

**T.C
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ULTRASONİKASYON DESTEKLİ ULTRAVİYOLE
IŞIK UYGULAMASININ ELMA SUYUNDA
MİKROBİYAL İNAKTİVASYON İÇİN
KULLANIMI VE ÜRÜNÜN BAZI KALİTE
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Tuğçe ÇEKÜÇ

Danışman: Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY

BURDUR, 2023

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca **Yüksek Lisans** Tezi olarak sunduğum “**Ultrasonikasyon Destekli Ultraviyole Işık Uygulamasının Elma Suyunda Mikrobiyal İnaktivasyon İçin Kullanımı ve Ürünün Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi**” başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

16/08/2023

(İmza)
Tuğçe ÇEKÜÇ

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen, bu tez çalışmasında beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli danışman hocam **Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY**'a ve değerli hocam Prof. Dr. Yusuf YILMAZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın başından sonuna kadar yardımlarını esirgemeyen, gece gündüz benimle laboratuvarında çalışan ve bütün bilgisini bana sunan değerli hocam Dr. Damla BAYANA'ya teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimimde her yardıma ihtiyacım olduğunda yanımda olan ve gözyaşlarımı silen değerli hocam Araş. Gör. Hande Özge GÜLER DAL'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışmamın yürütülmesinde gerekli malzemelerin tedarikinde yardımcı olan Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne teşekkür ederim.

Bu süreçte desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çalışmakta olduğum Gezinler Gıda şirketine, arkadaşlarım Gıda Mühendisi Yakamoz İpek KARATEKE ve Diyetisyen Özge ÇEKİN'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca aldığım bütün kararları destekleyen ve yanımda duran aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Ağustos, 2023

Tuğçe ÇEKÜÇ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Elma suyu ve Gıda Endüstrisindeki Önemi	4
2.2. Elma Suyunda Gelişen Patojen Mikroorganizmalar	9
2.2.1. <i>Escherichia coli</i>	9
2.2.2. Termal Ölüm Süresi (D değeri)	11
2.3. Elma ve Elma Sularının Depolama Koşulları	11
2.4. Elma Suyunun Muhafazası ve Alternatif Metotlar.....	13
2.5. Ultrasonikasyon (US)	14
2.5.1. Ultrasonikasyon Teknolojisi ile Mikrobiyal İnaktivasyon	17
2.5.2. Ultrasonikasyon Teknolojisi ile Enzim İnaktivasyonu	19
2.5.3. Ultrasonikasyon Teknolojisinin Meyve Suyu Endüstrisindeki Uygulamaları	20
2.5.4. Ultrasonikasyon Teknolojisinin Elma Suyundaki Uygulamaları	21
2.5.5. Vurgulu Ultrasonikasyon.....	21
2.5.6. Vurgulu Ultrasonikasyonun Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları	23
2.6. Ultraviyole Işık (UV-C)	24
2.6.1. Ultraviyole Uşık (UV-C) Teknolojisi ile Mikrobiyal İnaktivasyon.....	26
2.6.2. Ultraviyole Işığın Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları.....	28
2.6.3. Ultraviyole Işığın Elma Sularındaki Uygulamaları.....	29
2.6.4. UV-C Işığın ve Ultrasonikasyon Kombinasyonunun Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları.....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
3.1. Materyal	31
3.2. Yöntem.....	31
3.2.1. Deneme Planı	31
3.2.2. Ultrasonikasyon ve Ultraviyole Işık (UV-C) Kombine Uygulaması.....	32
3.2.3. Mikrobiyolojik Analizler	33
3.2.4. pH Tayini	36
3.2.5. Toplam Antioksidan Aktivite Değeri (ABTS)	36
3.2.6. Toplam Fenolik Bileşik Tayini	36
3.2.7. Toplam Flavonoid İçeriği	37
3.2.8. Renk Tayini.....	38
3.2.9. Kahverengileşme İndeksi	39
3.2.10. Suda Çözünen Kuru Madde (°Bx) Tayini	40
3.2.11. İstatiksel Analizler	40
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	41
4.1. Ön Deneme Bulguları	41
4.2. Mikrobiyolojik Analizlere Ait Bulgular	44

4.3. pH, °Bx, Toplam Antioksidan Aktivite Değeri, Toplam Fenolik Bileşik İçeriği ve Toplam Flavonoid Analizlerine Ait Bulgular	45
4.4. Renk Analizlerine Ait Bulgular.....	48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR.....	54
EKLER.....	69
EK 1 - Şekil 3.1. Toplam antioksidan aktivite değeri standart kalibrasyon eğrisi	69
EK 2 - Şekil 3.2. Toplam fenolik bileşik içeriği standart kalibrasyon eğrisi	69
EK 3 - Şekil 3.3. Toplam flavonoid tayini standart kalibrasyon eğrisi	69
EK 4 - Şekil 4.1. pH tayini için istatistiksel analiz sonuçları	70
EK 5 - Şekil 4.2. Suda çözünen kuru madde (°Bx) için istatistiksel analiz sonuçları.....	70
EK 6 - Şekil 4.3. Toplam antioksidan aktivite değeri için istatistiksel analiz sonuçları	71
EK 7 - Şekil 4.4. Toplam fenolik bileşik içeriği için istatistiksel analiz sonuçları	71
EK 8 - Şekil 4.5. Toplam flavonoid içeriği için istatistiksel analiz sonuçları	72
EK 9 - Şekil 4.6. L* değeri için istatistiksel analiz sonuçları	72
EK 10 - Şekil 4.7. a* değeri için istatistiksel analiz sonuçları.....	73
EK 11 - Şekil 4.8. b* değeri için istatistiksel analiz sonuçları.....	73
EK 12 - Şekil 4.9. C* değeri için istatistiksel analiz sonuçları	74
EK 13 - Şekil 4.10. Hue açısı için istatistiksel analiz sonuçları.....	74
EK 14 - Şekil 4.11. Kahverengileşme indeksi için istatistiksel analiz sonuçları	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Türkiye'deki 2020 yılına ait meyve üretim miktarları.....	4
Şekil 2.2. Elmanın mikroskop altındaki görünümü: a) ekzokarp, b) mezokarp ve c) endokarp	5
Şekil 2.3. Elmada bulunan bazı antioksidanların kimyasal yapılarının gösterimi	6
Şekil 2.4. <i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin mikroskopik görünümü.....	10
Şekil 2.5. Ultrasonikasyon ses diyagramı	14
Şekil 2.6. Jenaratör (1), Dönüştürücü (2), US prop (3), İletici (4) ve Örnek haznesi (5)	15
Şekil 2.7. Ultrasonikasyon gerçekleşen hücre hasar mekanizması	18
Şekil 2.8. a) US (S), b) US (V) dalga yayılımı	22
Şekil 2.9. a) US (S) etkisi, b)US (V) açık etkisi, c)US (V) kapalı etkisi	22
Şekil 2.10. Farklı ultrasonikasyon uygulamalarına maruz bırakılan protein mikrokapsüllerinin mikroskopik görüntüleri: a) sürekli ultrasonikasyon uygulanmış protein mikrokapsülü, b) 2 sn açık 2 sn kapalı vurgulu ultrasonikasyon uygulanmış protein mikrokapsülü	23
Şekil 2.11. Elektromanyetik spektrum.....	25
Şekil 2.12. UV-C ışığın DNA hasarı ile inaktivasyonu.....	27
Şekil 3.1. Örnek haznesi içerisine daldırılmış ultrasonikasyon probu.....	32
Şekil 3.2. Ultrasonikasyon destekli UV-C ışık kombine uygulama sisteminin şematik gösterimi	33
Şekil 3.3. <i>E.coli</i> O157:H7 SMAC-CT agarda doğrulama yapılan petrilerin inkübasyon sonrası görüntüleri a) kontrol agar, b) <i>E.coli</i> O157:H7 sürme ekim yapılan agar ve tek düşen koloniler	34
Şekil 3.4. <i>E.coli</i> O157:H7 petri görüntüsü.....	35
Şekil 3.5. Elma suyu örneklerinin renk tayininde kullanılan renk tayin cihazı	39
Şekil 4.1. Uygulama süresi ve şeklinden bağımsız olarak 1 mL elma suyuna uygulanan US enerjisine karşı mikrobiyal inaktivasyon değerleri	44
Şekil 4.2. CIE renk sistemi koordinatları	49
EK 1 - Şekil 3.1. Toplam antioksidan aktivite değeri standart kalibrasyon eğrisi	69
EK 2 - Şekil 3.2. Toplam fenolik bileşik içeriği standart kalibrasyon eğrisi	69

