunda bu mikroorganizmanın asidik karakterli meyve ürünleri üretiminde, pastörizasyon aşamasında hedef mikroorganizma olarak seçilmesi önerilmiştir (Murakami vd 1998, Silva vd 1999, Silva ve Gibbs 2001, Silva ve Gibbs 2004).

Meyve sularında bulunabilecek asidik karakterli sporlu mikroorganizmalar içinde *A.acidoterrestris* sporlarının referans mikroorganizma olarak seçilmesinin iki nedeni vardır (Silva ve Gibss 2001):

- 1- Diğer mikroorganizmaların vejetatif ve spor formlarının ısıya karşı direnci *A.acidoterrestris* sporlarına göre çok daha az bulunmuştur.
- 2- Literatürde *A. acidoterrestris* sporları hariç yüksek asitli meyve ürünlerinde çimlenme ve gelişme kabiliyetine sahip mikroorganizma belirlenmemiştir.

Aslında pastörize edilmiş asitli meyve ürünlerinde (pH<4,6) mikrobiyal sporlar bulunmasına rağmen ürün asitliğinden dolayı gelişemezler.

Sıcaklığın mikroorganizmalara öldürücü etkisinin nedenleri değişik görüşlerle açıklanmaktadır. En yaygın olan görüşe göre, mikroorganizmaların yapılarında bulunan proteinler sıcaklık etkisiyle denatüre olmakta ve aynı şekilde yaşamsal önemi olan enzimler inaktive olarak mikroorganizmaların ölümü gerçekleşmektedir. Mikroorganizmaların sıcaklığa karşı dirençleri onların kalıcı bir niteliği olmayıp içinde buldukları ortamın fiziksel ve kimyasal yapısına bağımlı olarak değişebilmektedir (Acar ve Cemeroglu 1998).

Alicyclobacillus'u diğer mikroorganizmalardan ayıran karakteristik özelliği, en büyük membran içeriği olan ω -alicyclic yağ asitlerinden kaynaklanmaktadır. Araştırmalar Alicyclobacillusların aside ve yüksek sıcaklığa dayanıklılığının ω -alicyclic yağ asitlerinden kaynaklandığını göstermektedir. ω -alicyclic yağ asidi halkası yığımları hücre membranı için koruyucu özellik göstermekte ve Alicyclobacillus suşlarının asidik koşullara ve yüksek sıcaklığa dayanıklılığını sağlamaktadır. Cyclohexan halkası içeren yağ asitlerinden oluşan yağların membranı stabil hale getirdiği ve yüksek sıcaklıklarda prokaryot membranlarda ana bariyer görevi gördüğü belirtilmektedir (Chang ve Kang 2004).

Deinhard vd (1987) yaptıkları çalışmada *B. acidocaldarius*'un sahip olduğu gibi ω -cyclohexane yağ asitlerine ve haponoidlere sahip termotolerant Bacillus türleri tespit etmişlerdir.

Goto vd (2002a) yaptıkları çalışmada kurutulmuş hibiscus çiçeklerinden yapılan ot çayından *A. herbarius* izole etmişlerdir. İzole edilen suşun membranında major komponent olarak ω -cycloheptane yağ asidi içerdiğini bildirmişlerdir. ω -cycloheptane yağ asidi toplam yağ asidi kompozisyonunun %73'üne ulaşmaktadır. Yağ asitleri dallanmış ve düz zincirlerden oluşan karışımlar halinde bulunmaktadır. *A. cycloheptanicus*'un en büyük membran yağ içeriği ω -cycloheptane yağ asitleri iken, *A. acidocaldarius* ve *A. acidoterrestris*'in ω -cyclohexane yağ asitleridir.

Alicyclobacillusların en önemli karakteristik özelliği membranlarında bulunan ω -alicyclic yağ asitleri iken *Alicyclobacillus pomorum* suşunda ω -alicyclic yağ asitleri bulunmadığı belirlenmiştir (Goto vd 2003).

Bakteri sporlarının termal dayanıklılığının mekanizması henüz detaylı olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte sporların termal dayanıklılığı dehidrasyon, dipicolinic asid (DPA) içeriği, ısıya dayanıklı protein varlığı, mineralizasyon gibi durumlara bağlı olarak değişmektedir. Yapılan araştırma sonuçlarına göre, bakteri sporlarının termal dayanıklılığı DPA ve Ca^{+2} varlığından oldukça fazla etkilenmektedir. *A. acidoterrestris* sporları Ca^{+2} ve Mn^{+2} iyonları ile diğer bakterilerle kıyaslandığında daha güçlü bağ kurmaktadır ve bu bağlar *A. acidoterrestris* sporlarının termal dayanıklılığına etki etmektedir (Yamazaki vd 1997).

Sıcaklıkla ilgili çalışmaların yanı sıra Alicyclobacillus'un çeşitli kimyasallardan ve basınçtan etkilenişi de araştırılmıştır. Gıda muhafazasında kullanılan bazı koruyucuların da mikroorganizmaların ısıya dirençlerini azatlıkları saptanmıştır (Acar ve Cemeroğlu 1998). Lee vd (2004) tarafından yapılan çalışmada laboratuvar ortamında hazırlanmış besiyerinde ve elmalarda *A. acidoterrestris* sporlarının klorindioksit ile azalışı araştırılmıştır. Sulu süspansiyon olarak hazırlanmış sporlara ve 4 farklı cins elma yüzeyinde bulunan sporlara farklı konsantrasyonlarda klorindioksit uygulanmıştır. Sulu süspansiyondaki sporlar 40 ppm ile 5 dakika muamele edilmiş ve spor sayısında 4 log azalma olmuştur. 80 ppm 1 dakika uygulamayla 1,8 log ve 120 ppm 30 saniye muamele ile 4,8 log azalma olduğu tespit edilmiştir. 80 ve 120 ppm 5 dakika uygulanmasıyla spor gelişimi tespit edilemez seviyeye inmiştir. Ayrıca 4 elma türüne (kırmızı, golden, gala, fuji) 40 ppm klorindioksit 1,2,3 ve 4 dakika süre ile uygulanmış sırasıyla 1,5; 3,2; 4,5; 4,8 logdan fazla azalma olmuştur. Sporların azalışında elma cinsleri arasında bir fark görülmemiştir. Bu sonuçlar göstermiştir ki, klorindioksit hem sporların sulu süspansiyonunda hem de elma yüzeylerindeki *A. acidoterrestris* sporlarının yok edilmesi için oldukça etkilidir. Sulu süspansiyondaki sporların klorindioksitle muamelesini takiben sıcaklık uygulamasının sinerjik bir etki göstermediği bildirilmiştir.

Shearer vd (2000) tarafından yapılan çalışmada kimyasal koruyucuların, sıcaklığın ve basıncın Alicyclobacilluslar üzerine inhibitif etkisi araştırılmış ve yüksek sıcaklık uygulamalarına alternatif olarak basınç, sukroz laurat ve sıcaklığın birlikte

uygulanmasının mikroorganizmaların elimine edilmesinde umut verici, uygulanabilir bir yöntem olduğunu belirlemişlerdir.

A. acidoterrestirs'in beş adet suşunu içeren spor karışımını içeren ortamda 200 ppm klorin, 500 ppm asidik sodyum klorit ve %0,2 H₂O₂ sporlarda sırasıyla 2,2; 0,4 ve 0,1 log azalma sağlanmıştır (23°C, 10 dakika). 1000 ppm klorindioksit veya 4% H₂O₂ uygulamasıyla spor sayısında 5 logdan fazla azalma meydana gelmiştir (Orr ve Beuchat 2000).

A. acidoterrestris vejetatif hücreleri ve sporları üzerine meyve sularında, koruyucu (sorbik asit, benzoik asit veya her ikisinin birlikte) kullanımının inhibitif etkisi bulunduğu belirlenmiştir. Koruyucu kullanılmayan örneklerde 10 gün sonunda *A.acidoterrestris* sayısında önemli bir artış meydana gelirken, koruyucu ilave edilen örneklerde gelişim sınırlanmıştır (Pettipher ve Osmundson 2000).

Diğer bir çalışmada ise nisinin *A. acidoterrestris* üzerine inhibitif etkisi incelenmiştir. Nisinin sporlara karşı inhibitif etkisi pH 3,4'de MYPGA (Modified Yeast-Peptide-Glucose Agar) besiyerinde 0,78'den 12,5 IU/ml ve 4,2 pH'da aynı besiyerinde 25'den 400 IU/ml'ye kadardır. Nisin eklenmesinin asitli içeceklerde *A.acidoterrestris* sporlarının termal dayanıklılığını azalttığı tespit edilmiştir. *A.acidoterrestris* sporlarının gelişmesi portakalla karışık meyve sularına 25-50 IU/ml nisin eklenmesiyle önlenmiştir. Fakat konsantre elma suyuna yüksek seviyede (600 IU/ml) nisin eklenmesiyle bu sporlar inhibe edilememiştir. Bu bulgulardan anlaşılmıştır ki nisin eklenmesi elma suyu dışındaki tüm asitli içeceklerde *A. acidoterrestris*'den kaynaklanan bozulmayı önlemekte kullanışlı bir yöntemdir (Yamazaki vd 2000).

A. acidoterrestris'in inhibe edilmesinde yüksek basınç uygulaması da araştırılan diğer bir konudur. Bu konuda yapılan bir çalışmada model sistemde (BAM broth), portakal suyu, elma suyu ve domates suyunda yüksek hidrostatik basınçla *A.acidoterrestris* vejetatif hücrelerinin inaktivasyonu incelenmiş ve basınç ve sıcaklığın artışıyla hücrelerin yaşam kabiliyetlerinde anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir (Alpas vd 2003). Bu konuyla ilgili olarak Buzrul vd (2005) yaptıkları çalışmada basınçla inaktivasyon işleminde işlem sıcaklığının açık bir etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. 350 Mpa basınç 50°C'de 30 dakika süreyle uygulandığında *A.acidoterrestirs* hücrelerinde yaklaşık 6 log azalma olurken, aynı seviyede azalma

35°C’de 150 dakikada elde edilmektedir. Diğer bir çalışma sonuçlarına göre ise, yüksek basıncın oda sıcaklığında uygulanmasıyla sporların yaşam kabiliyetinde fark edilir bir azalma olmamıştır. Bununla birlikte yüksek basınç ve sıcaklığın (45°C, 71°C, 90°C) birlikte uygulanmasıyla sporların yaşam kabiliyetinde önemli bir azalma gözlenmiştir (Lee vd 2002).

1.5. Alicyclobacillusların Bozulmaya Neden Olan Bileşenleri

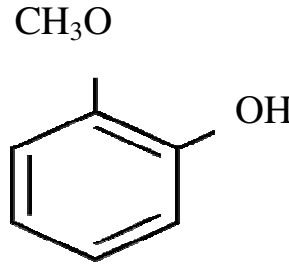
Tüketicilerin gıdaları reddetmelerinin en yaygın sebebi kabul edilemez tattır ve her geçen yıl gıda endüstrisi taze, işlenmiş gıda ve paketlenmiş gıdalarda tat kayıpları veya kötü koku oluşumlarıyla ilgili şikayetler almaktadır (Chang ve Kang 2004).

Alicyclobacillus bozulmalarıyla ilgili olarak müşteri şikayetlerinde son tüketim tarihine gelmeden çok önce meyve sularının bozulmuş, tatsız ve renginin değişmiş olduğu belirtilmiştir. Bu bozulmalarda gaz oluşmadığı belirtilmektedir (Vieira vd 2002).

Alicyclobacillus bozulmalarından kaynaklanan tat bozulmalarıyla ilgili bileşenler temelde iki gruba ayrılmaktadır: guaiacol, 2,6 dibromofeneol ve 2,6 diclorofeneol içeren halophenollerdir.

1.5.1. Guaiacol

Guaiacolün kimyasal yapısı Şekil 1.2’de verilmiştir.



Şekil 1.2 Guaiacol (WEB_2 2006)

A. acidoterrestis’den kaynaklanan bozulmalar, guaiacol oluşumunun sebep olduğu ilaç gibi veya antiseptik koku şeklinde karakterize edilmektedir. Guaiacolün kötü koku veya farklı ilacimsı tat oluşturduğu, tatlı, yanık ve tütsülü bir aromaya, lezzete neden olduğu belirtilmiştir (Walls ve Chuyate 2000, Chang ve Kang, 2004, Eisele ve Semon

2005). *A. acidoterrestris*'den kaynaklanan bozulmalar, 2-methoxyphenol (guaiacol)'den kaynaklanan koku ve aroma kayıpları ve çökelti oluşturmalarıyla kendini belli etmektedir (Walls ve Chuyate 2000).

Orr vd (2000) elma suyunda *A. acidoterrestris* tarafından üretilen guaiacolün panelistler tarafından belirlenebilen eşik değerinin 2,32 ppb olduğunu ifade etmişlerdir.

Başka bir çalışmada, Pettipher vd (1997) elma suyu, portakal suyu ve karbonlanmamış meyve suyu içeceklerinde guaiacolün eşik değerinin 2 ppb olduğunu ve guaiacol seviyesinin 1000 ppb'ye kadar ulaşabildiğini belirtmişlerdir. *A. acidoterrestris* seviyesinin 1×10^{-5} ml⁻¹ e ulaşmasıyla tespit edilebilir miktarda guaiacol oluştuğunu belirlemişlerdir.

Bahçeci vd (2005) *A. acidoterrestris* ile aşılınmış elma suyuna 10 ve 100 mg/lt vanilin ilave edip 25 ve 46°C'de inkübe edilmesiyle bu mikroorganizmanın vanilini kullanarak guaiacol üretimini incelemişlerdir. 46°C'de $\sim 1 \times 10^5$ cfu/ml *A. acidoterrestris* ve 100 mg/lt vanilin varlığında çok çabuk guaiacol üretiminin başladığı ve 10 gün sonunda guaiacol konsantrasyonunun 59,18 mg/l seviyesine ulaştığı bildirilmiştir. 10 mg/l vanilin ve $\sim 1 \times 10^5$ cfu/ml *A. acidoterrestris* ilave edilen elma suyunda 46°C'de 24 saatte vanilinin tükendiği ve guaiacol miktarının 8 mg/lt'ye ulaştığı bildirilmiştir. 25°C'deki uygulamada *A. acidoterrestris* gelişiminin olumlu olmadığı dolayısıyla bu sıcaklıkta guaiacol oluşumunun önemli ölçüde sınırlandırıldığı belirtilmiştir.

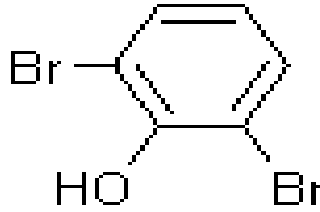
Eisele ve Semon'a (2005) göre kokunun belirlenmesinde guaiacolün en iyi eşik değeri su ve elma suyunda sırasıyla 0,48 ppb ve 0,91 ppb'dir. Tadın belirlenmesinde ise en iyi eşik değeri su ve elma suyunda sırasıyla 0,17 ppb ve 0,24 ppb olarak bildirilmiştir.

Guaiacol üretimine;

- Alicyclobacillus konsantrasyonu
- Depolama sıcaklığı
- Sıcaklık uygulaması etki etmektedir (Chang ve Kang 2004).

1.5.2. Halophenoller (2,6 dibromafenol ve 2,6 diclorofenol)

2,6 DBP ve 2,6 DCP'ün oluşturduğu koku antiseptik (dezenfektan) şeklinde tanımlanmaktadır (Cahng ve Kang 2004). Jensen ve Whitfield (2003) meyve suyunda dezenfektan gibi kötü koku oluşumuna *A. acidterrestris* tarafından oluşturulan 2,6 DBP ve 2,6 DCP'nin neden olduğunu bildirmişlerdir. Bozulmuş örneklerde 2,6 DBP'nin 2 den 4 ng^l'e ve 2,6 DCP'nin 16 dan 20 ng^l'e kadar değiştiğini bulmuşlardır. 2,6 DB'nin kimyasal formülü Şekil 1.3'de gösterilmiştir (WEB_3 2006).