EK 3 - Şekil 3.3.	Toplam flavonoid tayini standart kalibrasyon eğrisi	69
EK 4 - Şekil 4.1.	pH tayini için istatistiksel analiz sonuçları	70
EK 5 - Şekil 4.2.	Suda çözünen kuru madde (°Bx) için istatistiksel analiz sonuçları	70
EK 6 - Şekil 4.3.	Toplam antioksidan aktivite değeri için istatistiksel analiz sonuçları ...	71
EK 7 - Şekil 4.4.	Toplam fenolik bileşik içeriği için istatistiksel analiz sonuçları	71
EK 8 - Şekil 4.5.	Toplam flavonoid içeriği için istatistiksel analiz sonuçları	72
EK 9 - Şekil 4.6.	L* değeri için istatistiksel analiz sonuçları	72
EK 10 - Şekil 4.7.	a* değeri için istatistiksel analiz sonuçları	73
EK 11 - Şekil 4.8.	b* değeri için istatistiksel analiz sonuçları	73
EK 12 - Şekil 4.9.	C* değeri için istatistiksel analiz sonuçları	74
EK 13 - Şekil 4.10.	Hue açısı için istatistiksel analiz sonuçları	74
EK 14 - Şekil 4.11.	Kahverengileşme indeksi için istatistiksel analiz sonuçları	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Elmalarda bulunan yüzde başlıca bileşenler ve miktarları	5
Çizelge 2.2. Elma suyu üretim şeması.....	8
Çizelge 2.3. %100 Elma suyunun bileşimi	8
Çizelge 2.4. Ultrasonikasyonun gıda endüstrisinde kullanım alanları	16
Çizelge 2.5. Ultrasonikasyonun, ısı ve basınç kombinasyonunun inaktivasyon etkileri....	19
Çizelge 2.6. Sıvı gıdaların 253,7 nm’de absorpsiyon katsayıları.....	26
Çizelge 4.1. Ön denemelerde 750 mL elma suyuna uygulanan US+UV-C kombine uygulamasının mikrobiyal inaktivasyon üzerine etkisi (n=3).....	41
Çizelge 4.2. US+UV-C Uygulamalarında belirlenen sıcaklık ve enerji değerleri	42
Çizelge 4.3. Belirlenen hacimde (200 mL) elma suyuna farklı US güçlerinde gerçekleştirilen kombine US+UV-C uygulamasının mikrobiyal inaktivasyon üzerine etkisi	43
Çizelge 4.4. Elma sularına uygulanan US (S+V)+UV-C işleminin örneklerin pH, °Bx aktioksidan aktivite değeri, toplam fenolik madde içeriği ve toplam flavonoid içeriği üzerine etkisi (n=3)	46
Çizelge 4.5. Kontrol ve US (S+V)+UV-C uygulanmış elma suyunun renk analiz değerleri (n=3).....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2'azino-bis (3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit)
AlCl₃	: Alüminyum klorür
BI	: Kahverengileşme indeksi
C	: Kroma
CI	: Renk indeksi
CIE*	: Uluslararası Aydınlatma Komisyonu
cm	: Santimetre
CT	: Cefixim-tellurit
dk.	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
g	: Gram
GAE	:Gallik asit eşdeğeri
HTST	: Yüksek Sıcaklıklı Kısa Süre
Hz	: Hertz
IU	:Uluslararası birim
J	: Joule
K₂S₂O₈	: Potasyum persülfat
KE	: Kateşin eşdeğeri
KHz	: Kilohertz
L	: Litre
Log	: Logaritmik birim
mg	: Miligram
MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
MS	: Manosonikasyon
MTS	: Manotermosonikasyon
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
NaNO₂	: Sodyum nitrit
NaOH	: Sodyum hidroksit
nm	: Nanometre

OD	: Optik yoğunluk
POD	: Peroksidaz
PPO	: Polifenoloksidaz
SMAC	: Sorbitol MacConkey
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TS	: Termosonikasyon
TSB	: Tryptic Soy Broth
UV-A	: Ultraviyole ışık uzun dalga boyu
UV-B	: Ultraviyole ışık orta dalga boyu
UV-C	: Ultraviyole ışık kısa dalga boyu
W	: Watt
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
L*	: CIE sisteminde aydınlık değeri
a*	: CIE sisteminde kırmızı ve yeşillik değeri
b*	: CIE sisteminde sarı ve mavilik değeri
ΔC	: Toplam kroma farkı
ΔE	: Toplam renk değişimi
°C	: Santigrat derece
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Ultrasonikasyon Destekli Ultraviyole Işık Uygulamasının Elma Suyunda Mikrobiyal İnaktivasyon İçin Kullanımı ve Ürünün Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi

Tuğçe Çeküç

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY

Ağustos, 2023

Bu tez çalışmasında ultrasonikasyon (US) destekli ultraviyole (UV-C) ışık uygulaması ile elma suyunda pastörizasyon amaçlı kullanılabilecek mikrobiyal inaktivasyonun gerçekleştirilmesi ve uygulanan işlemin elma suyunun bazı kalite parametreleri [pH, °Bx, toplam antioksidan aktivite değeri, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid içeriği, renk (L^* , a^* , b^* , C, ΔC , Hue açısı° ve ΔE) ve kahverengileşme indeksi (BI) değeri] üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kombine US+UV-C uygulamasının mikrobiyal inaktivasyon üzerindeki etkinliğinin belirlenmesi için ticari olarak temin edilen elma suları 10:1 oranında *Escherichia coli* O157:H7 ile inoküle edilmiş ve uygulama sonrasında mikrobiyal inaktivasyon düzeyi belirlenmiştir. Çalışmada, 140W güçte US (Sürekli+Vurgulu)+UV-C işleminin 40 dk. uygulanması sonucunda 224255 J US enerjisi harcanarak $5,04 \pm 0,66$ log birimlik azalma elde edilmiştir. US(S+V)+UV-C işleminin 40 dk. süre ile uygulanması elma suyu örneklerinin pH değerinde azalmaya neden olmuştur ($p < 0,05$). Farklı iki sürede (35 ve 40 dk.) ve 140 W güçte yapılan US(S+V)+UV-C uygulamasının, elma sularının toplam antioksidan aktivite değeri, toplam fenolik ve toplam flavonoid bileşik içeriklerinde azalmaya neden olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Farklı sürelerde US(S+V)+UV-C işlemi uygulaması elma suyu örneklerinin L^* değerleri üzerinde önemli değişime yol açmamış ($p > 0,05$) iken örneklerin b^* değerlerinde negatif yönde bir artış meydana getirmiştir. US(S+V)+UV-C işleminin 40 dakika uygulanması ile örneklerin C^* değerleri ve uygulama süresinden bağımsız olarak BI değerleri önemli düzeyde artmıştır ($p < 0,05$). Elma suyu örneklerine US(S+V)+UV-C işlemi uygulaması örneklerin hue açısı değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmamıştır. Çalışmamızda farklı sürelerde US(S+V)+UV-C işlemi uygulanan elma suyu örneklerinin ΔE değerinin tüketiciler tarafından algılanamayan düzeyde (1'in altında) olduğu görülmüştür. Çalışma sonuçları kombine olarak 140 W güçte 40 dk. süre ile US(S+V) ve UV-C ışık uygulamasının elma sularının pastörizasyonunda kullanımı için önemli bir alternatif olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: ultrasonikasyon, ultraviyole ışık, *Escherichia coli* O157:H7, elma suyu

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Use of Ultrasonication Assisted Ultraviolet-C Light Treatment for Microbial Inactivation in Apple Juice and Its Effects on Some Quality Attributes of the Product

Tuğçe Çeküç

Burdur Mehmet Akif Ersoy University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY

August, 2023

In this study, use of ultrasonication (US) assisted ultraviolet (UV-C) light treatment instead of traditional pasteurization process for microbial inactivation in apple juice and determination of its effect on some quality parameters of apple juice [pH, °Bx, total antioxidant activity value, total phenolic compound and total flavonoid content, color (L*, a*, b*, C, ΔC, Hue angle° and ΔE) and browning index (BI) value] were aimed. To determine the effectiveness of combined US(Continue+Pulsed)+UV-C treatment on microbial inactivation, commercially available apple juices were inoculated with *Escherichia coli* O157:H7 at a ratio of 10:1 and the microbial inactivation level was determined after the treatment. In the study, a reduction of 5,04±0,66 log units was obtained in the number of *E.coli* O157:H7 by consuming 224255 J US energy as a result of 40 minutes of US (C+P)+UV-C treatment at 140W power. Application of US(C+P)+UV-C treatment for 40 min caused a decrease in pH values of apple juice samples (p<0,05). It was found that US(C+P)+UV-C application at 140 W power in two different times (35 and 40 minutes) caused a decrease in the total antioxidant activity value, total phenolic and total flavonoid compound contents of apple juices (p<0,05). The application of US(C+P)+UV-C treatment at different times did not cause a significant change on the L* values of the apple juice samples (p>0,05), while it caused a negative increase in the b* values of the samples. With the application of US(C+P)+UV-C treatment for 40 minutes, the C* and BI values of the samples increased significantly (p<0,05). The application of US(S+V)+UV-C treatment to apple juice samples did not have a statistically significant effect on the hue angle values of the samples. In this study, it was observed that the ΔE value of apple juice samples that were treated with US(C+P)+UV-C at different times was at a level (below 1) that could not be perceived by consumers. The results of the study show that the combined use of US(C+P) (140 W) and UV-C light for 40 minutes can be an important alternative for the pasteurization of apple juices.