Şekil 1.3 2,6 dibromofenol (WEB_3 2006)

2,6 DBP ve 2,6 DCP'nin oluşumu kimyasal kontaminasyon ve mikrobiyal sentez olarak ikiye ayrılabilir. Bromofenol ve klorofenolün gıdalarda oluşumu genellikle çiğ materyallerin yıkanmasında zayıf halojenlerle temas etmesi, işlem sırasında ve meyve konsantrelerinin dilüe edilmesi sırasında oluşmaktadır. Diğer bir yol ise bakteriyel biyosentezdir ki kimyasal kontaminasyondan daha çok rastlanmaktadır. Alicyclobacilluslar tarafından 2,6 DBP ve 2,6 DCP oluşumuna, sıcaklık uygulamasının yapıldığı ortamın önemli etkisinin olduğu belirtilmiştir (Chang ve Kang 2004).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Bu araştırmanın her bir aşamasında kullanılan materyal aşağıda açıklamaları ile verilmiştir.

1. Araştırmada kullanılan *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSM 2498) Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden tedarik edilmiştir.
2. Ana metaryallerden biri olan berrak elma suyu konsantresi (69 °Bx) Akkent Kasabası al/DENİZLİ adresinde bulunan meyve suyu konsantreleri ve meyve püreleri üreticisi olan KONFURT GIDA A.ř'den temin edilmiştir .
3. Portakal suyu konsantresi (63,85 °Bx) ise Mersin Tarsus Karayolu 10. km. Kozanlı Kavşağı MERSİN adresindeki Etap Tarım & Gıda Ürünleri Ambalaj San. ve Tic. A. ř işletmesinden sağlanmıştır
4. Elma suyu ve portakal suyu dışında üçüncü ısıl işlem ortamı olarak Malt Extract Broth (Merck 1.05397.0500) kullanılmıştır.
5. Sporulasyon ortamı ve sayım ortamı olarak Uluslararası Meyve Suyu Federasyonu (IFU) resmi analiz yöntemine göre Alicyclobacillus türlerinin analizi için hazırlanmış bir besiyeri olan BAT Agar (Merck 1.07994.0500) kullanılmıştır (WEB_4 2006).
6. Isıl işlem ortamlarının pH ayarlaması 1N H₂SO₄ (Merck 1.00713.2500), 1N NaOH (Merck 1.06462) ve HCl (Merck 1.00314.2500) kullanılarak yapılmıştır (Silva vd 1999).
7. Isıl işlem ortamlarından elma suyu ve portakal suyunun briks değerleri distile su kullanılarak istenilen seviyelere ayarlanmıştır.

8. Malt ekstrakt broth ortamının ise briks ayarlaması sakkaroz (Merck 1.07651) kullanılarak sağlanmıştır (Silva vd 1999).

2.2. Metot

2.2.1. Deneme planı

Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında briks (10 ve 20 °Bx), pH (3,5 ve 4) ve sıcaklık (85, 90, 95 ve 100°C) değişkenlerine bağlı olarak canlı mikroorganizma sayılarına dayanarak D ve Z değerleri hesaplanmıştır. İki tekerrürlü tam şansa bağlı faktöriyel deneme deseninde çalışılmıştır. Her bir sıcaklık uygulamasında ön denemeler ve literatür bilgileri ışığında farklı süreler seçilmiş olup, sıcaklığa bağlı süreler Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1 Sıcaklıklara bağlı uygulanan ısı işlem süreleri

Sıcaklık (°C)	1	2	3	4	5
85	20 '	40 '	60 '	80 '	100 '
90	5 '	10 '	15 '	20 '	25 '
95	30 s	60 s	120 s	240 s	480 s
100	10 s	30 s	60 s	90 s	120 s

Araştırma sonucunda elde edilen değerler Minitab ve MSTAD-C istatistiksel analiz programları kullanılarak Duncan çoklu analiz testine göre değerlendirilmiştir.

2.2.2. Spor süspansiyonunun hazırlanışı

Yatık agardaki orijinal *A. acidoterrestris* kültüründen steril aşırı iğnesi yardımıyla yüzey kazınarak elde edilen kültür süspansiyonu içerisinde steril fizyolojik su bulunan tüpe alınmıştır. Elde edilen kültürden BAT agara yayma ekim yapılarak 45°C de 5 gün inkübe edilmiştir. 5 gün sonunda elde edilen kültürden gram boyama ve spor boyama yapılarak sporulasyon görülmüştür. Petrielerde gelişen *A. acidoterrestris* saf su ile yıkılarak steril santrifüj tüplerine alınmıştır. Süspansiyondan, *A. acidoterrestris* sporlarını ayırmak için sıcaklığı 4°C’ye ayarlanmış soğutmalı santrifüjde 5000 rpm’de 15 dakika santrifüjleme işlemi yapılmıştır. *A. acidoterrestris* sporları santrifüj tüplerinin dip kısmında toplanmıştır. Tüplerin üst kısmındaki sıvı alındıktan sonra, dipteki tortu üzerine 2 ml steril distile su ilave edilip vorteks yardımıyla homojen hale getirilmiştir.

Yıkama ve santrifüjleme işlemi aseptik koşullarda beş kez tekrarlanmıştır. Son santrifüjden sonra kalan pellete saf su eklenerek vorteks yardımıyla homojen hale getirilip vidalı kapaklı steril cam tüplere aktarılmıştır (Şahbaz vd 1996).

İçerisinde yaklaşık 10^8 spor/ml bulunan tüpler 80°C de 10 dakikalık ısıtma işlemi tabii tutularak vejetatif hücrelerin ölmesi sağlamıştır. Böylelikle saf spor kültürü elde edilmiştir (Pettipher vd 1997).

Elde edilen stok kültür kullanılıncaya kadar buzdolabında 4°C 'de muhafaza edilmiştir.

2.2.3. Isıl işlem ortamı

Isıl işlem ortamı için elma konsantresi, portakal konsantresi ve malt extract broth kullanılmıştır. Elma ve portakal suyu konsantreleri saf suyla 10 ve 20 brikse dilüe edilmiştir. Elma ve portakal konsantresinin briks değeri sterilizasyondan önce refraktometre (Atago) ile ayarlandıktan sonra pH'sı 1N H_2SO_4 kullanılarak istenilen değere ayarlanmıştır. Malt extract broth ortamının briks ayarlaması sakkaroz ile, pH ayarlaması ise 1N HCL ile yapılmıştır (Silva vd 1999).

2.2.4. Isıl işlem çalışması

İstenilen briks ve pH'ya ayarlanan örneklerden (elma suyu, portakal suyu ve malt extract broth) 100 ml'lik cam şişelere 50'şer ml alınarak steril edilmiştir. Isıl işlem uygulamasının gerçekleştirilecek olduğu termostat kontrollü su banyosu (GFL 02.275) istenilen sıcaklığa (85, 90 95 ve 100°C) ayarlanmış ve bu sıcaklığa ulaştığı görüldükten sonra steril edilmiş şişeler su banyosuna yerleştirilmiştir. Yaklaşık 25-30 dakika şişe içeriğinin istenilen sıcaklığa ulaşabilmesi için beklendikten sonra 1 ml spor süspansiyonu eklenmiş ve belirlenmiş sürelerde 1'er ml örnek alınmıştır. Alınan herbir örnek, içerisinde 9 ml steril fizyolojik su bulunan tüplere eklenmiş, soğuk suya daldırılarak soğuması sağlanmıştır. Daha sonra uygun seviyelerde dilüsyonları hazırlanmıştır. (Acar ve Cemeroğlu 1998, Vieira vd 2002).

2.2.5. Mikroorganizmaların sayımı

Her bir ısıl işlem çalışması öncesinde stok spor süspansiyonunun 1 ml'sindeki spor sayısı belirlenmiştir. Bu amaçla spor süspansiyonundan uygun dilüsyonlar hazırlanmış ve bunlardan 50 µl alınarak içinde BAT agar bulunan besiyerine yayma ekim yapıp 45°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda petrilere koloniler kültürel yöntem ile sayılmış ve dilüsyon faktörü ile çarpılarak bulunan sayı başlangıç sayısı (N₀) olarak kaydedilmiştir. Isıl işlem sonrası elde edilen dilüsyonlardan 50 µl alınarak içerisinde BAT agar bulunan petrilere yayma ekim yapılmıştır. Petriler 45°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve koloniler kültürel yöntem ile sayılmıştır. (Şahbaz vd 1996). Dilüsyon faktörü ile çarpılarak bulunan sayılar ısıl işlem sonrası canlı kalan bakteri sayısı (N) olarak kaydedilmiştir.

2.2.6. D ve Z değerlerinin hesaplanması

D değeri ortamda canlı kalan mikroorganizmaların %90'ının öldürülmesi için gerekli ısıl işlem süresidir veya başka bir ifade ile D değeri termal ölüm oranı eğrisinin (logaritmik canlı kalma eğrisi) yarı logaritmik çizelgede bir logaritmik çevrimi geçmesi için gerekli ısıl işlem süresidir (Ünlütürk ve Turantaş 2003).

Termal ölüm süresinin saptanmasında çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bunlar, tüp yöntemi, kutu yöntemi, termorezistometre yöntemi ve tank yöntemi olarak sıralanabilir (Acar ve Cemeroğlu, 1998).

Mikroorganizmaların ısıl etkiyle ölmeleri genel olarak birinci derecede reaksiyon kinetiğine uyar. Birinci dereceden hız ifadesinde ölüm hızı, bileşenin mevcut konsantrasyonu ile orantılıdır.

$$-\frac{dC}{dt} = kC$$

Burada; $-\frac{dC}{dt}$: Mikroorganizma konsantrasyonunun azalma hızı

C : Canlı mikroorganizma konsantrasyonu

k : Birinci derece reaksiyon hız sabiti

Eşitlik integre edildiğinde;

$t=0$ $C=C_0$ (başlangıç mikroorganizma konsantrasyonu)

$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = -k \int_0^t dt$$

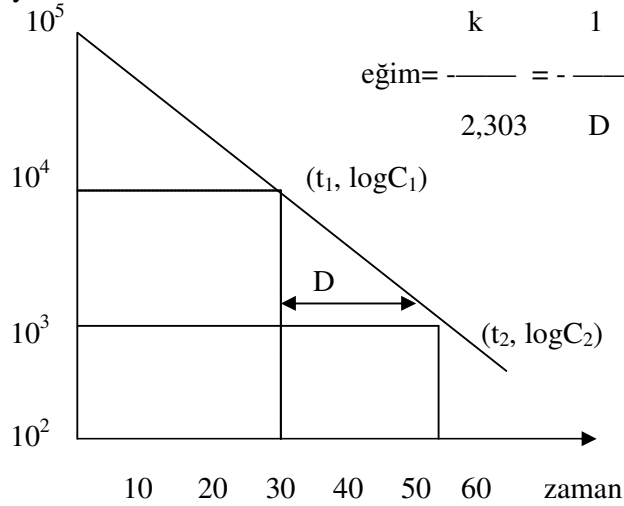
$$\ln C - \ln C_0 = -kt; \quad \ln C = \ln C_0 - kt$$

$$\log C = \log C_0 - \left(\frac{k}{2,303} \right) t \quad \text{elde edilir.}$$

Isıl işlem sonrası tespit edilen canlı mikroorganizma sayısının logaritması ($\log C$) zamana karşı (t) grafik edildiğinde eğimi ($k/2,303$) olan ve azalan bir doğru elde edilir. Bu durumda elde edilecek tipik bir grafik Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Logaritmik canlı kalma eğrisinin bir log çevrimi geçmesi mevcut mikroorganizma sayısında %90 azalmaya sebep olmaktadır. Bu durumda logaritmik canlı kalma eğrisinin eğimi aşağıdaki gibi ifade edilebilir.

$$\text{Eğim} = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \frac{\log C_2 - \log C_1}{t_2 - t_1} = \frac{\log 10^3 - \log 10^4}{D} = - \frac{1}{D}$$

Canlı mikroorganizma sayısı/hacim



Şekil 2.1 Mikroorganizmaların birinci dereceden inaktivasyonu (Logaritmik Canlı Kalma Eğrisi) (Şahbaz vd 1996)

Eğim aynı zamanda $[-\frac{k}{2,303}]$ olarak da ifade edilebildiğinden hız sabiti (k) ile ondalık azalma zamanı (D) arasındaki ilişki aşağıda belirtildiği gibidir.

$$-\frac{k}{2,303} = -\frac{1}{D} \longrightarrow D = \frac{2,303}{k}$$

$$t = \frac{2,303}{k} \log \frac{C_0}{C}$$

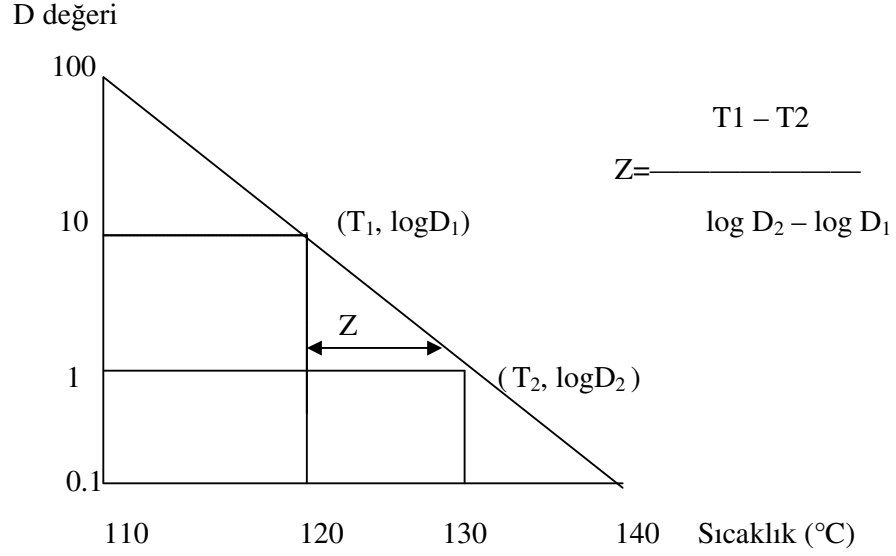
Bu eşitlikte başlangıç mikroorganizma sayısı (C_0) yerine a, t kadar ısıtma süresi sonunda canlı kalan mikroorganizma sayısı (C) yerine b değeri konulduğunda,

$$t = D \log \frac{a}{b} \text{ eşitliği elde edilir.}$$

D değeri sıcaklığa bağlı bir değer olduğundan hangi sıcaklığa ait olduğu D harfinin hemen altına yazılan rakamla belirtilir (Örneğin, D_{250} , D_{95} , D_{135} ... gibi). Bir mikroorganizmanın D değeri ne kadar büyükse o mikroorganizma ısıya o kadar dirençli demektir (Acar ve Cemeroğlu 1998).

TÖS eğrisinin bir logaritmik çevrimi aşması için gerekli sıcaklık değişimi Z değeri olarak tanımlanır. Bir diğer ifade yele D değerinde bir ondalık (%90) azalma sağlayabilmek için arttırılması gereken sıcaklık değeri Z değeri olarak tanımlanır (Şahbaz vd 1996).

Buna göre herhangi bir mikroorganizmanın farklı sıcaklıklarda elde edilen D değerleri sıcaklığa karşı yarı logaritmik bir grafiğe işlenirse, düz bir eğri elde edilir. Bu eğriye “termal direnç eğrisi” denir. Z değeri termal direnç eğrisi eğiminin resiprokalidir. Şekil 2.2’de tipik bir termal direnç eğrisi verilmiş ve Z değerinin nasıl bulunabileceği tanımlanmıştır (Cemeroğlu 2005).



Şekil 2.2 Termal Direnç Eğrisi (Cemeroğlu 2005).

Küçük bir Z değeri ($Z=10$) 10°C 'lık bir artışla ölüm süresinin onda birine azalacağını gösterir. Buna karşılık büyük bir Z değeri ($Z=50$) ölüm süresinin onda birine düşebilmesi için 50°C 'lık bir artış gerektiğini gösterir. Bundan dolayı küçük Z değerine sahip reaksiyonların sıcaklık bağımlılıkları oldukça yüksektir, büyük Z değerine sahip olanlar ise sıcaklıktan en az derecede etkilenirler (Şahbaz vd 1996).