Key Words: ultrasonication, ultraviolet light, *Escherichia coli* O157:H7, apple juice

1. GİRİŞ

Gıdalarda görülen bozulmalar ekonomik kayıplara ve tüketilebilir gıdaların azalmasına neden olmaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılan araştırmada, üretilen gıdaların her yıl üçte birinin bozulma nedeniyle çöpe atıldığı bildirilmiştir (Ray ve Bhunia, 2007). Gıdaların insan beslenmesine uygun olmayacak şekilde mikrobiyolojik, enzimatik, fiziksel ve kimyasal değişimlere uğramasına bozulma denilmektedir (Cemeroğlu, 2018). Gıdaların bozulmasını kontrol edebilen teknolojilerin geliştirilmesi ve araştırılması, kaliteyi korumak, hasat sonrası biyolojik tehlikeleri azaltmak için gereklidir, işleme ve depolama uygulamaları ise gıda ürünlerinin raf ömürlerini artırmak için gereklidir (Asl vd., 2022). Gıda muhafazasının amacı, mikrobiyolojik ve enzimatik bozulmaları önlemektir (Cemeroğlu, 2011). Bu nedenle gıdaların mikrobiyolojik güvenliği için işlenmesinin önemi büyüktür. Birçok farklı yöntem uygulamaları ile gıdaların muhafazası sağlanmaktadır. Gıdaların muhafazası; ısıl işlemler, kurutma, asit, şeker, tuz ve kimyasal maddelerin eklenmesi ile sağlanabilmektedir (Cemeroğlu, 2018). Ancak günümüzde gıda bilimcileri ve teknoloji uzmanları, hem istenmeyen mikroorganizmaları etkisiz hale getirebilen hem de biyoaktif bileşikler ve fizikokimyasal özellikleri koruyabilen alternatif süreçler geliştirmeye odaklanmaktadır (Barbosa-Canovas vd., 2022).

Taze meyveler, içerdikleri organik asitler ve diyet lifi sayesinde doğal laksatif etkiye sahiptir. Böylelikle sindirim sistemi üzerinde olumlu etkileri görülmektedir. Aynı zamanda vitamin ve mineral kaynağıdır (Si vd., 2016). Meyvelerin içerdikleri besin değerleri nedeniyle günlük diyetinde yer alması gerektiği vurgulanmaktadır (Caswell, 2009). Meyve ve sebzeler, kısa sürede bozulan gıdalar arasında yer almaktadır. Buna bağlı olarak da meyve ve sebzelerden kaynaklı salgın hastalıklar oldukça yaygındır (Asl vd., 2022). Son yıllarda tüketicilerin güvenli ve sağlıklı gıdaya olan taleplerinde artış gözlemlenmektedir. Tüketicilerin bu yönelimleri ve ısıl işlemlerin gıdalarda bileşen kayıplarına neden olmasından kaynaklı oluşan sağlık ile ilgili endişeleri, meyve ve sebze ürünlerinde daha kaliteli, doğal, uygun, beslenme açısından daha sağlıklı ve daha az işlem görmüş gıdaya olan taleplerinin artmasına neden olmuştur (Chandrapala vd., 2012; de Sao Jose vd., 2014).

Meyve ve sebzelerin mikrobiyal kontaminasyonu; hasat, paketlenme, taşıma ve satış aşamalarında meydana gelebilmektedir. Meyve sularının düşük pH'a sahip olması nedeniyle patojen mikroorganizmaların gelişimi için uygun bir ortam olduğu

bilinmektedir (Cemeroğlu, 2011). *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* O157: H7 meyve ve sebzelere kontamine olabilen başlıca patojen mikroorganizmalardandır (de Sao Jose vd., 2014).

Meyvelerin işleme alınması aşamasında, hasarlı ve çürük olan meyvelerin kabul edilmemesi büyük önem taşımaktadır (FAO, 2001). Elmaların işlenme öncesi oluşan hasarlı kısımlarının uzaklaştırılması elma suyu kalitesi açısından oldukça önemlidir (Kadalkal ve Nas, 2011). Elma suyuna işlenmesi için tercih edilecek elmaların; olgun ve yüksek kalitede olması elma suyunun besin içeriğinin kaliteli olması açısından önemli görülmektedir (Prasanna vd., 2007).

Türk Gıda Kodeksi Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği'nde meyve suyu; "Sağlam, olgun, taze veya soğukta muhafaza edilmiş, tek meyvenin veya daha fazla meyvenin karışımının yenilebilir kısımlarından elde edilen, elde edildiği meyve ve meyvelerin karakteristik renk, aroma ve tadına sahip, fermente olmamış ancak fermente olabilen ürünü" olarak tanımlamaktadır (TGK, 2014). Meyve sularında bulunan enzimler ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişmesi meyve suyu üretiminde yaşanan en önemli sorunlardan biridir. Isıl işlemler, meyve sularında enzim inaktivasyonu ve mikrobiyal inaktivasyonda kullanılan tekniklerdir. Ancak işlem süresi ve sıcaklığı nedeniyle, ürünlerde kalite kayıpları, duyu özelliklerinde değişiklikler ve fonksiyonel bozulmalar gözlemlenebilmektedir (Chemat vd., 2011). Isıl işlemler meyve sularında raf ömrünün uzatılmasını sağlamaktadır ancak kalite özelliklerinde değişikliklere neden olması ve biyoaktif bileşenleri olumsuz etkilemesinden dolayı tüketici tarafından tercih edilemeyebilmektedir (Gabriel, 2012; Wu vd., 2022). Geleneksel ısı uygulamaların, patojenik mikroorganizmaların sayısını güvenli seviyelere indirebildiği bunun yanında ısı olmayan teknolojilerin ise yüksek sıcaklıkların kullanılmasıyla ortaya çıkan olumsuz etkileri azaltabildiği veya ortadan kaldırabildiği bildirilmiştir (Fan vd., 2017; Chiozzi vd., 2022). Isıl teknolojilere alternatif olarak ısı olmayan gıda işleme teknolojileri uygulanabilmektedir. Söz konusu alternatif gıda işleme teknolojileri yüksek hidrostatik basınç, elektroplazmoliz, ultrasonikasyon, elektromanyetik radyasyon, vurgulu elektrik alan, gama ışınları, X ışınları, vurgulu ışık, ultraviyole ışık uygulamaları, görünür bölge ışık uygulamaları, kızıl ötesi ışık gibi teknolojileri içermektedir (Özkütük, 2007; Baysal ve İçer, 2012).

Meyve sularında; askorbik asit, karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşikler bulunmaktadır. Bu bileşikler, meyve sularının kalitesinin ve besin değerinin ortaya konulmasında önemlidir (Dinçer ve Topuz, 2018). Meyve sularına uygulanan ısı

işlemler mikrobiyal inaktivasyon (D'amico vd., 2006) sağlamanın yanı sıra, biyoaktif bileşenlerin etkilenmesine de neden olabilmektedir (Patil vd., 2009). Gıda ürünlerinde, ısıl işlem uygulamalarına alternatif olarak kullanılan ultrasonikasyon uygulaması; meyve suyu üretiminde mikrobiyal inaktivasyon ve enzim inaktivasyonunun yanı sıra fiziksel, ürünün besinsel ve duyuşal özelliklerinin de korunması için tercih edilebilir. Konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalar ultrasonikasyon uygulanmasının gıdaların biyoaktif bileşen içeriğini koruduğunu göstermiştir (Yıldız, 2021).