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Elma Suyu Ortamında *A. acidoterrestris*'in Isıl Dayanıklılığının Belirlenmesine Ait Bulgular

A. acidoterrestris sporlarının farklı ortamlarda ısıl dayanıklılığının belirlenmesinin hedeflendiği bu çalışmada vasat olarak kullanılan elma suyunun 10 ve 20 °Bx, 3,5 ve 4 pH'lık ortamları ile gerçekleştirilen çalışma sonucunda elde edilen $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri Tablo 3.1'de topluca verilmiştir.

Tablo 3.1 Elma suyu ortamında briks, pH ve sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak elde edilen $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri

Brix	pH	Sıcaklık (°C)	Süre	Log(N/No)	D (dakika)	Z (°C)
10	3,5	85	20'	-0,658	117,6	10,9
			40'	-0,743		
			60'	-0,787		
			80'	-0,896		
			100'	-1,047		
		90	5'	-0,264	32,8	
			10'	-0,380		
			15'	-0,699		
			20'	-0,714		
			25'	-0,730		
		95	30 s	-0,034	20,8	
			60 s	-0,056		
			120 s	-0,107		
			240 s	-0,231		
			480 s	-0,373		
		100	10 s	-0,383	4,1	
			30 s	-0,442		
			60 s	-0,488		
			90 s	-0,567		
			120 s	-0,660		

(Devamı arkada)

10	4	85	20'	-0,176	105,3	16,4
			40'	-0,526		
			60'	-0,750		
			80'	-0,735		
			100'	-0,951		
		90	5'	-0,517	36,1	
			10'	-0,166		
			15'	-0,267		
			20'	-0,479		
			25'	-0,669		
		95	30 s	-0,014	27,8	
			60 s	-0,078		
			120 s	-0,003		
			240 s	-0,124		
			480 s	-0,283		
		100	10 s	-0,096	11,1	
			30 s	-0,120		
			60 s	-0,115		
			90 s	-0,147		
			120 s	-0,252		
20	3,5	85	20'	-0,232	103,1	13,5
			40'	-0,347		
			60'	-0,560		
			80'	-0,787		
			100'	-0,986		
		90	5'	-0,175	52,9	
			10'	-0,257		
			15'	-0,347		
			20'	-0,433		
			25'	-0,497		
		95	30 s	-0,113	41,7	
			60 s	-0,118		
			120 s	-0,166		
			240 s	-0,116		
			480 s	-0,289		
		100	10 s	-0,276	6,2	
			30 s	-0,331		
			60 s	-0,353		
			90 s	-0,366		
			120 s	-0,461		
20	4	85	20'	-0,353	94,3	10,9
			40'	-0,625		
			60'	-1,060		
			80'	-1,156		
			100'	-0,905		

(Devamı arkada)

	90	5'	-0,157	43,7
		10'	-0,354	
		15'	-0,535	
		20'	-0,403	
		25'	-0,616	
	95	30 s	-0,047	18,5
		60 s	-0,076	
		120 s	-0,127	
		240 s	-0,250	
		480 s	-0,456	
	100	10 s	-0,147	3,8
		30 s	-0,297	
		60 s	-0,406	
		90 s	-0,502	
		120 s	-0,563	

Tablo 3.1'in incelenmesinden görülebileceği gibi ısı işlem uygulamasından sonra canlı kalan *A. acidoterrestris* spor sayısının (N) başlangıç spor sayısına (N_0) oranının logaritması sıcaklık ve süre artışına bağlı olarak beklenildiği gibi azalmıştır. Aynı şekilde, herhangi bir sıcaklıkta gerçekleştirilen ısı işlem uygulamasında *A. acidoterrestris* sporlarında %90 redüksiyon sağlamak için gerekli süreyi (dakika olarak) ifade eden D değerleri de yine beklenildiği gibi sıcaklık artışına paralel olarak azalmıştır. Elma suyunda briks değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 1'de ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2 Elma suyunda briks değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları*

Briks	N	$\log(N/N_0)$	D (dakika)	Z (°C)
10	80	-0,4158 a	46,19 a	14,150 a
20	80	-0,4066 a	45,52 a	12,200 b

* Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farksız ($P>0,05$), farklı harfler ise birbirinden farklıdır ($P<0,01$)

10 brikslik elma suyunda ortalama $\log(N/N_0)$ değeri -04158 elde edilirken, 20 briks uygulamasında -0,4066 elde edilmiştir. 20 °Bx için elde edilen $\log(N/N_0)$ değeri 10 briks göre %2,26 daha fazla olmasına rağmen istatistiki açıdan her iki briks değerinde elde edilen $\log(N/N_0)$ değerleri arasında fark bulunamamıştır. 10 briks uygulamasında elde edilen D değeri 20 briksde elde edilen değerden 0,67 dakika fazla olarak

belirlenmiş ve istatistiki olarak her iki D değerinin birbirinden farklı olmadığı tespit edilmiştir. D değerinde bir ondalık düşüş elde etmek için gerekli sıcaklık artış miktarını ifade eden Z değeri ise 10 brikslik elma suyunda 13,65°C iken, 20 brikslik elma suyunda 12,20°C olarak bulunmuştur. Buna göre, 10 brikslik elma suyunda D değerinde bir ondalık azalma sağlamak için gerekli olan sıcaklık artışı 20 brikslik elma suyuna göre 1,45°C daha fazladır ve her iki Z değeri arasında istatistiki açıdan önemli fark vardır ($P<0,01$).

Elma suyunda, pH değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 1’de ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.3 Elma Suyunda pH değişkenine ait ortalama $\log(N/N_0)$, D ve Z Değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları*

pH	N	$\log(N/N_0)$	D (dakika)	Z (°C)
3,5	80	-0,437 a	47,40 a	12,200 a
4	80	-0,385 a	44,31 a	14,150 b

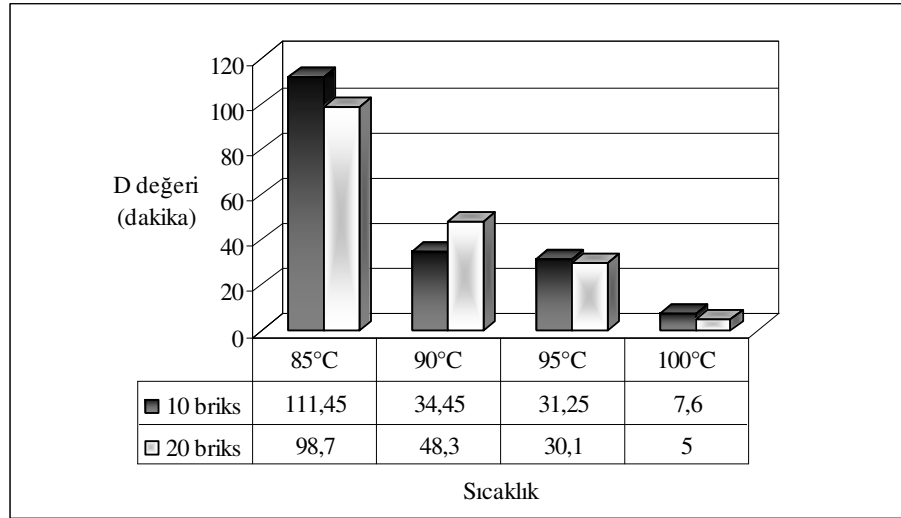
* Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farksız ($P>0,05$), farklı harfler ise birbirinden farklıdır ($P<0,01$)

Tablo 3.3’de verilen değerlerden de hesaplanabileceği üzere pH 4’de elde edilen $\log(N/N_0)$ değeri pH 3’de elde edilen değerden %13,5 daha fazladır. Diğer taraftan pH’deki yükselişe bağlı olarak D değerinde 3,09 dakikalık bir düşüş tespit edilmiş ise de bu değerler istatistiki açıdan birbirinden farklı bulunmamıştır. Genel olarak elma suyunda 3,5 pH’ya göre 4 pH’da Z değerinde artış olduğu ve değerler arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunduğu belirlenmiştir ($P<0,01$).

Elma suyu ortamında farklı sıcaklıklarda briks, pH ve süre değişkenlerine ait $\log(N/N_0)$, D değerleri varyans analizi sonuçları Ek Tablo 2, Ek Tablo 3, Ek Tablo 4 ve Ek Tablo 5’de yer almaktadır.

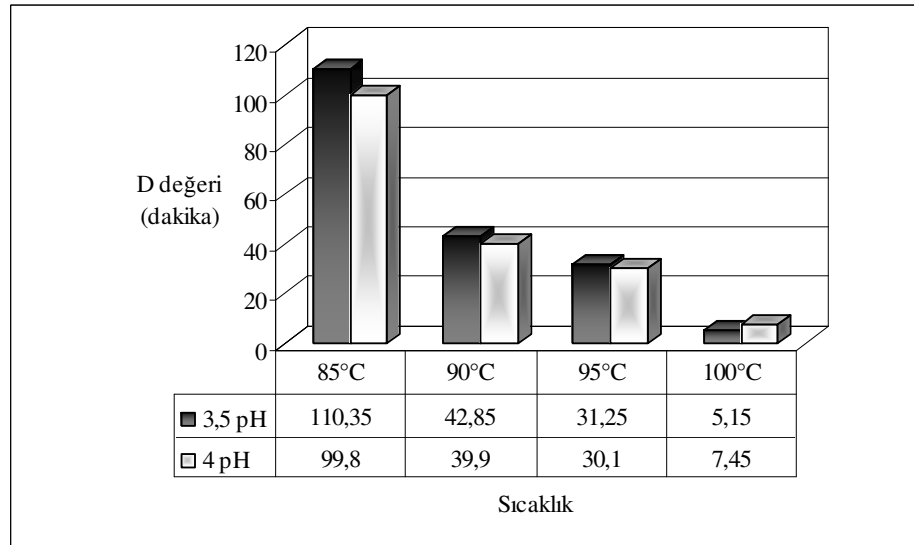
10 ve 20 briksde elde edilen D değerleri 90°C dışındaki tüm sıcaklıklarda briksin yükselmesine bağlı olarak azalmış, ancak 90°C’de bunun tersine bir durum gözlenmiştir. 85, 90 ve 100°C’lerde her iki briksde elde edilen D değerleri arasında istatistiki olarak önemli seviyede fark varken ($P<0,01$), 95°C’de brikse bağlı olarak D değerleri arasında fark bulunamamıştır. Hem 10 briks hem de 20 briksde sıcaklığın

artışına bağlı olarak D değerinde belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Elma suyu örneğinde, briks ve sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak elde edilen D değerlerindeki değişim Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Elma suyu ortamında briks X sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak D değerlerindeki değişim

pH ve sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak elde edilen D değerleri Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2 Elma suyu ortamında pH X sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak D değerlerindeki değişim

Şekil 3.2’de görüldüğü gibi hem pH 3,5 hem de pH 4’de ısıtma sıcaklığının artışıyla D değerinde düşüş gözlenmektedir. 85°C’de pH’nın artışıyla D değerinde bir azalma olmuş ve bu değerler istatistiki açıdan farklı bulunmuştur (P<0,01). 90 ve 95°C’lerde de D değerlerinde aynı yönlü bir azalma olmasına rağmen bu sıcaklıklarda pH 3,5 ve 4’de elde edilen D değerleri arasında fark bulunmamıştır. 100°C’de ise diğer üç sıcaklığın aksine 4 pH’da elde edilen D değeri pH 3,5’a göre daha yüksek bulunmuştur ve her iki pH için D değerleri arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

Pontius vd (1998) yaptıkları çalışmada model meyve suyu ortamında *A.acidoterrestis* sporlarının ısıtma dayanıklılığına düşük sıcaklıklarda pH’nın etkisinin (91°C) olduğunu, ancak yüksek sıcaklıklarda (97°C) pH’nın etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Ayrıca *Alicyclobacillus acidocaldarius*’un pH’sı 4 ve 7’ye ayarlanan McIlvaine citrate-phosphate tamponunda gösterdikleri ısıtma dayanıklılıklarında fark olmadığı bildirilmiştir (Palop vd 2000). pH ve ısıtma sıcaklığının *A. acidoterrestis* AB-1 sporlarının ısıtma dayanıklılığına etkisi üzerine yapılan diğer bir çalışmada (Murakami vd 1998) elde edilen sonuçlar Tablo 3.4’de gösterilmiştir. Tablo 3.4’de verilen değerlerden de görülebileceği gibi sıcaklık artışına bağlı olarak D değerlerinde belirgin bir azalma olmasına rağmen pH 3-8 aralığında D değerleri anlamlı bir şekilde değişmemiştir. Sonuç olarak, araştırmacılar McIlvaine tampon ortamında *A.acidoterrestis* sporlarının ısıtma dayanıklılığı üzerine ortam pH etkisinin belirlenemediğini ifade etmişlerdir.

Tablo 3.4 *A. acidoterrestis* AB-1 sporlarının McIlvaine tamponunda değişik pH ve sıcaklıklarda D değerleri (Murakami vd 1998).

pH	Sıcaklık (°C)			
	88	90	92	95
3,0	24,1	14,8	6,2	2,7
4,0	25,9	16,1	6,1	2,8
5,0	29,1	16,6	7,1	2,7
6,0	25,9	16,8	6,8	2,3
7,0	24,7	15,7	6,7	2,2
8,0	25,7	16,1	5,7	2,3

Gerçekleştirilen bu araştırmamızda elma suyu ortamında, sıcaklık değişkenine bağlı olarak elde edilen log (N/N₀) ve D değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 1’de ve Duncan oklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 3.5’de verilmiştir.

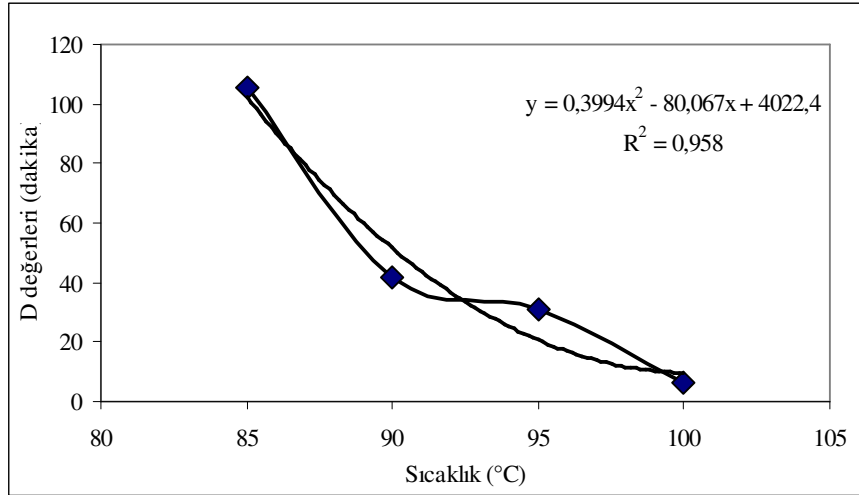
Tablo 3.5 Elma suyunda sıcaklık değişkenine ait log (N/N₀) ve D değerleri ile Duncan oklu karşılaştırma test sonuçları*

Sıcaklık (°C)	n	log(N/N ₀)	D (dakika)
85	40	-0,7143 c	105,7 a
90	40	-0,4333 b	41,38 b
95	40	-0,1481 a	30,68 c
100	40	-0,3491 b	6,30 d

* Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farksız (P>0,05), farklı harfler ise birbirinden farklıdır (P< 0,01)

Tablo 3.2, 3.3 ve 3.5’in birbirleri ile karşılaştırılarak incelenmesinden, *A.acidoterrestri*s sporlarının elma suyu ortamında ısıl dayanıklılıklarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada, ısıl dayanıklılığın temel göstergesi niteliğinde olan D değeri üzerine briks, pH ve sıcaklık faktörleri içerinde en önemli etkiye sahip faktörün sıcaklık olduğu görülecektir. Nitekim, sıcaklığın yükselmesine bağlı olarak D değerindeki düşüş Tablo 3.5’de açık Şekilde görülmektedir. Elde edilen bu değerler istatistiki olarak da birbirinden önemli Şekilde farklıdır (P<0,01). Literatürde *A.acidoterrestri*s sporlarının ve değişik Alicyclobacillus türlerine ait sporların D değerlerinin ısıl işlem sıcaklığındaki artışa paralel olarak belirgin bir Şekilde azaldığı, bununla birlikte benzer sıcaklıklar için belirlenmiş olan D değerlerinin birbirinden oldukça farklı olduğu belirlenmiştir. Nitekim, Splittstoesser vd (1994) elma suyu ortamında *A. acidoterrestri*s VF sporları ile yaptıkları çalışma sonucunda D₈₅=56 dakika, D₉₀= 23 dakika, D₉₅= 2,8 dakika ve Z değerini ise 7,7°C elde edilmiştir. Yine Avustralya’da izole edilen Alicyclobacillusların elma suyu ortamında D₉₅ değerinin 2,1-2,5 arasında olduğu bildirilmiştir (Jensen 2000). Bulunan bu değerler Splittstoesser vd’de (1994) belirlenen değerlerle benzerlik göstermektedir. Diğer tarafta aynı konuyla ilgili diğer bir çalışmada da 90°C sıcaklığın 1 dakika uygulanmasıyla elma suyu ortamındaki *A. acidoterrestri*s sporlarının sayısında önemli azalma olmadığı tespit edilmiştir (Lee vd 2002). Ayrıca Palop vd (2000) *A. acidocaldarius*’ un D değerini distile su ortamında D₁₁₀=3,7, D₁₁₅=0,48, D₁₂₀=0,11, D₁₂₅=0,024 dakika olarak bulmuşlardır. Görüldüğü gibi bu sonuçlar oldukça yüksek değerlerdir. Farklı sıcaklık

uygulamasına bağılı olarak elde edilen D değerlerindeki değişim ayrıca Şekil 3.3’de gösterilmiştir. Görüldüğü üzere, araştırmacılar tarafından belirlenmiş değerler hem bu çalışma sonuçları ile hem de kendi aralarında farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar, incelenen tür ve suşların farklı olmasından, ısıl işlem ortamlarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.



Şekil 3.3 Sıcaklığa bağılı olarak D değerlerinin değişimi

D değerlerinin sıcaklığa bağılı olarak değişimi 2. dereceden denkleme uygundur ve korelasyon katsayısı oldukça yüksek bulunmuştur ($R^2 = 0,958$).

Her bir sıcaklık uygulamasında belirlenmiş olan süreler için $\log(N/N_0)$ değerleri Tablo 3.6’da verilmiştir.

Tablo 3.6 Elma suyunda sıcaklık X süre değişkenlerine ait $\log(N/N_0)$ değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları¹

Süre	Sıcaklık (°C)			
	85 **	90 **	95 **	100 *
1	-0,3550 a	-0,2784 a	-0,5246 a	-0,2261 a
2	-0,5605 ab	-0,2896 a	-0,8231 ab	-0,2981 a
3	-0,7895 bc	-0,4625 ab	-0,1016 ab	-0,3411 ab
4	-0,8941 c	-0,5077 ab	-0,1808 b	-0,3959 ab
5	-0,9726 c	-0,6285 b	-0,3233 c	-0,4843 b

¹Parametrelerde, aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır.

**($P < 0,01$), * ($P < 0,05$)

Isıl işlem süresindeki artışa paralel olarak, canlı kalan *A.acidoterrestri*s sayısı (N) azaldığı için, $\log (N/N_0)$ değerleri zamana bağlı olarak azalmıştır. Hemen tüm sıcaklıklarda, her bir zaman için elde edilen $\log (N/N_0)$ değerlerinin genel olarak istatistiki açıdan birbirlerinden farklı olmadığı görülmektedir. Kuşkusuz bunun en muhtemel nedeni zaman aralıklarının birbirine yakın seçilmiş olması olabilir. Diğer taraftan ise Tablo 3.6’da görülen dikkat çekici bir husus, ısıl işlem sıcaklığının artmış olmasına rağmen $\log (N/N_0)$ değerlerinin bazı uygulamalarda daha büyük bir değer olarak elde edilmiş olmasıdır. Bu durum da ısıl işlem uygulamasında örnekleme zamanının her bir sıcaklıkta farklı olmasından kaynaklanmıştır.

3.2. Portakal Suyu Ortamında *A. acidoterrestri*’in Isıl Dayanıklılığının Belirlenmesine Ait Bulgular

Çalışmanın ısıl işlem ortamı olarak portakal suyunun kullanıldığı bu kısımda farklı briks ve pH değerlerine sahip ortamlarda *A. acidoterrestri* sporlarının ısıl dayanıklılığını gösteren $\log (N/N_0)$, D ve Z değerlerinin yer aldığı veriler Tablo 3.7’de gösterilmiştir.

Tablo 3.7 Portakal suyu ortamında briks, pH ve sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak hesaplanan $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri

Briks	pH	Sıcaklık (°C)	Süre	Log(N/N ₀)	D (dakika)	Z (°C)
10	3,5	85	20'	-0,570	93,5	10,9
			40'	-0,685		
			60'	-0,673		
			80'	-1,010		
			100'	-1,242		
		90	5'	-0,387	36,5	
			10'	-0,603		
			15'	-0,607		
			20'	-0,640		
		95	25'	-0,802	20,8	
			30 s	-0,331		
			60 s	-0,324		
			120 s	-0,336		
		100	240 s	-0,414	3,3	
			480 s	-0,428		
			10 s	-0,367		
30 s	-0,460					
			60 s	-0,564		
			90 s	-0,627		
			120 s	-0,757		

(Devamı arkada)

10	4	85	20'	-0,368	120,5	9,4
			40'	-0,536		
			60'	-0,712		
			80'	-0,817		
			100'	-0,861		
		90	5'	-0,394	30,9	
			10'	-0,572		
			15'	-0,692		
			20'	-0,737		
			25'	-0,905		
		95	30 s	-0,067	20,8	
			60 s	-0,107		
			120 s	-0,153		
			240 s	-0,253		
			480 s	-0,418		
100	10 s	-0,207	2,3			
	30 s	-0,493				
	60 s	-0,687				
	90 s	-0,723				
	120 s	-0,993				
20	3,5	85	20'	-0,331	88,5	11,5
			40'	-0,573		
			60'	-0,734		
			80'	-1,008		
			100'	-1,152		
		90	5'	-0,255	35,3	
			10'	-0,451		
			15'	-0,600		
			20'	-0,651		
			25'	-0,726		
		95	30 s	-0,063	16,7	
			60 s	-0,084		
			120 s	-0,150		
			240 s	-0,256		
			480 s	-0,411		
100	10 s	-0,214	4			
	30 s	-0,290				
	60 s	-0,417				
	90 s	-0,515				
	120 s	-0,563				
20	4	85	20'	-0,407	123,5	9,4
			40'	-0,536		
			60'	-0,713		
			80'	-0,792		
			100'	-0,844		
		90	5'	-0,343	36,1	
			10'	-0,428		
			15'	-0,518		
			20'	-0,666		
			25'	-0,754		

(Devamı arkada)

20	4	95	30 s	-0,140	16,7
			60 s	-0,259	
			120 s	-0,282	
			240 s	-0,400	
			480 s	-0,566	
	100	10 s	-0,277	2,7	
		30 s	-0,396		
		60 s	-0,604		
		90 s	-0,697		
		120 s	-0,817		

Tablo 3.7'den görüleceği üzere, elma suyu ortamında gerçekleştirilen ısı işlem uygulamasında olduğu gibi, portakal suyu ortamında yürütülen çalışma sonucunda da her iki briks ve pH için ortam sıcaklığının artışına paralel olarak $\log(N/N_0)$ ve D değerleri azalmıştır. Bu sonucun, diğer mikroorganizmalar için olduğu gibi *A.acidoterrestis* sporlarının ısı ile yok edilmesinde sıcaklığın belirgin etkisi olduğunu ortaya koyması açısından kayda değer olduğu düşünülmektedir.

Portakal suyunda briks değişkenine göre elde edilen verilere göre hesaplanan $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 6'da ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 3.8'de yer almaktadır.

Tablo 3.8 Portakal suyunda briks değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları**

Briks	n	$\log(N/N_0)$	D (dakika)	Z (°C)
10	80	-0,5635 a	41,08 a	10,150a
20	80	-0,4976 a	40,44 a	10,450 b

** Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır (P>0,05), farklı harfler ise birbirinden farklıdır (P<0,05)

Tablo 3.8'de 10 ve 20 brikslik portakal suyu ortamı için belirlenmiş olan $\log(N/N_0)$ değerleri arasında %13,2'lik fark olduğu, briks artışında $\log(N/N_0)$ değerinin artmış olduğu tespit edilmesine rağmen bu değerlerin istatistiki olarak birbirinden farklı olmadığı görülmektedir. D değerinde ise $\log(N/N_0)$ 'ın aksine briks değerinin artmasıyla azalma gözlenmiştir. Ancak bu azalış istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır. *A.acidoterrestis* sporlarının ısı dayanıklılığının diğer bir göstergesi olan Z değeri ise elma suyu ortamında gerçekleştirilen çalışma sonucunun aksine yüksek briks değerinde daha büyük bulunmuş ve brikse bağlı olarak Z değerleri arasında bulunan bu farklılığın istatistiki açıdan önemli olduğu (P<0,05) tespit edilmiştir.

pH'nin değişmesine bağlı olarak $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 6'da ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 3.9'da verilmiştir.

Tablo 3.9 Portakal suyu ortamında pH değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z Değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları*

pH	n	$\log(N/N_0)$	D (dakika)	Z (°C)
3,5	80	-0,5324 a	37,33 a	11,200 a
4	80	-0,5288 a	44,19 a	9,400 b

* Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farksız ($P>0,05$), farklı harfler ise birbirinden farklıdır ($P<0,01$)

Portakal suyu ortamında pH'nın artışına bağlı olarak $\log(N/N_0)$ değerinde bir artış saptanmış, ancak bu artış istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Diğer taraftan 3,5 pH'da D değeri 37,33 dakika olarak bulunurken, pH 4'de 44,19 olarak bulunmuştur. 0,5 birimlik pH artışıyla D değerinde %18,38'lik bir artış gerçekleşmiş olmasına rağmen, D değerleri arasındaki bu fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Z değeri ise D değerinin aksine pH'nın artışıyla azalmıştır. pH 3,5'deki 11,2°C'lik Z değeri pH 4'de 9,4°C olarak tespit edilmiş, bu azalış istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Briks değişkenine göre verilen Tablo 3.8 ile pH değişkenine göre verilmiş olan Tablo 3.9 birbirleri ile karşılaştırılarak incelendiğinde, $\log(N/N_0)$ ve D değerlerinin briks ve pH değişimlerine bağlı olarak değiştiiği, parametrelerdeki değişimlerin istatistiki olarak birbirlerinden farklı olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte, hem briks hem de pH değişkenlerinin Z değerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken, briks ve pH değişkenine göre parametrelerde artış ve azalış şeklinde gerçekleşen değişimlerin beklenen sonuçlarla daima paralellik göstermediği saptanmıştır.

Bu konuyla ilgili yapılan çalışmada ise, 3,5 pH ve 9 briks çözünür kuru madde değerlerine sahip portakal suyu ortamında *A. acidoterrestris* sporları ısıya oldukça dayanıklı bulunmuştur (Suşa bağlı olarak $D_{85}= 60.8-94.5$ dakika, $D_{90}= 10.0-20.6$ dakika, $D_{95}= 2.5-8.7$ dakika aralığında tespit edilmiştir) (Eiroa vd 1999). Silva vd (1999) ise 11,7 briks ve 3,5 pH değerlerine sahip portakal suyunda *A. acidoterrestris* (NCIMB 13137) sporlarının $D_{85}= 41,9$ dakika, $D_{91}= 2,32$ dakika olarak saptamışlardır.

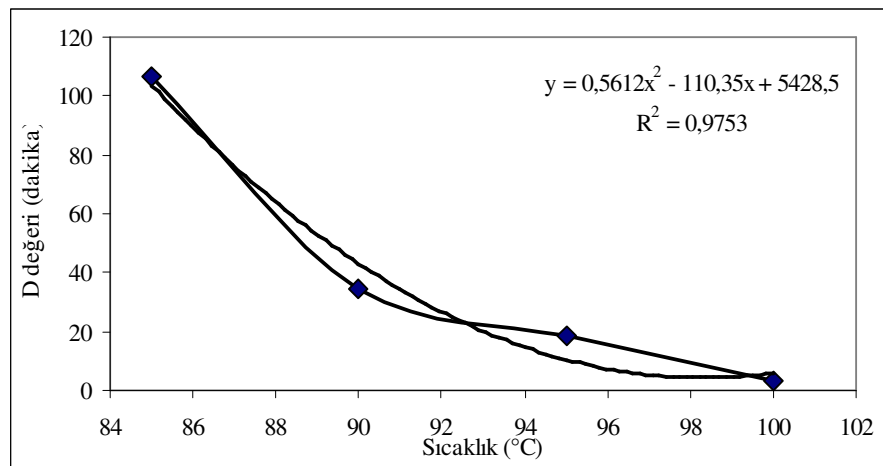
Sıcaklık değişkenine bağlı olarak portakal suyunda elde edilen $\log(N/N_0)$ ve D değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 6'da ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 3.10'da gösterilmiştir.

Tablo 3.10 Portakal suyunda sıcaklık değişkenine ait $\log(N/N_0)$ ve D değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Sıcaklık (°C)	n	$\log(N/N_0)$	D (dakika)
85	40	-0,7287 c	106,5 a
90	40	-0,5871 b	34,70 b
95	40	-0,2726 a	18,75 c
100	40	-0,5340 b	3,07 d

* Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farksız ($P>0,05$), farklı harfler ise birbirinden farklıdır ($P<0,01$)

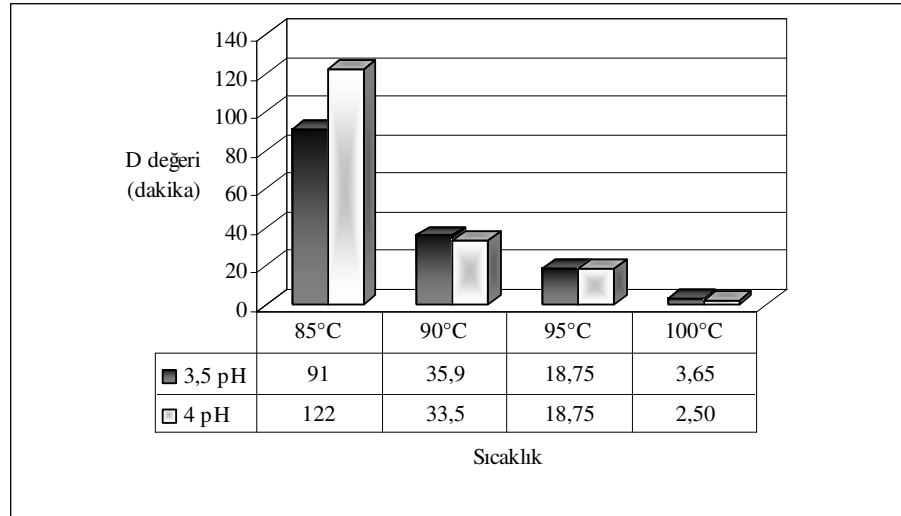
Dört farklı sıcaklıkta elde edilen $\log(N/N_0)$ değerleri 85°C'den başlayıp 95°C'ye kadar artıp, ancak 100°C'de azalmıştır. 90 ve 100°C sıcaklıklar için $\log(N/N_0)$ değerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmazken, diğer sıcaklıklarda birbirinden farklı bulunmuştur ($P<0,01$). Sıcaklıklara göre elde edilmiş olan $\log(N/N_0)$ değerlerinden anlaşılacağı üzere *A. acidoterrestris* sporlarının ısıl redüksiyonu üzerine en önemli etkiyi gösteren sıcaklıklar sırasıyla 85, 90 ve 100°C olmuştur. Kuşkusuz burada her bir sıcaklık için seçilen ısıl işlem sürelerinin diğerlerinden farklı olması etkili olmuştur. Şekil 3.4'de sıcaklık değişimine bağlı olarak D değerlerinde meydana gelen değişim grafik edilmiştir.