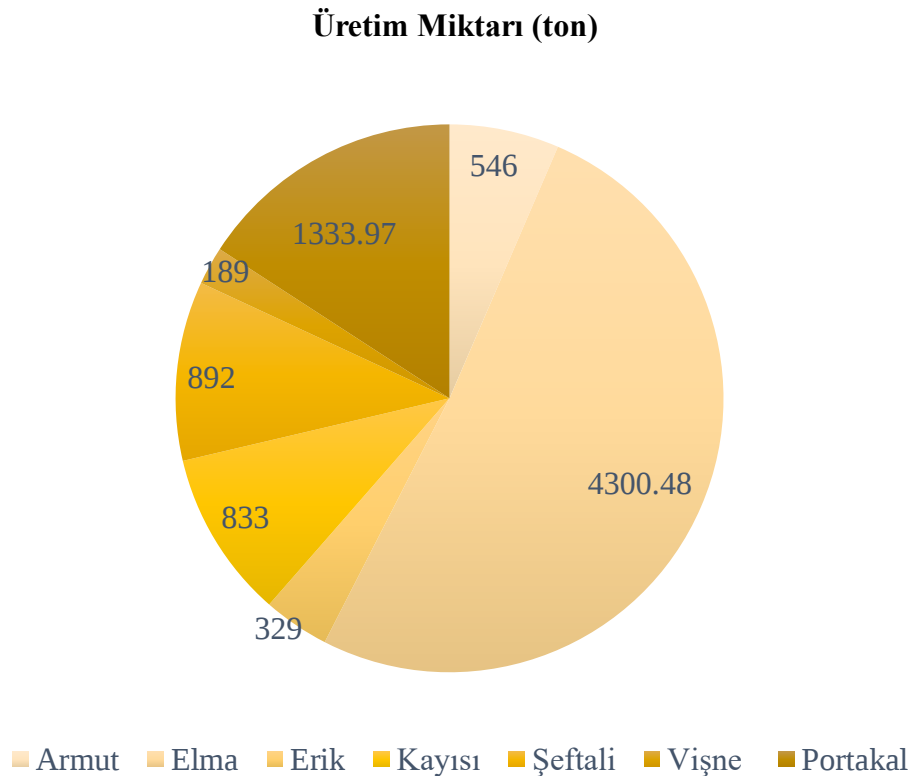
Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından yenilikçi gıda işleme teknolojilerinin gıdalarda pastörizasyon amacıyla kullanılması için üründe bulunması muhtemel patojenlerde en az 5 logaritmik birimlik (log) bir inaktivasyon sağlması gerektiği belirtilmiştir (USFDA, 2001).

Bu tez çalışmasında ısıl olmayan gıda işleme teknolojilerinden, ultrasonikasyon uygulaması ile ultraviyole (UV-C) ışık uygulaması ticari elma sularına mikrobiyal inaktivasyon amacıyla kombine bir şekilde uygulanmıştır. Tez çalışmasında kombine uygulama ile hedef mikroorganizma olan *E.coli* O157:H7 için mikrobiyal inaktivasyon süresinin kısaltılması ve ısıl işlem uygulamalarında ulaşılan yüksek sıcaklıkların da elemine edilerek buradan kaynaklı kalite kayıplarının en aza indirilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca uygulama sonunda istenen mikrobiyal inaktivasyon düzeyinin elde edildiği uygulama koşullarının elma sularının bazı kalite parametreleri [suda çözünen kuru madde (°Bx), pH, toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik bileşik, toplam flavonoid içeriği, renk, kahverengileşme indeksi] üzerine etkileri de belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

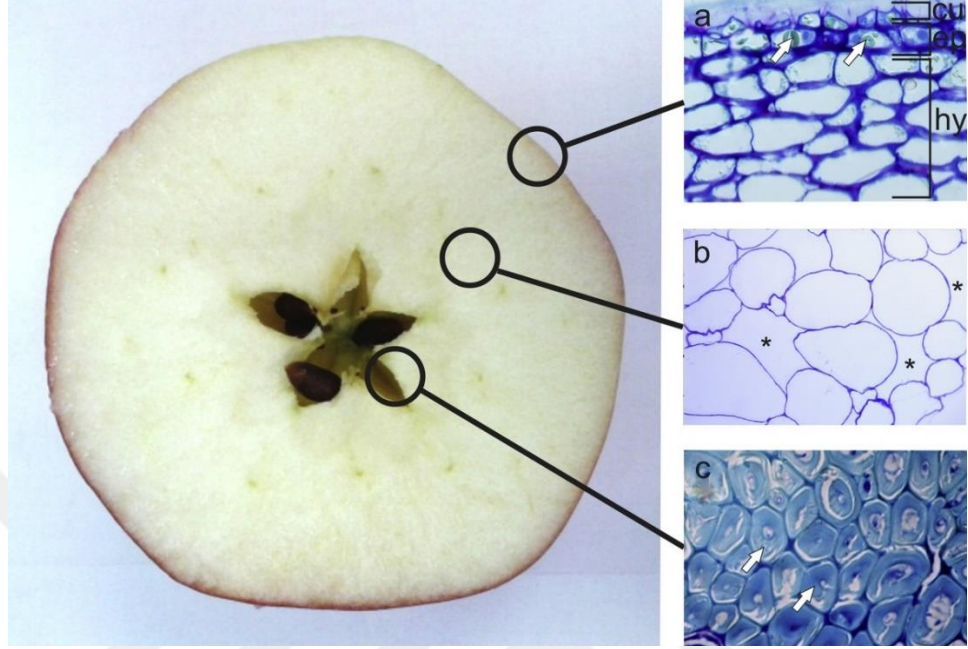
2.1. Elma Suyu ve Gıda Endüstrisindeki Önemi

Meyve, sağlıklı meyve suyu üretimi için gerekli taze besin öğelerini içeren hammadde olarak ifade edilmektedir (Cemeroğlu, 2011). Türkiye’de 2020 yılında en fazla üretimi olan meyvenin 4.300 ton ile elma (*Malus domestica* Borkh.) olduğu görülmektedir (Şekil 2.1) (BUGEM, 2020). İlgili yıldaki elma üretim alanları önceki yıla oranla %2 azalsa da elma üretiminde %18’lik artış olduğu bildirilmiştir (TEPGE, 2021). Elmanın anavatanı Güney Kafkaslar olsa da iklim şartlarının elverişli olması nedeniyle ülkemizde de yetiştirilmektedir (Oğuz ve Karaçayır, 2009). Dünya 2020 yılı elma ihracatında birinci sırada Çin yer alırken, Türkiye elma ihracatında sekizinci sırada yer almaktadır. 2020 yılı Türkiye elma ihracatının 210.000 ton ve aynı yıl elma ithalatının 473 ton olduğu; 2020 yılında hasat edilen 4.300 ton elmanın ise 2.670 tonunun ülkemizde işlendiği bildirilmiştir. 2020 yılı en fazla elma üretimi olan ilimiz ise Isparta olmuştur (TEPGE, 2021).



Şekil 2.1. Türkiye’de 2020 yılına ait meyve üretim miktarları (BUGEM, 2020)

Elma yapısı itibariyle üç kısımdan oluşmaktadır. Bunlar dıştan içe doğru ekzokarp, mezokarp ve endokarp bölgeleridir. Elmanın ilgili kısımlarının mikroskop altındaki görüntüleri Şekil 2.2’de verilmiştir.



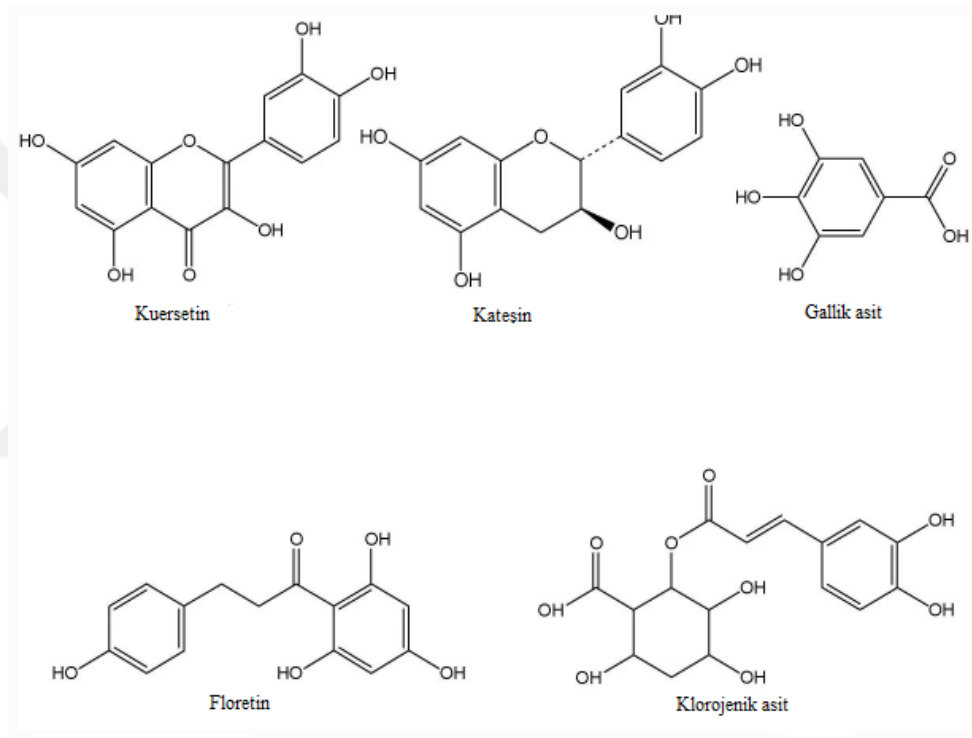
Şekil 2.2. Elmanın mikroskop altındaki görünümü: a) ekzokarp, b) mezokarp ve c) endokarp (Leszczuk vd., 2018)

Taze meyvelerin toplam kuru madde içeriğinin yaklaşık %75’ini suda çözünür kuru madde, %25’ini suda çözünmeyen kuru madde oluşturmaktadır (Cemeroğlu, 2011). Çizelge 2.1’de elmalarda bulunan başlıca bileşenler ve bu bileşenlerin miktarları (%) verilmiştir.