Şekil 3.4 Portakal suyu ortamında sıcaklığa bağlı olarak D değerlerinin değişimi

Tablo 3.10 ve Şekil 3.4'den görülebileceği gibi D değerlerinde sıcaklık artışıyla belirgin bir azalma meydana gelmiş ve her bir sıcaklık için hesaplanan değerler istatistiki olarak da birbirinden önemli şekilde farklı bulunmuştur ($P<0,01$). Bu çalışmada uygulanan en düşük sıcaklık derecesinde (85°C) elde edilen D değeri ile en yüksek sıcaklıkta (100°C) elde edilen D değeri arasında 103,43 dakikalık fark vardır. Sıcaklığa bağlı olarak portakal suyu ortamında yapılan bazı araştırma sonuçlarına göre *Alicyclobacillus acidocaldarius*'un 100°C 'deki D değeri 3,9 dakika, 115°C 'deki D değeri 0,61 dakika, 120°C 'deki D değeri 0,087 dakika ve 125°C 'deki D değeri ise 0,027 olarak bulunmuştur. Değerlerden de anlaşıldığı üzere bu suşun ısıl dayanıklılığı oldukça yüksektir. *A. acidoterrestriis* sporlarının ısıl dayanıklılığı $D_{85}=57$ dakika, $D_{90}=16$ dakika, $D_{95}=2,4$ olarak belirlenmiştir (Splittstoesser vd 1994).

Portakal suyunda D değerlerinin sıcaklıkla değişimi 2. dereceden denklem şeklindedir ve korelasyon sayısı yüksektir ($R^2=0,973$). Sıcaklık ve pH değişkenlerine göre elde edilen D değerlerinin grafiği Şekil 3.5'de verilmiştir.



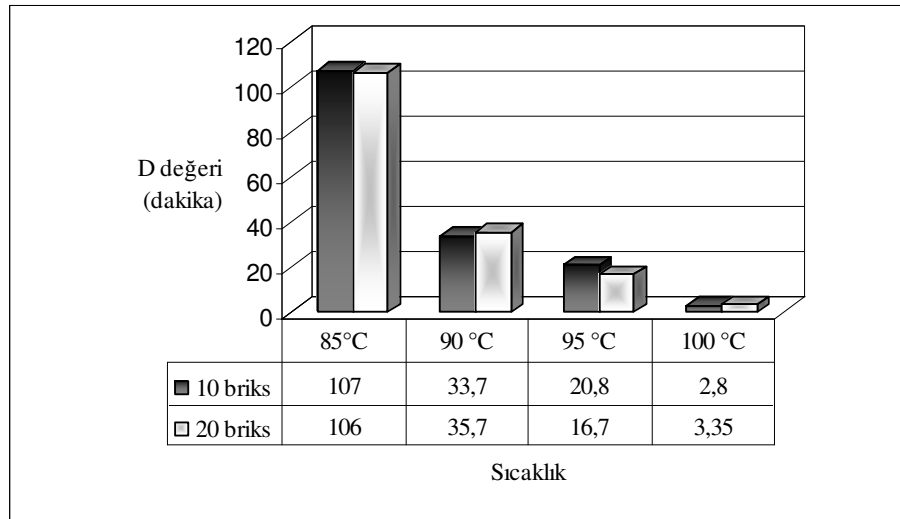
Şekil 3.5 Portakal suyu ortamında pH X sıcaklık değişkenlerine bağlı D değerleri

Portakal suyu ortamında farklı sıcaklıklarda briks, pH ve süre değişkenlerine bağlı $\log(N/N_0)$ ve D değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 7, Ek Tablo 8, Ek Tablo 9 ve Ek Tablo 10' da verilmiştir.

85°C 'de pH 4'de elde edilen D değeri pH 3'e göre daha büyüktür ve bu değerler arasındaki fark oldukça önemlidir ($P<0,01$). 90 ve 100°C 'lerde ise 85°C 'deki durumun

tersine pH'nın artışıyla D değeri düşmüştür. Her iki sıcaklıkta da pH'ya göre D değerleri arasında istatistiki açıdan çok önemli fark vardır ($P<0,01$). 95°C 'de gerçekleşen ısıl işlem uygulamasında ise her iki pH için de aynı değer elde edilmiştir. Pontius vd (1998), *A. acidoterrestis* VF suşu için pH'sı 3.1'e ayarlanmış malik asit ortamında $D_{91}= 31,3$, $D_{97}= 7,9$ dakika, yine malik asit ortamında bu defa 3,7 pH değerinde $D_{91}= 54,3$, $D_{97}= 8,8$ dakika değerlerini belirlemişlerdir. Araştırmacıların pH artışına bağlı olarak aynı sıcaklık ortamlarında D değerlerinin yükseldiğini ortaya koyan sonuçları, bu araştırmada 85°C ' lik ısıl işlem sıcaklığında elde edilen sonuçla paralellik gösterirken diğer sıcaklıklar için bulunan sonuçlarla tezat oluşturmaktadır.

Briks ve sıcaklık değişkenlerine bağlı olarak, portakal suyu ortamında *A.acidoterrestis* sporları için tespit edilen D değerlerinin değişimi Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6 Portakal suyunda briks X sıcaklık değişkenlerine bağlı D değerleri

Şekil 3.6'da portakal suyu ortamında briks ve sıcaklık değerlerinin değişmesiyle D değerlerinin de değiştiği, ancak bu değişikliğin bir sistematığe bağlı olmadığı görülebilmektedir. Nitekim, 90 ve 100°C 'lik sıcaklıklarda 20 brikslik portakal suyu ortamında elde edilen D değerleri 10 briksde elde edilen değerlerden daha büyük iken, 85 ve 95°C 'lerde tam tersine, 10 brikslik ortam için 20 brikslik ortama göre daha büyük D değeri bulunmuştur. Diğer taraftan 90, 95 ve 100°C ' lik sıcaklıklarda her iki briks için elde edilen D değerleri istatistiki olarak birbirlerinden çok önemli seviyede ($P<0,01$) farklı iken, 85°C 'de her iki briks arasında fark önemli bulunmamıştır.

Portakal suyu ortamında yürütülen bu çalışma sonucunda hem briks hem de pH değişkenlerine bağlı olarak elde edilen Z değerleri 9,4°C'den 11,5°C'ye kadar değişmektedir (Bkz. Tablo 3.8, Tablo 3.9). Ortalama değerler göz önüne alındığında briksin artışıyla Z değerinde artış olduğu, ancak pH'nın artışıyla azalma meydana geldiği ve bu artış ve azalışın istatistiki açıdan önemli ($P < 0,01$) olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan Pontius vd (1998) ise yaptıkları çalışmada Z değerinin suşa, aside ve pH'ya bağlı olarak değişmediğini ortaya koymuşlardır. Diğer bir çalışmada da portakal suyunda Z değeri 6,8°C olarak saptanmış ve farklı ortamlarda Z değerinde anlamlı değişiklik olmadığı bildirilmiştir (Palop vd 2000).

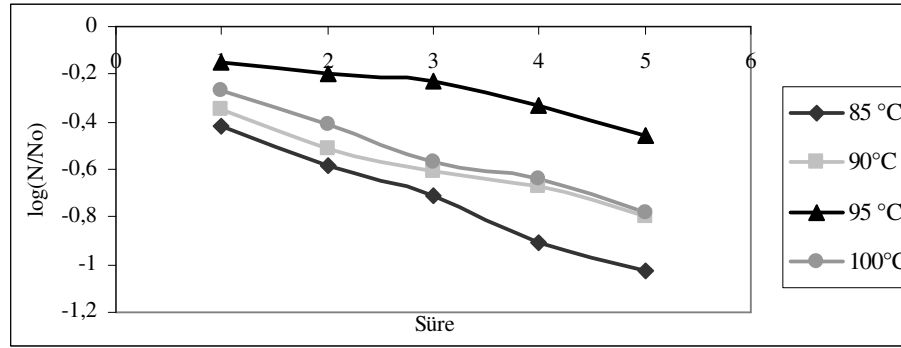
Tablo 3.11'de dört farklı sıcaklıkta ısıtma sürelerine bağlı olarak bulunan $\log(N/N_0)$ değeri gösterilmiştir.

Tablo 3.11 Portakal suyunda sıcaklık X süre değişkenine ait $\log(N/N_0)$ değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları*

Süre	Sıcaklık (°C)			
	85	90	95	100
1	-0,4193 a	-0,3455 a	-0,1505 a	-0,2670 a
2	-0,5831 ab	-0,5138 b	-0,1938 a	-0,4103 ab
3	-0,7085 b	-0,6047 b	-0,2307 a	-0,5686 bc
4	-0,9072 c	-0,6741 bc	-0,3324 ab	-0,6411 cd
5	-1,0255 c	-0,7973 c	-0,4564 b	-0,7829 d

* Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farksız ($P > 0,05$), farklı harfler ise birbirinden farklıdır ($P < 0,01$)

Tablo 3.11'den açıkça görülebileceği üzere, her bir sıcaklık için ısıtma süresinin artışına bağlı olarak *A. acidoterrestris* sporlarında belirgin bir redüksiyon oranı saptanmıştır. Benzer bir durum sıcaklık artışına göre redüksiyon oranlarının karşılaştırılması sonucunda da görülmektedir. Dolayısıyla redüksiyon oranı üzerine işlem sıcaklığı kadar, uygulama süresinin de önemli olduğu ifade edilebilir. Isıtma işlem sıcaklığı ve süresinin $\log(N/N_0)$ değerlerine ve dolayısıyla da redüksiyon oranı üzerine belirtilmiş olan etkisi Şekil 3.7'den daha net görülebilmektedir.



Şekil 3.7 Süre ve sıcaklığa bağlı olarak elde edilen $\log(N/N_0)$ değerleri

3.3. Malt Ekstrakt Broth Ortamında *A. acidoterrestis*'in Isıl Dayanıklılığının Belirlenmesine Ait Bulgular

A. acidoterrestis sporlarının ısıl dayanıklılığı üzerine farklı ortamların denendiği bu araştırmada, malt ekstrakt broth ortamı kullanılarak farklı briks, pH, sıcaklık ve süreler için elde edilen $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri Tablo 3.12'de sıcaklık ve süre değişkenlerine göre $\log(N/N_0)$, D ve Z değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları da Tablo 3.13'de verilmiştir.

Tablo 3.12 Malt ekstrakt broth uygulamasında briks, pH, sıcaklık ve süreye bağlı, genel olarak elde edilen ortalama $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri

Brix	pH	Sıcaklık (°C)	Süre	Log(N/N ₀)	D (dakika)	Z (°C)
10	3,5	85	20'	-0,528	82,64	12,8
			40'	-0,765		
			60'	-0,963		
			80'	-1,070		
			100'	-1,322		
		90	5'	-0,253	20,7	
			10'	-0,428		
			15'	-1,053		
			20'	-1,051		
		95	25'	-1,091	10,4	
			30 s	-0,153		
			60 s	-0,206		
			120 s	-0,307		
240 s	-0,398					
			480 s	-0,851		

(Devamı arkada)

		100	10 s	-0,067	5,2	
			30 s	-0,129		
			60 s	-0,291		
			90 s	-0,296		
			120 s	-0,401		
10	4	85	20'	-0,384	104,2	9,8
			40'	-0,629		
			60'	-0,824		
			80'	-0,816		
			100'	-1,022		
		90	5'	-0,269	24,9	
			10'	-0,412		
			15'	-0,753		
			20'	-0,815		
			25'	-0,995		
		95	30 s	-0,278	11,1	
			60 s	-0,396		
			120 s	-0,403		
			240 s	-0,511		
			480 s	-0,866		
		100	10 s	-0,390	2,7	
			30 s	-0,629		
			60 s	-0,807		
			90 s	-0,744		
			120 s	-0,904		
20	3,5	85	20'	-0,861	73,5	11,1
			40'	-1,082		
			60'	-1,297		
			80'	-1,470		
			100'	-1,495		
		90	5'	-0,363	33	
			10'	-0,475		
			15'	-0,599		
			20'	-0,695		
			25'	-0,835		
		95	30 s	-0,273	13,9	
			60 s	-0,293		
			120 s	-0,389		
			240 s	-0,481		
			480 s	-0,701		
		100	10 s	-0,411	3,1	
			30 s	-0,615		
			60 s	-0,679		
			90 s	-0,723		
			120 s	-0,837		
20	4	85	20'	-0,049	107,5	10,7
			40'	-0,259		
			60'	-0,506		
			80'	-0,569		
			100'	-0,916		

(Devamı arkada)

	90	5'	-0,218	30,4
		10'	-0,345	
		15'	-0,519	
		20'	-0,587	
		25'	-0,878	
	95	30 s	-0,018	23,8
		60 s	-0,217	
		120 s	-0,072	
		240 s	-0,163	
		480 s	-0,616	
	100	10 s	-0,198	3,2
		30 s	-0,305	
		60 s	-0,347	
		90 s	-0,563	
		120 s	-0,711	

Malt ekstrakt broth ortamında değişik sıcaklıklarda briks, pH, süre değişkenlerine ait $\log(N/N_0)$ ve D değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 12, Ek Tablo 13, Ek Tablo 14 ve Ek Tablo 15'de verilmiştir.

Tablo 3.13 Malt ekstrakt broth ortamında sıcaklık X süre değişkenine göre $\log(N/N_0)$ değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları*

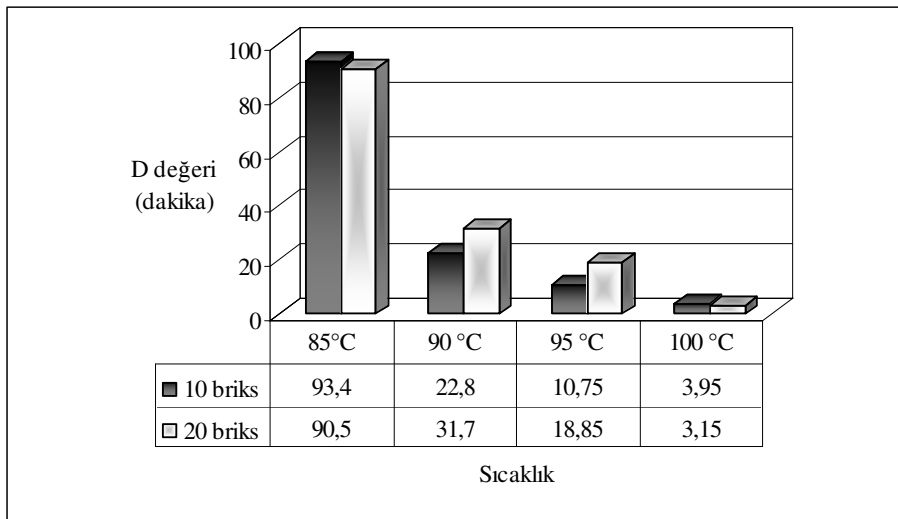
süre	Sıcaklık (°C)			
	85	90	95	100
1	-0,4559 a	-0,2763 a	-0,1811 a	-0,2669 a
2	-0,6844 ab	-0,4296 a	-0,2786 ab	-0,4202 ab
3	-0,8982 ab	-0,7314 b	-0,2936 ab	-0,5313 ab
4	-0,9816 b	-0,7874 bc	-0,3888 b	-0,5820 ab
5	-1,1893 b	-0,9502 c	-0,7587 c	-0,7138 b

* Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farksız ($P>0,05$), farklı harfler ise birbirinden farklıdır ($P<0,01$)

Malt ekstrakt broth ortamında ısıl işlem sıcaklığı ve süresinin *A. acidoterrestis* sporlarının ölüm oranı üzerine belirlenmiş olan değerlerin gösterildiği Tablo 3.13, portakal suyu ortamı için aynı faktörlerin ölüm oranına etkisini gösteren Tablo 3.11 ile karşılaştırıldığında sıcaklık ve süre değişkenlerinin *A. acidoterrestis* sporlarına etkisinin her iki ortam için büyük bir benzerlik gösterdiği saptanabilir. Denenen sıcaklıklar içinde en fazla redüksiyon oranı 95°C'de elde edilmiş olmakla birlikte, her bir sıcaklık uygulamasında, belirlenmiş olan işlem sürelerine ait $\log(N/N_0)$ değerlerinin genelde birbirlerine çok yakın bulunduğu ve yine genelde bu değerler arasında istatistiki olarak önemli fark olmadığı tespit edilmiştir. Kuşkusuz bu sonuç uygulanan her bir

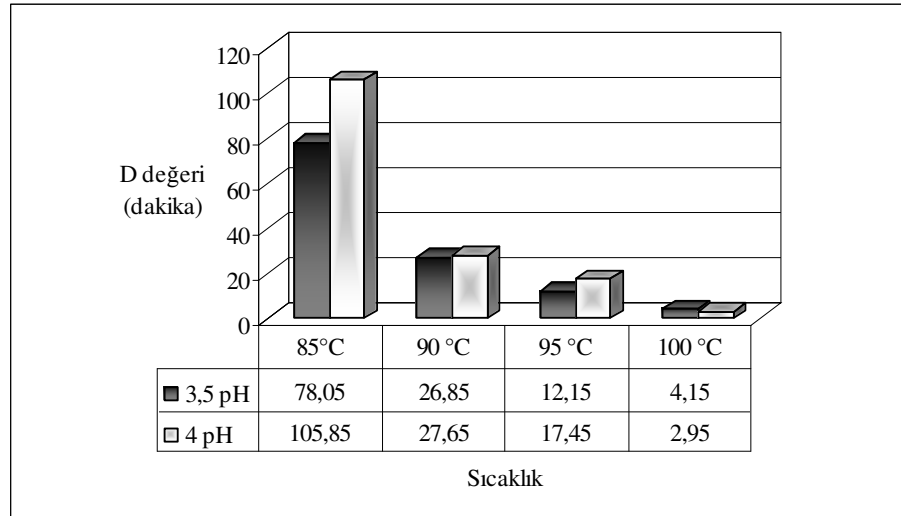
sıcaklık için belirlenmiş olan ısıl işlem süreleri arasındaki farkın yakın olması ile de ilişkilendirilebilir.

Malt ekstrakt broth ortamında briks ve sıcaklık değişkenlerinin birlikte etkisinin D değerlerinde meydana getirdiği değişim Şekil 3.8’de gösterilmiştir. Malt ekstrakt broth ortamında 85°C’de briks değişimine bağlı olarak tespit edilen D değerleri arasında fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Diğer taraftan, 90, 95 ve 100°C’lerde her iki briks için tespit edilen D değerleri arasında istatistiki olarak önemli ($P<0,01$) fark bulunduğu belirlenmiştir. Briks artışına bağlı olarak D değerlerindeki değişim 85 ve 100°C’lerde azalma yönünde olurken, 90 ve 95°C’lerde briksin artışıyla D değeri de artmıştır. Silva vd (1999) yaptıkları çalışmada malt ekstrakt broth ortamında *A. acidoterrestris* sporlarına ait D değerlerinin düşük sıcaklıklarda briksin yükselmesiyle arttığını, ancak 97°C’de ise briksin değişmesinin D değeri üzerine açık bir etkisinin görülmediğini belirtmişlerdir.



Şekil 3.8 Malt ekstrakt broth ortamında briks X sıcaklık değişkenlerine bağlı D değerleri

Mikroorganizmaların ısıl dayanıklılığı üzerine etkili olan diğer bir faktör pH ve sıcaklığın D değerleri üzerine etkisi Şekil 3.9’da verilmiştir.



Şekil 3.9 Malt ekstrakt broth ortamında pH X sıcaklık değişkenlerine bağlı D değerleri

85, 90 ve 95°C’lerde pH’nın artışıyla D değerlerinde artış gözlenmiştir. Bu artış 85 ve 95°C’de istatistiki olarak önemli ($P<0,01$) bulunurken, 90°C’de ise önemli bulunmamıştır. 100°C’de ise diğer sıcaklıkların aksine pH’nın artışıyla D değeri azalmış ve bu durum istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Silva vd (1999) *A.acidoterrestri*s (NCIMB 13137) sporlarının malt ekstrakt broth ortamında düşük sıcaklıklarda (85°C) pH’nın yükselmesiyle D değerinin yükseldiğini, yüksek sıcaklıklarda (97°C) ise D değerinin pH’nın değişmesinden etkilenmediğini ortaya koymuşlardır.

Briks değişkenine bağlı olarak elde edilen verilerden hesaplanan ortalama $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 11’de ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 3.14’te verilmiştir.

Tablo 3.14 Malt ekstrakt broth ortamında briks değişkenine ait $\log(N/N_0)$, D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları^{**}

Briks	n	$\log(N/N_0)$	D (dakika)	Z(°C)
10	80	-0,6123 a	32,73 a	11,30 a
20	80	-0,5677 a	36,05 a	10,90 b

^{**} Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır ($P>0,05$), farklı harfler ise birbirinden farklıdır ($P<0,05$)

Malt ekstrakt broth ortamında genel olarak $\log(N/N_0)$ değeri briksin artışıyla artmış, her iki briks için bulunan $\log(N/N_0)$ değerlerinin ortalaması dikkate alınarak yapılan hesaplama sonucunda bu artışın %7,28 oranında gerçekleştiği belirlenmiştir. Buna rağmen, brikse bağlı olarak $\log(N/N_0)$ değerindeki bu değişiklik istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır. Benzer şekilde D değeri de briksin 10'dan 20'ye çıkarılmasıyla 32,73 dakikadan 36,05 dakikaya yükselmiş, ancak her iki uygulama arasında önemli seviyede fark tespit edilememiştir. Diğer taraftan 10 briksde 11,30°C olarak elde edilen Z değeri 20 briksde 10,90°C olarak hesaplanmıştır. Briks artışına bağlı olarak Z değerinde saptanan 0,4°C'lik bu düşüş istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Literatürde, konu ile ilgili olarak gerçekleştirilmiş olan benzer bir çalışmada, çözünür kuru madde miktarının mikroorganizmaların ısı direncine etki eden önemli bir parametre olduğu belirtilmiştir. Karagözlü'de (2003) bildirildiğine göre Splittstoesser vd (1998) tarafından yapılan çalışmada *Alicyclobacillus* WAC sporlarının Concard tipi üzüm suyundaki ısı direncine çözünür kuru maddenin etkisini ifade eden D ve Z değerleri Tablo 3.15'de verilmektedir. Tablo 3.15'den görülebileceği gibi D değerleri üzerine sıcaklık kadar briksin de belirgin bir etkisi vardır. Ne varki, Z değeri üzerine briksin etkisinden bahsetmek bu verilere göre zor gözükmektedir. Zira 16 brikse göre 30 brikslik ortam için elde edilmiş olan Z değeri bir miktar düşerken, 65 briks için belirlenen Z değeri diğer iki brikse göre daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 3.15 Briks değişkenine bağlı D değerleri (Karagözlü,2004).

Briks	Sıcaklık (°C)	D (dakika)	Z (°C)
16	85	53	6,9
	90	11	
	95	1,9	
30	85	76	6,6
	90	18	
	95	2,3	
65	85	276	7,4
	90	127	
	95	12	

Aslında, briks artışının ısı dayanıklılığı arttıracığı yönündeki beklenen sonucun çok yüksek briks değerlerinde elde edilebileceğini göstermesi açısından araştırmacılar tarafından saptanmış olan bu sonuç, çalışmamızdaki sonuçları destekler mahiyettedir.

pH ve sıcaklık değişkenlerine ait log (N/N₀), D ve Z değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 11'de ve Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 3.16'da yer almaktadır.

Tablo 3.16 Malt ekstrakt broth ortamında pH değişkenine ait log (N/N₀), D ve Z değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları¹

pH	n	log(N/N ₀)**	D (Dakika)	Z* (°C)
3,5	80	-0,6555 a	30,30 a	11,950 a
4	80	-0,5244 b	38,48 a	10,250 b

¹Parametrelerde, aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır.

*P<0,01

** P< 0,05

Tablo değerlerinden de anlaşılacağı gibi pH'nın 3,5'dan 4'e yükselmesiyle log(N/N₀) değeri -0,6555'den -0,5244'e yükselmiştir. Bu durumda her iki pH arasında log(N/N₀) değerleri açısından istatistiksel anlamda fark yaratmıştır (P<0,05). D değerinde ise briksin artışıyla %26,99 oranında artış olmuş, ancak istatistiki açıdan 3,5 ve 4 pH arasında fark bulunamamıştır. Z değeri ise D değerinin aksine pH'nın artışıyla azalmış ve azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,01).

Malt ekstrakt broth ortamında gerçekleştirilen çalışma sonucunda sıcaklığa bağlı olarak *A. acidoterrestri*s spor sayısındaki değişimin ifadesi olan log(N/N₀) değerleri ile D değerleri Tablo 3.17'de verilmiştir. Ayrıca uygulanan sıcaklıkların D değerine etkisi Şekil 3.10'da grafik halinde verilmiştir.

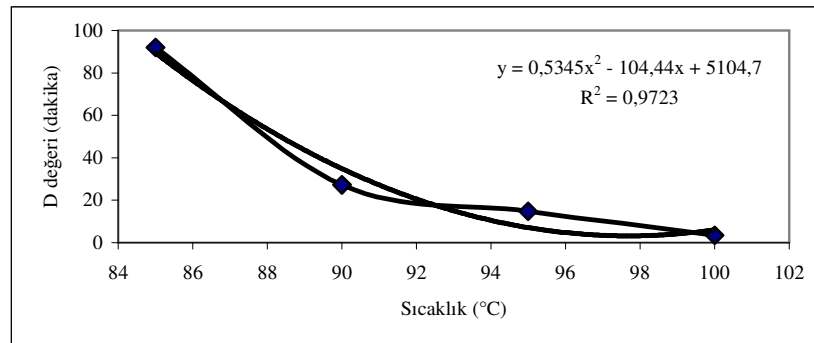
Tablo 3.17 ve Şekil 3.10'dan görüleceği üzere sıcaklık faktörü elma suyu ve portakal suyunda da olduğu gibi D değerleri üzerine etkili en önemli faktördür. Nitekim, ısıtma işlem uygulamasında, sıcaklık değerlerinin 5'er birim artırılması D değerinde belirgin bir düşüşe neden olmuş ve her bir sıcaklık değeri için elde edilmiş olan D değerlerinin istatistiki olarak çok önemli seviyede (P<0,01) farklı olduğu saptanmıştır. Bu konuda Silva vd (1999) tarafından yapılan çalışmada da sıcaklığın D değeri üzerinde etkili en önemli faktör olduğu, sıcaklıktaki küçük bir artışın D değerinde açık bir düşüşe neden olduğu belirtilmiştir. Malt ekstrakt broth ortamında sıcaklık değişkenine ait log (N/N₀) ve D değerleri Varyans analizi sonuçları Ek Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 3.17 Malt ekstrakt broth ortamında sıcaklık değişkenine ait log (N/N₀) ve D değerleri ile Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları*

Sıcaklık (°C)	n	log(N/N ₀)	D (dakika)
85	40	-0,8419 c	91,95 a
90	40	-0,6350 b	27,25 b
95	40	-0,3802 a	14,80 c
100	40	-0,5082 ab	3,55 d

* Aynı sütunda, aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farksız (P>0,05), farklı harfler ise birbirinden farklıdır (P< 0,01)

Yine Tablo 3.17'den görülebileceği gibi *A.acidoterrestriis* sporlarının malt ekstrakt broth ortamında ısıl redüksiyonu üzerine sırasıyla 85, 90 ve 100°C' ilk sıcaklıklar daha etkili bulunmuştur. Diğer taraftan 85, 90 ve 95°C'lik sıcaklıklar için elde edilmiş olan log(N/N₀) değerleri birbirlerinden önemli seviyede (P<0,01) farklı bulunurken, 100 °C'lik sıcaklık için belirlenmiş olan log(N/N₀) değerinin 85 ve 90 °C'lik sıcaklıklar için elde edilen değerlerden istatistiki olarak farklı olmadığı saptanmıştır.



Şekil 3.10 Sıcaklığa bağlı D değerleri

4. GENEL DEĞERLENDİRME VE SONUÇ

4.1. Değerlendirme

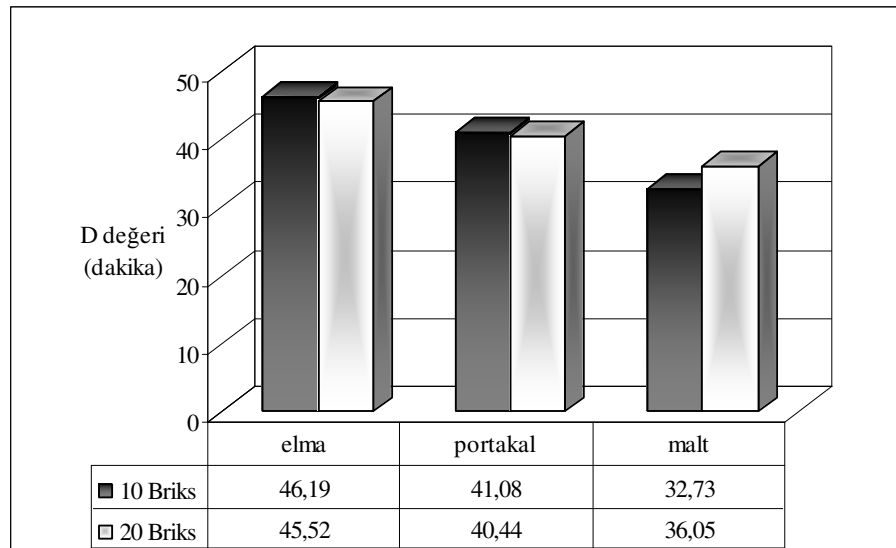
Alicyclobacillus acidoterrestris sporlarının ısı dayanıklılığını belirlemek amacıyla elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında gerçekleştirilmiş olan çalışmada farklı briks, pH ve sıcaklığa ait elde edilen verilere bağlı olarak hesaplanan D ve Z değerlerinin topluca gösterimi Tablo 4.1’de yer almaktadır.

Tablo 4.1 Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında elde edilen verilere göre hesaplanan D ve Z değerleri

			Elma Suyu		Portakal Suyu		Malt Ekstrakt Broth	
Briks	PH	Sıcaklık (°C)	D (')	Z (°C)	D (')	Z (°C)	D (')	Z(°C)
10	3,5	85	117,6	10,9	93,5	10,9	82,64	12,8
		90	32,8		36,5		20,7	
		95	20,8		20,8		10,4	
		100	4,1		3,3		5,2	
10	4	85	105,3	16,4	120,5	9,4	104,2	9,8
		90	36,1		30,9		24,9	
		95	27,8		20,8		11,1	
		100	11,1		2,3		2,7	
20	3,5	85	103,1	13,5	88,5	11,5	73,5	11,1
		90	52,9		35,3		33	
		95	41,7		16,7		13,9	
		100	6,2		4		3,1	
20	4	85	94,3	10,9	123,5	9,4	107,5	10,7
		90	43,7		36,1		30,4	
		95	18,5		16,7		23,8	
		100	3,8		2,7		3,2	

Tablo 4.1’de her üç ortam için elde edilen D değerleri incelenecek olursa, ortamın çözünür kuru madde miktarının D değerini belirgin bir şekilde ve belirgin bir yönde etkilemediği görülecektir. Nitekim, elma suyu ve portakal suyu ortamlarında briksin

artışıyla D değeri azalırken, malt ekstrakt broth ortamında ise briksin artışıyla genel olarak D değeri de artmıştır. Literatürde ortamın briks değerinin ısı işlem uygulamasında, mikroorganizmaların ısıl dayanıklılığı üzerine etkili bir faktör olduğu, briks artışına bağlı olarak mikroorganizmaların ısıl dayanıklılığının arttığı ifade edilmişse de (Ünlütürk ve Turantaş 2003), %50'nin üzerindeki şeker konsantrasyonlarının ısıl dayanıklılığın artmasına katkı sağlayabildiğini ifade etmektedirler. Malt ekstrakt broth ortamında gerçekleştirilen çalışma sonucuna göre briksin *A. acidoterrestri*s sporlarının ısıl dayanıklılığı üzerine tespit edilmiş olan etkisi genel literatür bilgileri ile paralellik arz ederken, portakal ve elma suyu ortamları için saptanan sonuçların genel beklentiye uymamasında bu ortamların bileşimlerinin etkili olabileceği düşünülmektedir. Zira malt ekstrakt broth ortamında, ortamdaki asıl çözünür kuru maddeyi sakaroz oluştururken, elma ve portakal suyunda su içinde çözünür halde onlarca bileşenin varlığından bahsedilebilir. Her üç ortam için, D değerinin briks değişkenine bağlı olarak elde edilen verileri Şekil 4.1'de grafik edilmiştir.