Çizelge 2.1. Elmalarda bulunan yüzde başlıca bileşenler ve miktarları (Ekşi ve Karadeniz, 1991)

Bileşen	Miktar (%)
Suda çözünmeyen kuru madde	1,0-3,5
Suda çözünen kuru madde	8-17
Toplam şeker	7-12
Toplam asit	0,2-1,7
pH	3,2-3,5
Pektin	0,6-1,0
Kül	0,3-0,4

Tüketiciler tarafından elma, içerdği biyoaktif bileşikler nedeniyle tercih edilmektedir. Elmalardaki biyoaktif bileşikler arasında; makroblesinler, vitaminler, mineraller, elementler, flavanoller, hidroksisinamik asitler, dihidrokalkonlar, antosiyaninler bulunmaktadır (Oyenihi vd., 2022). Elmaların içerdği biyoaktif bileşenlerin kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser türlerinin tedavisi ile astım ve diyabet riskinin azalmada yararları olduğu ifade edilmektedir (Boyer ve Liu, 2004; Biedrzycka ve Amarowicz, 2008; Kolniak Ostek vd., 2013). Elmada bulunan antioksidan bileşiklerden bazıları; kuersetin, kateşin, gallik asit, floretin ve klorojenik asittir (Şekil 2.3) (Boyer ve Liu, 2004).



Şekil 2.3. Elmada bulunan bazı antioksidanların kimyasal yapıları (Boyner ve Liu, 2004)

Bir porsiyon (100 g) elmada 13,2 mg kuersetin, 8,65 mg kateşin, 5,59 mg floretin, 12,8 mg C vitamini ve 9,02 mg klorojenik asit olduğu bildirilmiştir (Lee vd., 2003). Yine 100 g elmanın antioksidan bileşik içeriği bakımında 1.500 mg C vitaminine denk olduğu belirtilmektedir (Eberhardt vd., 2000).

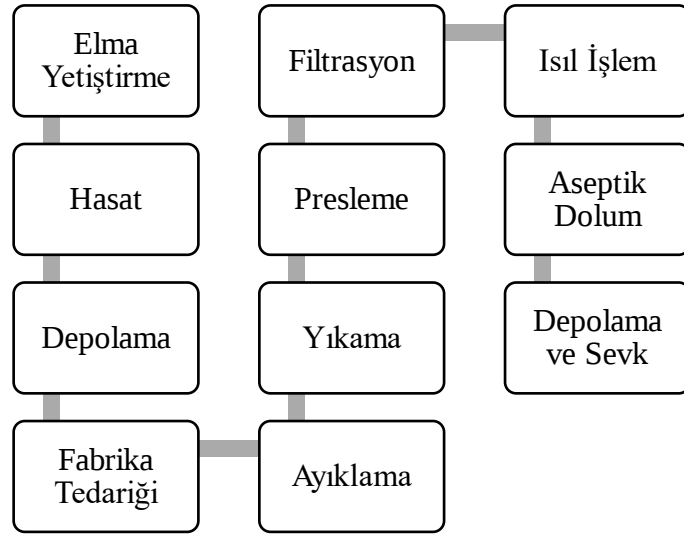
Elmanın, yüksek lif içeriği sayesinde kolesterol düşürücü etki sağladığı belirtilmiştir (Nagasako-Akazome vd., 2005). Elmada bulunan lif, pektin açısından zengindir. Elmada %0,5-1,6 arasında pektin bulunmaktadır (Prasanna vd., 2007; Chawla

ve Patil, 2010). Bir porsiyon (100 g) elmada 13,9 g lif bulunmakta ve söz konusu lif günlük tüketilmesi önerilen ortalama lif alımının %46'sını karşılamaktadır (Chawla ve Patil, 2010). Ancak elma suyuna işlenmesinden sonra son üründe lif bulunmamaktadır (Şekil 2.3) (USDA, 2018). Bir bardak (200 mL) elma suyunun, bir porsiyon elma yerine tüketilebileceği ve elma tüketimine alternatif olabileceği fakat lif içeriği bakımından elma tüketimi ile aynı etkiyi göstermeyeceği bildirilmektedir (Ravn-Haren vd., 2013). Elma suyu tüketimi, elmada bulunan biyoaktif bileşenlerden ve olumlu sağlık etkilerinden yararlanmak için alternatif kabul edilmektedir (Vallée Marcotte vd., 2022).

Meyve suları, doğal ve sağlıklı besin içerikleri nedeniyle dünyada en çok tercih edilen içecekler arasında yer almaktadır (Ağçam vd., 2018). Doğal meyve suları, sulandırılma oranına göre meyve suyu, meyve nektarı ve meyveli içecek olarak 3 farklı gruba ayrılmaktadır (Cemeroğlu, 2011). Meyve nektarı, “meyve suyuna, konsantreden üretilen meyve suyuna, meyve suyu konsantresine, su ile ekstrakte edilen meyve suyuna, meyve suyu tozuna, meyve püresine ve/veya meyve püresi konsantresine ve/veya bunların karışımına, şekerlerin ve/veya balın ilave edilmesiyle veya ilave edilmeksizin su ilave edilmesiyle elde edilen, belirtilen özelliklere uygun, fermente olmamış ancak fermente olabilen ürün” olarak tanımlanmaktadır (TGK, 2014). Türk Gıda Kodeksi Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği'ne göre meyve sularının en az içermesi gereken meyve miktarları şu şekilde verilmiştir; meyve suyu %100, meyve nektarı %50 ve meyveli içecek için %3 (TGK, 2014).

Elma suları, meyvelerden ya da konsantre meyve suyunun istenen suda çözünür katı madde içeriğine sulandırılmasıyla elde edilmektedir (de Souza Sant'Ana vd., 2008). Elma suyu üretim aşaması Çizelge 2.2'de verilmiştir. Elma suyunda kullanılacak elmaların önceki dönemde hasat edilmesinin, meyve işlemede oluşabilecek durultma sorunlarını engellediği ve lezzet bakımından daha uygun olduğu ifade edilmektedir. Küçük boyutlu elmalarda kabuk oranının zengin olduğu ve kabukta aroma maddelerinin daha fazla bulunduğu belirtilmiştir (Cemeroğlu, 2011).

Çizelge 2.2. Elma suyu üretim şeması (FAO, 2003)



Meyve suları, berrak ve bulanık meyve suyu olarak iki gruba ayrılmaktadır. Berrak meyve sularının üretim aşamasında bulanık meyve suyu üretiminden farklı olarak durultma ve filtrasyon uygulamaları bulunmaktadır (Artık, 2006). Elma suyunun (%100) bileşimi Çizelge 2.3’de verilmiştir.