Şekil 4.1 Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında briks değişkenine bağlı D değerleri

Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt ortamlarının her üçünde de briks değerinin artmasıyla $\log(N/N_0)$ değeri artmıştır. Ancak bu artışlar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Bu durum yüksek briks değerlerinde *A. acidotrrestris* sporlarının ölüm hızının yavaşladığını göstermektedir.

Z değerlerinde ise portakal suyunda briksin artışıyla artış gözlenirken, elma suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında portakal suyunun aksine azalma olmuştur. Her üç ortam için Z değerlerindeki bu değişimler istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0,01$).

Alicyclobacillusların ısı dayanıklılıklarının değişik ortam koşullarında belirlenmesi amacıyla yapılmış araştırma sonuçları Tablo 4.2’de özetlenmiştir. Tablo 4.2’den görüldüğü üzere birçok araştırmacının, farklı Alicyclobacillus türleri için farklı koşullarda saptamış oldukları sonuçlar oldukça geniş bir varyasyon göstermektedir. Bu durum ısı dayanıklılık üzerine incelenen Alicyclobacillus cinsi bakterinin tür ve suşunun, ortamın, pH ve briks değerinin, sıcaklık ve sürenin ayrı ayrı etkisinin var olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, hem konu ile ilgili literatür sonuçlarının hem de tarafımızdan yürütülen bu çalışma sonucuna göre ısı dayanıklılık üzerine bahsedilen faktörlerin etkilerinin her zaman belirlenen yönde olmadığı görülmektedir.

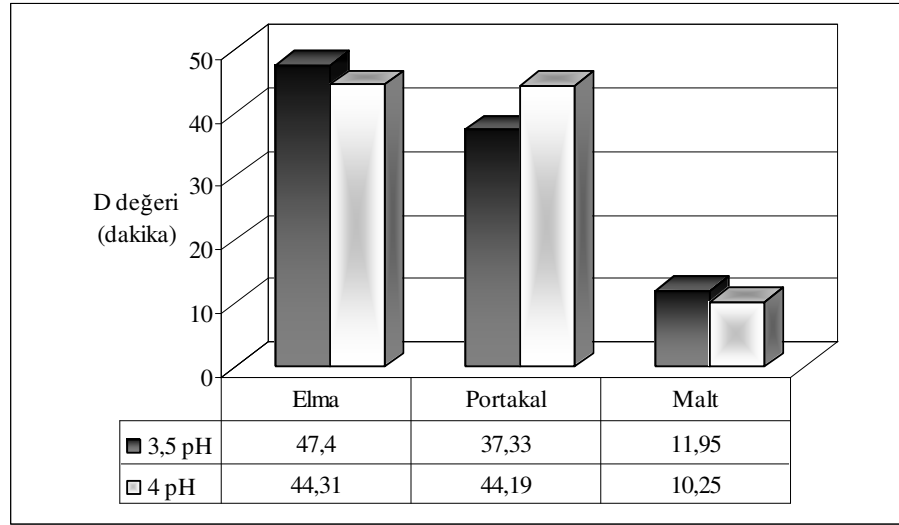
Tablo 4.2 Alicyclobacillusların ısı dayanıklılıklarıyla ilgili olarak yapılan bazı araştırma sonuçları

Isıl işlem ortamı	pH	Briks	D değeri (Dakika)	Z değeri (°C)	Kaynak
20 mM sitrat buffer			$D_{90}=13.6$	6,4-7,1°C aralığında	Murakami vd 1998 <i>A.acidoterrestris</i>
100 mM sitrat buffer			$D_{90}=14.4$		
20 mM fosfat buffer			$D_{90}=12.9$		
100 mM fosfat buffer			$D_{90}=12.3$		
McIlvaine buffer	3-4- 5-6- 7-8		$D_{88}=24.1-29.1$		
			$D_{90}=14.8-16.8$		
			$D_{92}=5.7-7.1$		
			$D_{95}=2.2-2.8$		
Cupuaçu nectar	3,2	18	$D_{95}=5.99-3.82$ aralığında (depolama süresine bağlı olarak)	7,8-29 °C aralığında	Vieira vd 2002 <i>A.acidoterrestris</i>
MEB (malt extract broth)	2,5- 4,25- 6	5- 32,5- 60	pH ve brikse bağlı olarak $D_{85}=35.5-94.9$ aralığında $D_{91}=4.35-15.5$ aralığında $D_{97}=0.498-4.35$ aralığında		Silva ve Gibss 1999 <i>A.acidoterrestris</i>
Cupuaçu extract	3,6	11,3	$D_{85}=17,5$ $D_{91}=5,35$ $D_{95}=2,82$ $D_{97}=0,596$	9	

(Devamı arkada)

Portakal suyu	3,5	11,7	D ₈₅ =65,6 D ₉₁ = 11,9	7,8	
Light Frenk Üzümlü konsantresi	2,5	26,1	D ₉₁ =3,84		
Frenk üzümlü konsantresi	2,5	58,5	D ₉₁ =24,1		
Çilek suyu			D _{81.8} = 11 D _{91.1} =3.8 D ₉₅ =1	7,2	McIntyre vd 1995 <i>A.acidoterrestris</i>
Model sistem	2.8-3.1-3.4-3.7-4		Suş, pH ve asit cinsine bağlı olarak değişen şekillerde D ₉₁ = 16.6-69.5 aralığında değişen değerlerde D ₉₇ =3.6-10.8 aralığında değişen değerlerde	5,9-10 aralığında değişen değerlerde	Pontius vd 1998 <i>A.acidoterrestris</i>
Portakal suyu	3,15	9	suşlara bağlı olarak D ₈₅ = 50.0-94.5 D ₉₀ =10.0-10.6 D ₉₅ =2.5-8.7 aralığında	7.2-11.3 aralığında	Eiora vd 1999 <i>A.acidoterrestris</i>
McIlvaine citrate-Phosphate buffer	7		D ₁₁₀ =2.6	6,7	Palop vd 2000 suş <i>A.acidocaldarius</i>
			D ₁₁₅ =0.54		
			D ₁₂₀ =0.097		
			D ₁₂₅ =0.014		
	4		D ₁₁₀ =2.6	7,5	
			D ₁₁₅ =0.99		
			D ₁₂₀ =0.11		
			D ₁₂₅ =0.035		
Distile su			D ₁₁₀ =3.7	6,7	
			D ₁₁₅ =0.48		
			D ₁₂₀ =0.11		
			D ₁₂₅ =0.024		
Portakal suyu			D ₁₁₀ =3.9	6,8	
			D ₁₁₅ =0.61		
			D ₁₂₀ =0.087		
			D ₁₂₅ =0.027		
Elma suyu	3,5	11,4	D ₈₅ =56	7,7	Splittstoesser vd 1994 <i>A.acidoterrestris</i>
			D ₉₀ =16		
			D ₉₅ =2.8		
Üzüm suyu	3,3	15,80	D ₈₅ =57	7,2	
			D ₉₀ =23		
			D ₉₅ =2.4		

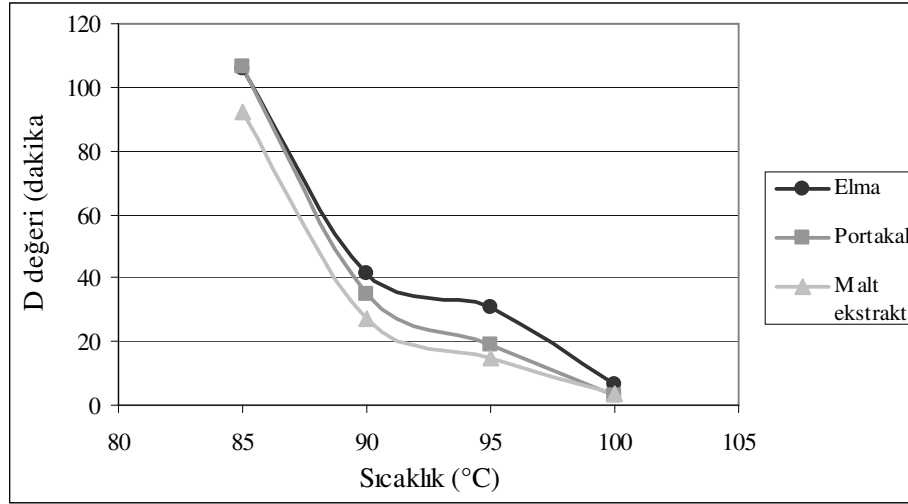
Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında D değerlerinin pH'ya göre değişimi Şekil 4.2'de görülmektedir.



Şekil 4.2 Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında pH değişkenine bağlı olarak elde edilen D değerleri

Mikroorganizmaların ısıl dirençlerine etki eden faktörlerden biri de ortamın pH değeridir. Her ne kadar literatür bilgilerinde nötral pH'dan uzaklaştıkça mikroorganizmaların ısıl direncinin azalacağı yönünde genel bir bilgi mevcutsa da çalışma sonucunda elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında 3,5 ve 4 pH'da elde edilen D değerlerinin arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığı belirlenmiştir. Murakami vd (1998) tarafından yapılan çalışmada da tarafımızdan yapılan çalışmayı destekler nitelikte sonuçlar bulunmuş ve pH'nın Alicyclobacillus sporlarının ısıl dayanıklılığına etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Bazı araştırmacılar ise düşük sıcaklıklarda pH'nın D değeri üzerinde etkili olduğunu, ancak yüksek sıcaklıklarda etkisinin olmadığını bildirmişlerdir (Pontius vd 1998). Çalışmamızda, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamında pH'nın artışıyla D değeri artmış, elma suyunda ise azalma gözlenmiştir. Her üç ortamda da pH'nın artışıyla $\log(N/N_0)$ değerlerinde artma olmuştur. Yüksek pH'larda *A. acidoterrestis* sporlarının süreye bağlı olarak azalması daha yavaş gerçekleşmektedir, ancak bu durum her iki pH arasında istatistiksel olarak fark oluşturmamaktadır. Z değerlerinde ise pH'nın artışına bağlı olarak elma suyu ortamında artış olurken, portakal suyu ve malt ekstrakt brothda azalma meydana gelmiştir. Her üç ısıl işlem ortamında da pH'nın Z değerlerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,01$).

Sıcaklık her üç ortamda da D değeri üzerine etkili en önemli faktör olarak bulunmuştur. Sıcaklığın artışına bağlı olarak elde edilen D değerlerinde belirgin bir düşme olduğu ve bu değerlerin birbirlerinden önemli seviyede farklı olduğu saptanmıştır. Bu üç ortamda sıcaklığın D değeri üzerine etkisini gösteren grafik Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Elma suyu, portakal suyu ve malt ekstrakt broth ortamlarında D değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi

Şekil 4.3'den de görülebileceği gibi D değerleri sıcaklık artışıyla önemli şekilde azalırken bu azalma, özellikle 85°C ile 90°C'lik sıcaklık aralığında daha büyük oranda gerçekleşmiştir. 90-100°C'lik sıcaklık aralığında D değerlerinde gerçekleşen azalma, 85-90°C'lik sıcaklık aralığına göre oransal olarak belli miktarda azalmıştır. *A.acidoterrestri*s sporlarının ısı dayanıklılığıyla ilgili olarak Nakauma vd (2004) tarafından yapılan çalışmada mikroorganizmaların sıcaklıkla azalışı iki fazda incelenmiştir. Bu iki faza bağlı olarak D ve Z değerleri de her faz için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Birinci logaritmik fazda mikroorganizma sayısında hızlı bir azalma meydana gelirken, ikinci fazda mikroorganizmaların ısıya hassasiyeti azalmakta ve mikroorganizmaların azalma hızı zamanla düşmektedir. 85°C için $D_1= 70.5'$, $D_2= 847'$, 90°C için $D_1= 16.1'$, $D_2= 137'$ ve 95°C için $D_1= 5,19'$, $D_2= 71.2'$ olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi özellikle ikinci logaritmik fazda belirlenen D değerleri oldukça yüksektir. Z değerleri ise birinci faz için 8.83°C, ikinci faz için 9.29°C şeklinde tespit edilmiştir. Aynı çalışmada 85, 90 ve 95°C'lerde spor sayısında 4 log azalma olması için gerekli süre ise sırasıyla 1642, 526.7 ve 188.8 dakika olarak belirlenmiştir.

4.2 Sonuç

Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlara ve konu ile ilgili literatür bilgilerine göre *A. acidoterrestriis* sporlarının geniş bir briks ve pH aralığına sahip ortamlar için, ısıtım işlem uygulamalarında sıcaklığa karşı oldukça dirençli olduğu ifade edilebilir. Patojen karakterde olmamakla birlikte, meyve suları ve meyve suyu konsantrelerinde bozulma etmeni olarak sıkça karşılaşılabilen bu bakteri, günümüzde bu ürünlerin pastörizasyonu için kullanılan sıcaklık ve süre normlarında canlılığını koruyabilmektedir. Meyve sularının normal ortam koşullarında gerçekleştirilen depolama işlemlerinde, *A. acidoterrestriis* sporlarının vejetatif forma dönüşerek, ürünün bozulmasına neden olabileceği dikkate alınarak, bu bakterinin, meyve sularının pastörizasyonunda hedef mikroorganizma olarak kabul edilmesi ve pastörizasyon normlarının bu mikroorganizmaya göre belirlenmesi uygun olacaktır. Bu önerimiz pek çok literatür verisi ile de desteklenmektedir.

Konu ile ilgili gelecekte yapılması planlanan çalışmalarda *A. acidoterrestriis* sporlarının ısıtım dayanıklılığı üzerine ortam çözünür madde içeriğinin ve ortam pH'ının daha somut olarak ortaya konabilmesi için ortam briks ve pH aralığının biraz daha geniş olarak seçilmesi faydalı olabilecektir. Diğer taraftan 100°C'nin üzerindeki sıcaklıkların ve daha uzun ısıtım sürelerinin denenmesi tavsiye edilebilir.

KAYNAKLAR

- Acar, J., ve Cemeroğlu, B. (1998) Meyve Sebze Teknolojisi Cilt II, *Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları*, Yayın No:43, ANKARA, 406 s.
- Alpas, H., Alma, L., ve Bozoğlu, F. (2003) İnactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* Vegetative Cells in Model System, Aple, Orange and Tomato Juices by High Hydrostatic Pressure. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 19: 619-623.
- Bahçeci, K. S., Gökmen, V., Serpen, A., and Acar, J. (2003) The Effects of Different Technologies on *Alicyclobacillus acidoterrestris* During Apple Juice Production. *Eur. Food Res. Technol.*, 217: 249-252.
- Bahçeci, K. S., Gökmen, V., and Acar, J. (2005) Formation of Guaiacol from Vanillin by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in Apple juice: A Model Study. *Eur. Food Res. Technol.*, 220: 169-199.
- Buzrul, S., Alpas, H., and Bozoğlu, F. (2005) Use of Weibull Frequency Distribution Model to Describe The İnactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* by High Pressure at Different Temperatures. *Food Research International*, 28: 151-157.
- Cenry, G., Hennlich, W., and Poralla, K. (1984) Fruchtsoftverderb Durch Bacillen: İsolierung and Charakterisierung Des Verderbserregers. *Z. Lebensmitt. Unters. Forsch.*, 176: 224-227.
- Cerny, G., Duong, H-A., Hennlich, W., and Miller, S. (2000) *Alicyclobacillus acidoterrestris*: İnfluence of Oxygen Content on Growth in Fruit Juices. *Food Australia*, 52 (7): 289-291.
- Cemeroğlu, B., ve Karadeniz, F. (2001) Meyve Seze İşleme Teknolojisi 2, *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:25*, ANKARA, 384 s.
- Cemeroğlu, B., (2005) Gıda Mühendisliğinde Temel İşlemler, *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:29*, ANKARA, 505 s.
- Chang, S-S., and Kang, D-H. (2004) *Alicyclobacillus* spp. in The Fruit Juice Industry: History, Characteristics, and Current İsolation/Detection Procedures. *Critical Reviews in Microbiology*, 30: 55-74.
- Darland, G., and Brock, T. D. (1971) *Bacillus acidocaldarius* sp. nov., An Acidophilic Thermophilic Spoer-forming Bacterium. *Journal of General Microbiology*, 67: 9-15.
- Deinhard, G., Blanz, P., Poralla, K., and Altan, E. (1987) *Bacillus acidoterrestris* sp. nov., A New Thermotolerant Acidophile Isolated From Different Soils. *System Appl. Microbiol.*, 10: 47-53.