Çizelge 2.3. %100 Elma suyunun bileşimi (USDA, 2018)

Bileşen/Parametre	İçerik
Enerji	50 kalori
Protein	0 g
Toplam Lipit (Yağ)	0 g
Karbonhidrat	12,08 g
Lif	0 g
Toplam Şeker	11,67 g
Kalsiyum	0 mg
Sodyum	0 mg
Toplam Askorbik Asit	30 mg
Demir	0 mg
Potasyum	115 mg
A Vitamini	0 IU ^a
Toplam Doymuş Yağ Asitleri	0 g
Toplam Trans Yağ Asitleri	0 g
Demir	0 mg
Kolesterol	0 mg

^a(IU: Uluslararası birim)

2.2. Elma Suyunda Gelişen Patojen Mikroorganizmalar

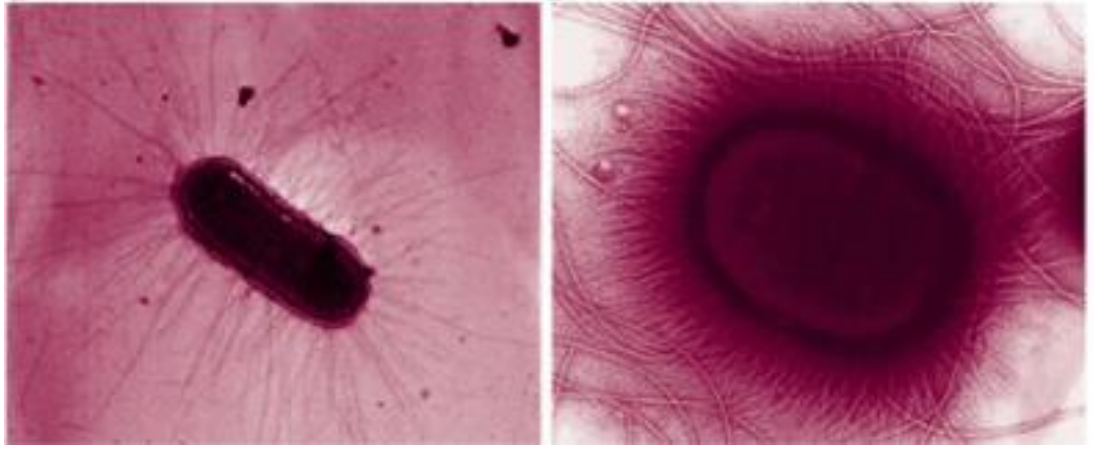
Gıda kaynaklı zehirlenmelerden dolayı yılda ortalama 48 milyon kişinin hastalandığı, 128 bin insanın hastanede tedavi olduğu ve 3 bin kişinin de öldüğü belirtilmiştir (USFDA, 2020). Meyvelerin de mikroorganizma kaynaklı bozulmaları insanlarda kronik zehirlenmelere neden olmaktadır. Şehir suları ile yıkanan meyvelerin yüzeylerinde *Salmonella typhi* sıklıkla görülmektedir. Meyve ürünlerinin mikroflorasında *Escherichia coli* ile *Alicyclobacillus*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus* ve *Micrococcus* türlerine rastlanmaktadır (Cemeroğlu, 2011). Meyve sularının düşük pH'sı nedeniyle gelişen patojen mikroorganizmalar ve meyve sularının yüksek nem içeriği mikrobiyal bozulmalara neden olmaktadır (Mandha vd., 2023). Yapılan bir çalışmada; 1998-2002 yılları arasında gıda kaynaklı salgınların %19,6'sında bakterilerin rol aldığı ve *E.coli*'nin salgınların %2,4'ünde rol oynadığı bildirilmiştir (Lynch vd., 2006). Elma suyunda patojen mikroorganizma kaynaklı gerçekleşen salgınlar incelendiğinde, *E.coli* kaynaklı zehirlenmeler sonucu ölüm oranının yüksek olduğu belirtilmektedir (USFDA, 2020).

2.2.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, 1885 yılında Theodor Escherich tarafından bir çocuk dışkılarından izole edilmesi ile keşfedilmiştir (Ray ve Bhunia, 2007; Halkman, 2019). *E.coli*, Gram negatif, kısa çubuk şeklinde, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerop ve hareketli mikroorganizmalardır (Ray ve Bhunia, 2007). *E.coli*'nin mikroskop altındaki görüntüsü Şekil 2.4'de verilmiştir. *E.coli*, optimum 37±2 °C ve pH 7,2'de hızlı gelişme göstermektedir. *E.coli*, sığırlarda kolonize olabilmekte ve hayvan dışkıları ile gıda ürünlerine kontamine olabilmektedir (Halkman, 2019).

E.coli salgınlarının genellikle hayvansal ürünler kaynaklı olduğu bildirilmesine karşın 1996 yılında gerçekleşen *E.coli* salgının elma suyundan kaynaklandığı kayıtlara geçmiştir. Bulaşı kaynağının ise elmalardaki kontaminasyon olduğu bildirilmiştir (Cody vd., 1999). Pastörize edilmemiş meyve sularından kaynaklanan *E.coli* O157:H7 ve diğer patojen enfeksiyon salgınlarının meydana gelmesi ile FDA tarafından, 2001 yılında meyve sularında patojenlerin inaktivasyonunda 5 log azalmayı sağlaması gerektiği bildirilmiştir (USFDA, 2001). *E.coli* O157:H7 tehlikesine karşı meyve sularının, süt ve ürünlerinin pastörize edilmesi, et ve ürünlerinin ise iyice pişirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Turgut, 2021).

Bilinen en önemli *E.coli* serotipi, gıda kaynaklı patojenlerden biri olan *E.coli* O157:H7 serotipidir. Çocuklarda ve yaşlılarda ölümle sonuçlanan hastalıklara neden olduğu bilinmektedir (Halkman, 2019). Gıdalarda ve sularda yaşayabilmektedir ve meyve suyu gibi asitli ortamlarda uzun süre canlılıklarını koruyabilmektedir (Patil vd., 2009). Düşük pH ve düşük su aktivitesi, gelişmelerini sınırlandırabilmektedir. Ancak uzun süre asit ortama maruz kaldıklarında direnç göstererek asite tolerans kazanmış duruma geçebilmektedir (Hsin-Yi ve Chou, 2001; Tosun ve Gönül, 2003; Ray ve Bhunia, 2007). En sık izole edilen enterik patojenlerden birisidir. *Escherichia coli* O157:H7 serotipi, $\geq 44,5$ C'de gelişemez, safra tuzlarına daha az dayanıklıdır, 48 saat içinde sorbitolü fermente edememektedirler ve aside daha fazla direnç göstermeleri yönünden diğer serotiplerden ayrılmaktadır (Akçelik vd., 1999; Halkman, 2019). *Escherichia coli* O157:H7, 1982 yılında gıda nedeniyle gerçekleşen gastrointestinal salgınının ardından, patojen olarak tanımlanmıştır (Doyle, 1991). *Escherichia coli* O157:H7, enterohemorajik sınıfta yer almaktadır ve florası sıcakkanlı hayvanların bağırsak sistemidir. Kanlı diyare ve bağırsak iltihaplanmasına yol açmaktadır (Akçelik vd., 1999; Halkman, 2019).



Şekil 2.4. *Escherichia coli* O157:H7'nin mikroskopik görünümü (Kaper vd., 2004)

Sorbitol fermente edemezler ve glukuronidaz aktivitesi bulunmamaktadır (Ray ve Bhunia, 2007). *E.coli* O157:H7'nin aside toleransı nedeniyle mide asitinde inaktive olmayıp bağırsağa kolaylıkla ulaşabilmektedir (Halkman, 2019). *E.coli* O157:H7, %6,5 NaCl varlığında, 200 ppm nitrit ve %4 NaCl içeren pH 5,6 olan sıvı besiyerinde gelişme göstermektedir (Halkman, 2019).

2.2.2. Termal Ölüm Süresi (D değeri)

Mikroorganizmaların ısıya karşı duyarlılıkları; tür ve suşun direnci, gelişim evreleri ve başlangıçta bulunan mikrobiyal yüküne bağlıdır. Mikroorganizmalar belirli sıcaklıkta ısıtıl işlem uygulandığında sabit hız ile inaktive olmaktadır. Mikrobiyal inaktivasyon için gerekli sıcaklık ve süre kombinasyonu olarak ifade edilmektedir (Ray ve Bhunia, 2007)

Hedef mikroorganizmanın belirli sayıdaki hücresinin %90 azaltılması için gereken ısıtıl işlem süresi D değeri olarak tanımlanmaktadır. “ D_T ” değerinin bulunmasında kullanılan Denklem 2.1’de verilmiştir (Ray ve Bhunia, 2007).

$$D_T = \frac{t}{\log_{10}x - \log_{10}y} \quad (2.1)$$

x: Başlangıç mikroorganizma sayısı

y: Isıl işlem sonrası mikroorganizma sayısı

T: Sıcaklık (°C)

t: süre (dakika)

E.coli O157:H7 suşunun en fazla gelişim gösterdiği sıcaklık 30-42±2 °C aralığındadır. Sıcaklık arttıkça *E.coli* gelişiminin yavaşladığı yapılan çalışmada gözlemlenmektedir (Noor vd., 2013) Zayıf gelişim sıcaklığı 44-45±2 °C iken 10±2 °C’nin altında gelişim göstermediği ancak -20±2 °C’nin altındaki sıcaklıklarda canlılıklarını koruyabildikleri ifade edilmiştir. İnaktive olabilmeleri için gerekli ısıtıl işlem sıcaklığının 64,3±2 °C olduğu ve bu sıcaklıkta 9,6 saniyelik sürede canlılıklarını kaybettikleri belirtilmiştir (Ray ve Bhunia, 2007).

Ultrasonikasyon ve ultraviyole ışık, birçok enzim ve mikroorganizma için inaktivasyon sağlayarak gıda ürününü koruyabilmektedir (Chandrapala vd., 2012). Meyve sularının, daha hızlı ve etkili pastörizasyonunu sağlamak için ultrasonikasyon ve ultraviyole ışığın kombine bir sistem olarak kullanılması mikrobiyal inaktivasyon etkinliğini arttıracığı öngörülmüştür (Dündar, 2022). Yüksek sıcaklıklara ulaşmadan mikrobiyal inaktivasyonu sağlaması ile kalite bileşenlerinin olumsuz etkilenmemesi yönünden ısıtıl işlemlere göre avantaj sağlamaktadır (Roobab vd., 2018; Morales-de la Peña vd., 2019).

2.3. Elma ve Elma Sularının Depolama Koşulları

Gıda ürünlerine herhangi bir işlem uygulanmadığında bozulma süreci hızla gerçekleşmektedir (Sayiner ve Beyhan, 2023). Meyve ve sebzeler de fazla su içermeleri nedeniyle hızlı bozulan gıdalardandır (Cemeroğlu, 2011). Bu sebeple muhafaza

koşullarının uygun olması çok önemlidir. Muhafaza koşullarının uygun olması ile gıda ürünlerinin kalitesi bozulmadan raf ömürleri uzatılabilir. Gıdaların muhafaza yöntemleri farklılık göstermektedir. Bunlar soğukta muhafaza, ısıtma işlem uygulamaları, kurutma, kimyasal ilavesi, haşlama, ısıtma uygulanması ve modifiye atmosfer teknikleridir (Sayiner ve Beyhan, 2023).

Yıllık meyve üretimi düşünüldüğünde soğuk hava depoları yetersiz kalmakta ve bu yüzden uzun süreli depolama yapılamamakta bu sebeple de meyvelerin hasattan sonra depolanmasının büyük bir sorun oluşturduğu belirtilmektedir (Ahmed vd., 2021). Meyveler uygun koşullarda depolandığında taze özelliklerini uzun süre koruyabilmektedirler. Uygun depolama koşulları farklı nem ve farklı sıcaklık derecesine bağlıdır (Cemeroğlu, 2011). Elmalar $-1,3/-2,0 \pm 2$ °C aralığında donmaya başlar ve meyvelerin donması hücrelerin ölmesi olarak ifade edilmektedir. Donmuş bir meyve büyük oranda su kaybetmektedir (Cemeroğlu, 2011).

Elmaların optimum depolama sıcaklığı $0/+5 \pm 2$ °C ve bağıl nemi %90-95 aralığında 2-6 ay depolamaya elverişli olmaktadır (Cemeroğlu, 2011). Depolamada uygun olmayan sıcaklıklar ile elmalarda bozulmalardan kaynaklı küf oluşumu ve doku yumuşaması gerçekleşmektedir (Prasanna vd., 2007; Cemeroğlu, 2011). Elmalarda oluşan küfler, yüzeyde halkalar oluşturmaktadır. Elmaların yumuşaması ve kahverengi lekeler oluşmaya başlaması bozulma belirtileri olarak nitelendirilmektedir. Elmada oluşabilecek küf elma suyuna geçeceği için depolama koşullarına dikkat edilmesi gerekmektedir. Patulin, küflerin oluşturduğu bir mikotoksindir ve elma ürünlerinde sıklıkla rastlanmaktadır. İnsan sağlığı açısından olumsuz etkileri bulunmaktadır (Cemeroğlu, 2011; Kadakal ve Nas, 2011). Fareler üzerinde yapılan araştırmaya göre, beyin, karaciğer ve böbrekleri olumsuz etkilediği ifade edilmiştir (de Melo vd., 2012). Bunların yanı sıra, gastrointestinal ve immünotoksikite gibi sağlık problemlerine neden olduğu belirtilmiştir (Vidal vd., 2019). Küflenmiş elmaların elma suyuna işlenmesi sonrasında üründe küf metabolitlerine rastlanmaktadır. Patulin, asidik ortamlarda ısıya karşı dirençlidir ve elma sularında önemli bir kalite problemi olduğu belirtilmektedir (Cemeroğlu, 2011). Elmaların işlenme öncesi depolanmasında donmasına elverişli olmayacak şekilde depolanması elma suyu kalitesi açısından büyük önem taşımaktadır (Kadakal ve Nas, 2011).

Elma suyunun raf ömrü enzimlerin etkisi nedeniyle sınırlıdır. Elma sularına muhafaza teknolojilerinin uygulanmasının kalite kayıplarının en aza indirilmesi ve raf ömrünün uzatılması açısından önemli olduğu görülmektedir. Elma suyunun; ısıtma,

dondurma, pH düşürme, koruyucu ilavesi ve mikrobiyal inaktivasyon uygulamaları ile bozulması engellenebilmektedir (Arya vd., 2023).

2.4. Elma Suyunun Muhafazası ve Alternatif Metotlar

Gıda ürünlerinin fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik açıdan güvenli gıda olarak ifade edilebilmesi ve raf ömrünün uzatılması için ısıtım teknolojileri kullanılmaktadır (Yıldız, 2021). Isıtım işlemlerin temeli, gıdada oluşabilecek olumsuzlukları en aza indirerek en uygun sıcaklık ve en kısa sürede pastörizasyonu gerçekleştirmektir (Cemeroğlu, 2011). Meyve suları besin içerikleri bakımından zengin fakat hızlı bozulabilen gıda ürünleridir (Roobad vd., 2018). Pastörize edilmemiş elma suları yüksek mikrobiyal yüke sahiptirler bu nedenle işlenmeleri önemlidir (Samani vd., 2015). Genellikle ısıtım teknolojiler ile pastörizasyon uygulanan meyve sularında ısıtım işlemlerden kaynaklı fiziksel, kimyasal değişiklikler meydana gelmekte ve kalite bileşenlerini olumsuz etkilenmektedir (Petrucci vd., 2017; Baboli ve Chen, 2020; Mandha vd., 2023). Elmaların meyve suyuna işlenmesi sırasında da uygulanan ısıtım işlemlerden dolayı fenolik bileşiklerde önemli oranda azalma olduğu belirtilmektedir (Boyer ve Liu, 2004). Aynı zamanda enzimatik esmerleşme reaksiyonu sonucunda renk bozulmaları ortaya çıkmaktadır (Abid vd., 2013). Isıtım teknolojileri mikrobiyal inaktivasyonun yanı sıra enzim inaktivasyonunu da etkilemektedir. Meyve sularına uygulanan ısıtım işlem ile polifenoloksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) enzim inaktivasyonu sağlanmaktadır (Cemeroğlu, 2011).

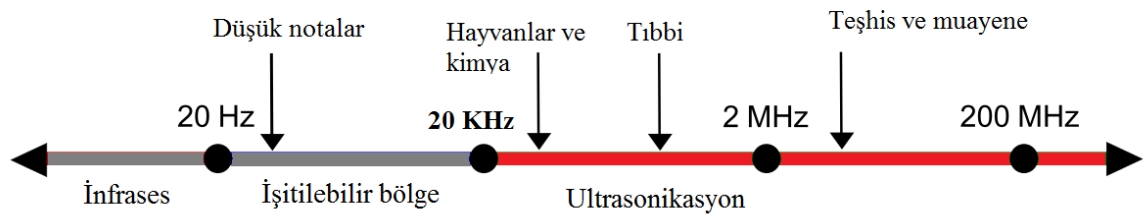
Mikroorganizmaların ısıya karşı olan dirençleri farklılık gösterdiğinden ortamın pH derecesine bağlı olarak, farklı sıcaklık ve farklı sürelerde ısıtım işlem ile muhafaza edilmektedir. Meyvelerin pH derecesi 4,5'in altında olduğundan dolayı 100 °C'nin altındaki sıcaklıklar uygulanmaktadır (Cemeroğlu, 2011).

Elma suyu pastörizasyonunda, 75-88 °C'de 25-30 saniye uygulanan HTST (Yüksek sıcaklık ve kısa süre) yöntemi kullanılmaktadır (Moyer ve Aitken, 1980; Singh ve Gehlot, 2015). Yapılan bir çalışmada (Abid vd., 2013), ısıtım işleme teknolojisi ve ısıtım olmayan işleme teknolojisi elma suyu örneklerinde karşılaştırılmıştır. Isıtım olmayan işleme teknolojisinde depolama süresi boyunca örneklerin pH, asitlik, renk, bulanıklık, askorbik asit ve antioksidan içeriklerinin daha iyi korunduğu belirtilmiştir (Abid vd., 2013). Böylelikle meyvelerin işlenmesinde ısıtım teknolojilerle oluşan kalite kayıplarını engellemek ve tüketici talepleri doğrultusunda ürün elde etmek için ısıtım olmayan gıda işleme teknolojileri uygulamalarının arttığı görülmektedir.