- Duong, H-A., and Jensen, N. (2000) Spoilage of Iced Tea by *Alicyclobacillus*. ***Food Australia***, 52 (7): 292.
- Eiroa, M. N. U., Christina, V., Junqueira, A., and Schmidt, F.L. (1999) *Alicyclobacillus* in Orange Juice: Occurrence and Heat Resistance of Spores. ***Journal of Food Protection***, 62 (8): 883-886.
- Eisele, T. A., and Semon, M. J. (2005) Best Estimated Aroma and Taste Detection Threshold for Guaiacol in Water and Apple Juice. ***Journal of Food Science***, 70 (4): 267-269.
- Goto, K., Matsubara, H., Mochida, K., Matsumara, T., Hara, Y., Niwa, M., and Yamasato, K. (2002a) *Alicyclobacillus herbarius* sp. Nov., A novel Bacterium Containing w-cycloheptane Fatty Acids, Isolated From Herbal Tea. ***International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology***, 52: 109-113.
- Goto, K., Tanimato, Y., Tamura, T., Mochida, K., Arai, D., Asahara, M., Suzuki, M., Tanaka, H., and Inagaki, K. (2002b) Identification of Thermoacidophilic Bacteria and A new *Alicyclobacillus* Genomic Species Isolated from Acidic Environments in Japan. ***Extremophiles***, 6: 333-340.
- Goto, K., Mochida, K., Asahara, M., Suzuki, M., Kasai, H., and Yokota, A. (2003) *Alicyclobacillus pomorum* sp. nov., A Novel Thermo-Acidophilic Endospore-Forming Bacterium That Does Not Possess w-alicyclic Fatty Acids, and Emended Description of The Genus *Alicyclobacillus*. ***International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology***, 53: 1537-1544.
- Jay, J. M. (1992) Modern Food Microbiology, ***Chapman & Hall***, NEW YORK, 701s.
- Jensen, N. (2000) *Alicyclobacillus* in Australia. ***Food Australia***, 52 (7): 282-285.
- Jensen, N. and Whitfield, F. B. (2003) Role of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in The Development of A Disinfectant Taint in Shelf-Stable Fruit Juice. ***Letters in Applied Microbiology***, 36: 9-14.
- Karagözlü, N. (2004) Meyve Sularında Bozulma Etmeni: *Alicyclobacillus acidoterrestris*. ***Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi***, 8 (1): 15-21.
- Lee, S-Y., Dougherty, R. C., and Kang, D-H. (2002) Inhibitory Effects of High Pressure and Heat on *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores in Apple Juice. ***Applied and Environmental Microbiology***, 68 (8): 4158-4161.
- Lee, S-Y., Gray, P. M., Dougherty, R. H., and Kang, D-H. (2004) The Use of Chlorine Dioxide to Control *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores in Aqueous Suspension and on Apples. ***International Journal of Food Microbiology***, 92: 121-127.
- McIntyre, S., Ikawa, J. Y., Parkinson, N., Haglund, J., and Lee, J. (1995) Characteristics of An Acidophilic *Bacillus* Strain Isolated From Shelf-Stable Juice. ***Journal of Food Protection***, 58 (3): 319-321.

- Murakami, M., Tedzuka, H., and Yamazaki, K. (1998) Thermal Resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores in Different Buffers and pH. ***Food Microbiology***, 15: 577-582.
- Nakauma, M., Saito, K., Katayama, T., Tada, M., and Todoriki, S. (2004) Radiation-Heat Synergism for Inactivation of *Alicyclobacillus* Spores in Citrus Juice. ***Journal of Food Protection***, 67 (11): 2538-2543.
- Orr, R., and Beuchat, L. R. (2000) Efficacy of Disinfectants in Killing Spores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and Performance of Media for Supporting Colony Development by Survivors. ***Journal of Food Protection***, 63 (8): 1117-1122.
- Orr, R. V., Shewfelt, R. L., Huang, C. J., Tefera, S., and Beuchat, L. R. (2000) Detection of Guaiacol Produced by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in Apple Juice by Sensory and Chromatographic Analyses, and Comparison With Spore and Vegetative Cell Populations. ***Journal of Food Protection***, 63 (11): 1517-1522.
- Palop, A., Alvarez, I., Raso, J., and Condon, S. (2000) Heat Resistance of *Alicyclobacillus acidocaldarius* in Water, Various Buffers, and Orange Juice. ***Journal of Food Protection***, 63 (10): 1377-1380.
- Pettipher, G. L., Osmundson, M. E., and Murphy, J. M. (1997) Methods for The detection and Enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and Investigation of Growth and Production of Taint in Fruit Juice and Fruit Juice-Containing Drinks. ***Letters in Applied Microbiology***, 24: 185-189.
- Pettipher, G. L., and Osmundson, M. E. (2000) Methods for The Detection, Enumeration and Identification of *Alicyclobacillus acidoterrestris*. ***Food Australia***, 52 (7): 293-295.
- Pontius, A. J., Rushing, J. E., and Foegeding, P. M. (1998) Heat Resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores as Affected by Various pH Values and Organic Acids. ***Journal of Food Protection***, 61 (1): 41-46.
- Shearer, A. E. H., Dunne, C. P., Sikes, A., and Hoover, D. G. (2000) Bacterial Spore Inhibition and Inactivation in Foods by Pressure, Chemical Preservatives, and Mild Heat. ***Journal of Food Protection***, 63 (11), 1503-1510.
- Silva, F. M., Gibbs, P., Vieira, M. C., and Silva, C. L. M. (1999) Thermal Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores Under Different Temperature, Soluble Solids and pH Conditions for The Design of Fruit Processes. ***International Journal of Food Microbiology***, 51: 95-103.
- Silva, F. V. M., and Gibbs, P. (2001) *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores in Fruit Products and Design of Pasteurization Processes. ***Trends in Food Science & Technology***, 12: 68-74.
- Silva, F. V. M., and Gibbs, P. (2004) Target Selection in Designing Pasteurization Processes for Shelf-Stable High-Acid Fruit Products. ***Critical Reviews in Food Science and Nutrition***, 44: 353-360.

- Sinigaglia, M., Corbo, M. R., Altieri, C., Campanello, D., D'amato, D., and Bevilacqua, A. (2003) Combined Effects of Temperature, Water Activity and pH on *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores. ***Journal of Food Protection***, 66 (12): 2216-2221.
- Splittstoesser, D. F., Churey, J., and Lee, C. Y. (1994) Growth Characteristics of Aciduric Sporeforming Bacilli Isolated from Fruit Juice. ***Journal of Food Protection***, 57 (12): 1080-1083.
- Şahbaz, F., Cemeroğlu, B., ve Acar, J. (1996) Gıda Mühendisliğinde Sterilizasyon, ***Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları Ders Notları No:37***, ANKARA,134 s.
- Terano, H., Takahashi, K., and Sakakibara, Y. (2005) Characterization of Spore Germination of A Thermoacidophilic Spore-Forming Bacterium, *Alicyclobacillus acidoterrestris*. ***Biosci. Biotechnol. Biochem***, 69 (6): 1217-1220.
- Tsuruoka, N., Isono, Y., Shida, O., Hemmi, H., Nakayama, T., and Tokuzo, N. (2003) *Alicyclobacillus sendaiensis* sp. nov., A Novel Acidophilic, Slightly Thermophilic Species Isolated from Soil in Sendai, Japan. ***International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology***, 53: 1081-1084.
- Ünlütürk, A., ve Turantaş, F. (2003) Gıda Mikrobiyolojisi, ***META Basım Matbaacılık Hizmetleri***, İZMİR, 606s.
- Vieira, M. C., Teixeira, A. A., Silva, F. M., Gaspar, N., and Silva, C. L. M. (2002) *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores as A Target for Cupuaçu(*Theobroma grandiflorum*) Nectar Thermal Processing: Kinetic Parameters and Experimental Methods. ***International Journal of Food Microbiology***, 77: 71-81.
- Walker, M., and Phillips, C. A. (2005) The Effects of Intermittent Shaking, Headspace and Temperature on The Growth of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in Stored Apple Juice. ***International Journal of Food Science and Technology***, 40: 557-562
- Walls, I., and Chuyate, R. (2000) Spoilage of Fruit Juices by *Alicyclobacillus acidoterrestris*. ***Food Australia***,52 (7): 286-288.
- WEB_1. (2006). <http://www.vermicon.com/products.php?show=10> (05.06.2006)
- WEB_2. (2006). <http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Guaiacol2.png> (07.05.2006)
- WEB_3.(2006). <http://umbbd.msi.umn.edu/servlets/> (16.06.2006)
- WEB_4. (2006). <http://www.mikrobiyoloji.org> (02.06.2006)
- Yamazaki, K., Teduka, H., and Shinano, H. (1996) Isolation and Identification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from Acidic Beverages. ***Biosciences, Biotechnology and Biochemistry***, 60(3): 543-545.

- Yamazaki, K., Kawai, Y., Inoue, N., and Shinano, H. (1997) Influence of Sporulation Medium and Divalent Ions on The Heat Resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores. ***Letters in Applied Microbiology***, 25 153-156.
- Yamazaki, K., Murakami, M., Kawai, Y., Inoue, N., and Matsuda T. (2000) Use of Nisin for Inhibition of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in Acidic Drinks. ***Food Microbiology***, 17: 315-320.

EKLER

Ek Tablo 1 Elma suyunda briks, pH ve sıcaklık değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D		Z	
		KO	F	KO	F	KO	F
Briks	1	0,0034	0,04	18	0,01	152,10	24,52**
Hata	158	0,0887		1413		6,20	
pH	1	0,1074	1,22	381	0,27	152,10	24,52**
Hata	158	0,088		1411		6,20	
Sıcaklık	3	2,206	46,57**	70962	1065**	*	
Hata	156	0,047		66,6			

Ek Tablo 2 Elma suyunda 85°C sıcaklıkta briks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,0066	0,07	1625,6	54,01**
Hata	38	0,0968		30,1	
pH	1	0,0038	0,04	1113	25,54**
Hata	38	0,0968		1656,2	
Süre	4	0,5149	11,1**	¹	
Hata	35	0,0464			

Ek Tablo 3 Elma suyunda 90°C sıcaklıkta briks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,1231	2,6	1918,2	152,6**
Hata	38	0,0474		12,6	
pH	1	0,011	0,22	87	1,43
Hata	38	0,0504		60,8	
Süre	4	0,1783	5,15**	¹	
Hata	35	0,0346			

Ek Tablo 4 Elma suyunda 95°C sıcaklıkta briks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,0321	2,16	13	0,1
Hata	38	0,0149		128	
pH	1	0,0064	0,41	13	0,1
Hata	38	0,0156		128	
Süre	4	0,0947	15,16**	¹	
Hata	35	0,0063			

Ek Tablo 5 Elma suyunda 100°C sıcaklıkta birks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,0185	0,6	67,6	9,38**
Hata	38	0,0307		7,21	
pH	1	0,2826	11,91	52,9	6,97*
Hata	38	0,0237		7,59	
Süre	4	0,0765	3,05*	1	
Hata	35	0,0251			

Ek Tablo 6 Portakal suyunda suyu brik, pH ve sıcaklık değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D		Z	
		KO	F	KO	F	KO	F
Briks	1	0,01738	2,48	16	0,01	3,6	4,27*
Hata	158	0,07		1650		0,843	
pH	1	0,0005	0,01	1884	1,15	129,6	2844**
Hata	158	0,0711		1638		0,0456	
Sıcaklık	3	1,454	33,02**	83508	1281,6**	*	
Hata	156	0,044		65,2			

Ek Tablo 7 Portakal suyunda 85°C sıcaklıkta birks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,0147	0,22	10	0,04
Hata	38	0,0674		257	
pH	1	0,194	3,09	9610	2148,1**
Hata	38	0,0627		4,47	
Süre	4	0,4745	24,46**	1	
Hata	35	0,0194			

Ek Tablo 8 Portakal suyunda 90°C sıcaklıkta birks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,0894	2,64	40	9,5**
Hata	38	0,0338		4,21	
pH	1	0,0081	0,23	57,6	15,37**
Hata	38	0,0359		3,75	
Süre	4	0,2316	18,12**	1	
Hata	35	0,0128			

Ek Tablo 9 Portakal suyunda 95°C sıcaklıkta birks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/No)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,0049	0,18	168,1	
Hata	38	0,0266		0,0	
pH	1	0,0023	0,09	0,0	0,0
Hata	38	0,0267		4,42	
Süre	4	0,1202	7,87**	1	
Hata	35	0,0153			

Ek Tablo 10 Portakal suyunda 100°C sıcaklıkta birks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/No)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,1183	2,52	3,025	8,55**
Hata	38	0,0469		0,0354	
pH	1	0,1252	2,68	13,225	154,63**
Hata	38	0,0468		0,0855	
Süre	4	0,3225	18,43**	1	
Hata	35	0,0175			

Ek Tablo 11 Malt Ekstrakt Broth ortamında briks, pH ve sıcaklık değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/No)		D		Z	
		KO	F	KO	F	KO	F
Briks	1	0,08	0,64	18	0,01	6,4	5,52*
Hata	158	0,124		1413		1,16	
pH	1	0,687	5,74*	381	0,27	115,6	246,8**
Hata	158	0,120		1411		0,468	
Sıcaklık	3	1,5611	16,32**	70961,5	1065**	*	
Hata	156	0,0957		66,6			

Ek Tablo 12 Malt ekstrakt broth ortamında 85°C sıcaklıkta birks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/No)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,003	0,02	84	0,39
Hata	38	0,182		213	
pH	1	2,382	20,02**	7728,4	626,85**
Hata	38	0,119		12,3	
Süre	4	0,634	5,09**	1	
Hata	35	0,125			

Ek Tablo 13 Malt ekstrakt broth ortamında 90°C sıcaklıkta birks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,2396	3,08	792,1	246,72**
Hata	38	0,0778		3,21	
pH	1	0,0993	1,22	6,4	0,27
Hata	38	0,0815		23,9	
Süre	4	0,6056	27,36**	1	
Hata	35	0,0221			

Ek Tablo 14 Malt ekstrakt broth ortamında 95°C sıcaklıkta birks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,1312	2,38	656,1	50,62**
Hata	38	0,0552		13	
pH	1	0,0262	0,45	280,9	12,3**
Hata	38	0,0579		22,8	
Süre	4	0,4017	22,63**	1	
Hata	35	0,0178			

Ek Tablo 15 Malt ekstrakt broth ortamında 100°C sıcaklıkta birks, pH ve süre değişkenlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	log(N/N ₀)		D	
		KO	F	KO	F
Briks	1	0,0533	0,8	6,4	7,77**
Hata	38	0,0670		0,824	
pH	1	0,1316	2,03	14,4	23,48**
Hata	38	0,0649		0,613	
Süre	4	0,2281	4,74**	1	
Hata	35	0,0482			

¹ D değeri süreden bağımsız bir parametre olduğu için Varyas analizi tablosunda gösterilmemiştir.

* 85, 90, 95 ve 100 °C için tek bir Z değeri hesaplandığı için sıcaklığın Z değerine etkisi incelenmemiştir

ÖZGEÇMİŞ

Gülin CEVİZ, 1979 yılında Amasya'da doğdu. İlkokulu İzmir ve Mardin'de tamamladı. Ortaokulu Düzce'de bitirdi. Lise eğitimine Düzce Anadolu Öğretmen Lisesi'nde başladı ve Osmaniye Anadolu Öğretmen Lisesi'nden 1997 yılında mezun oldu. 1997 yılında Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Bölümüne girdi. Buradan kendi isteği ile ayrılıp, 1999 yılında Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazandı ve 2003 yılında mezun oldu. 2004 yılında Denizli Tarım İl Müdürlüğü Kontrol Şubesinde Gıda Mühendisi olarak işe başladı. Halen aynı kurumda göreve devam etmektedir.