Tüketicilerin taze gıdalara artan taleplerinden dolayı, ısıt olmayan gıda işleme teknolojilerinin, meyve suyu işlemede kullanımının arttığı görülmektedir (Chang vd., 2007). Isıt işlem uygulamalarına görece biyoaktif ve besleyici bileşen özelliklerini olumlu düzeyde koruması, ısıt olmayan gıda işleme yöntemlerinin çalışmalarını güçlendirmiştir (Dinçer ve Topuz, 2018). Bu uygulamalar, ısıt işlem teknolojilerine göre daha düşük sıcaklıklarda ($\leq 40 \pm 3$ °C) gerçekleştiğinden dolayı, sıcaklık ile oluşan meyve suyu kalitesindeki olumsuzlukları ortadan kaldırması beklenmektedir (Pala ve Tokluca, 2010). Meyve sularının işlenmesinde uygulama alanı bulan; yüksek hidrostatik basınç (Porebska vd., 2017), vurgulu elektrik alan (Taştan, 2019), ultrasonikasyon (D'amico vd., 2006), ultraviyole ışık (Caminiti vd., 2012) ve soğuk plazma (Montenegro vd., 2002) ısıt olmayan gıda işleme yöntemlerinden bazılarıdır. Düşük sıcaklıkta muhafaza uygulamalarında ise mikrobiyal gelişmenin durdurulabildiği fakat tamamen engellenemediği belirtilmiştir. Psikrofil mikroorganizmaların gelişmesi devam ettiği için muhafaza işlemi uzun süreli olarak sağlanamamakta, ek uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır (Singh ve Gehlot, 2015).

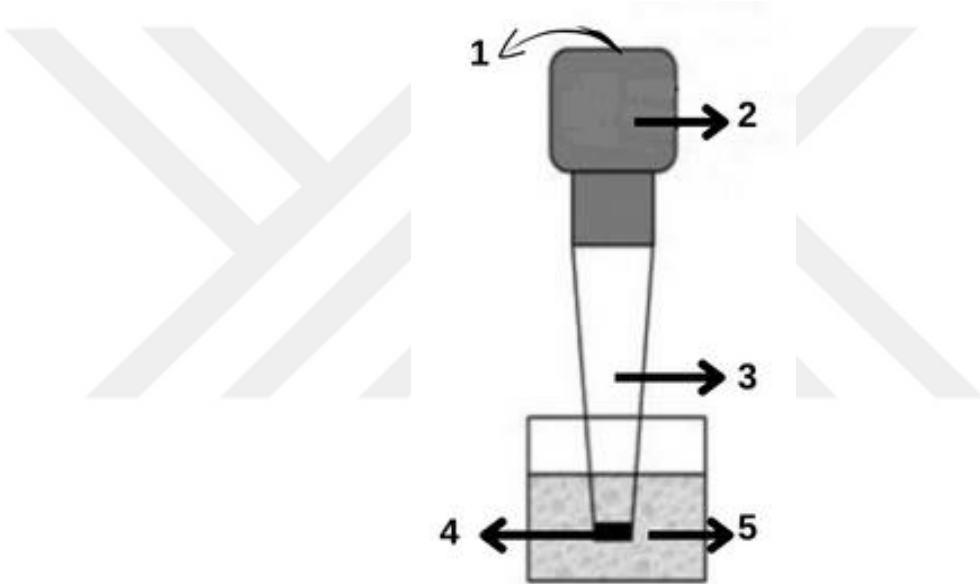
2.5. Ultrasonikasyon (US)

Ultrasonikasyonun temel mekanizması ses dalgalarının saçılması ve yansımaya dayanır. Ses dalgaları mekanik dalgalar olarak ifade edildiğinden katı, sıvı ve gaz maddelerde sabit hızlarda ilerlemektedir. İnsan 20 Hz ile 20.000 Hz frekans aralığındaki sesleri duyabilmektedir. Bu aralık (Şekil 2.5) işitilebilir bölge olarak ifade edilmektedir. Ultrasonikasyon (US), insan kulağı tarafından algılanamayacak yüksek frekanslardaki ses dalgalarının enerjisi olarak ifade edilmektedir. 20 kHz ve 10 MHz arasındaki frekans aralığında gerçekleştirilebilmektedir. Bu frekans aralığının altında kalan frekanstaki seslere ise infrases denilmektedir (Butz ve Tauscher, 2002; Piyasena vd., 2003; Chandrapala vd., 2012).



Şekil 2.5. Ultrasonikasyon ses diyagramı (Eljaaidi, A.A, 2016)

Ultrasonikasyon sistemi, jeneratör (1), dönüştürücü (2), US probu (3), iletici (4) ve örnek haznesi (5) kısımlarından oluşmaktadır (Şekil 2.6). Jeneratör şebekeden gelen akımı daha yüksek frekanslı akıma çevirirken oluşan yüksek frekanslı akım, dönüştürücüde mekanik titreşimlere dönüşmektedir. Oluşan titreşimler iletici kısımdan ultrasonikasyon uygulanan örnekler üzerine sıvının titreşimi yoluyla aktarılmaktadır. Ultrasonikasyonun belirleyici parametreleri; frekans, dalga boyu, genlik, sıcaklık ve ultrasonikasyon gücü olarak belirtilmektedir. Uygulama biçimi ultrasonik banyo ve proplu ultrasonikasyon olarak iki çeşit uygulanmaktadır (Patist ve Bates, 2008; Yıldız, 2021). Ultrasonik prop, örnek içerisinde daldırıldığında ultrasonikasyon yoğunluğu prop ucunda gerçekleşmektedir (Chemat vd., 2011).



Şekil 2.6. Jeneratör (1), Dönüştürücü (2), US probu (3), İletici (4) ve Örnek haznesi (5)
(de Sao Jose vd., 2014)

Ultrasonikasyon, gıda kalite ve güvencesinde uygulanabilir ısı olmayan gıda muhafaza teknolojisidir (Chandrapala vd., 2012). Ultrasonikasyonun gıda endüstrisinde; ekstraksiyon (Wei vd., 2008), emülsifikasyon (Krasulya vd., 2016), kristalleştirme (Zhu vd., 2020), kesme (Schneider vd., 2008), kurutma (Yılmaz vd., 2019), filtrasyon (dos Santos Sousa vd., 2016), enzim inaktivasyonu (Engmann vd., 2015) ve mikrobiyal inaktivasyon (D'amico vd., 2006) gibi amaçlarla farklı uygulama alanları bulunmaktadır (Patist ve Bates, 2008; Tavman vd., 2009). Bahsi geçen uygulamalar Çizelge 2.4'de verilmiştir.

Çizelge 2.4. Ultrasonikasyonun gıda endüstrisinde kullanım alanları

Uygulama	Etki
Mikrobiyal inaktivasyon	Ultrasonikasyon uygulamasının, sıcaklık ve basınç kombinasyonları inaktivasyonda daha etkilidir. Düşük sıcaklıklarda ve hızlı şekilde gerçekleşebilmektedir.
Enzim inaktivasyonu	Düşük sıcaklıklarda inaktivasyon sağlanmaktadır.
Ekstraksiyon	Ekstraksiyon hızı ve etkinliği artmaktadır.
Kristalleştirme	Kristallerin hızlı oluşmasını sağlamaktadır.
Kurutma	Daha düşük sıcaklarda işlem gerçekleşmektedir.
Filtrasyon	Kirlenmenin azaltılması ve filtreden geçen madde miktarında artış gözlemlenmektedir.
Kesme	Zor maddelerin kesilmesine kolaylık sağlamaktadır.
Emülsifikasyon	Ticari uygulamalarda ekonomik katkı sağlamaktadır.

Ultrasonikasyon uygulaması; işlem süresinin kısaltılması, ürün kalitesinin artırılması ve daha az miktarda kimyasal kullanılması bakımından avantaj sağlamaktadır (Chemat vd., 2011), dolayısıyla gıda işlemede alternatif bir yöntem olarak kullanılabilmektedir (Ercan ve Soysal, 2013).

Ultrasonik ses dalgalarının yarattığı kavitasyon sırasında radikallerin oluşumu, kritik sıcaklık ve basınç koşulları nedeniyle kalite parametrelerinde değişiklik, kötü tatların meydana gelmesi, renk değişiklikleri, şeker içeriğinin azalması gibi bazı değişiklerin meydana gelebileceği ifade edilmiştir (Pingret vd., 2013). Kavitasyon etkisinin 2,5 MHz altındaki frekanslarda olduğu ve bu aralıklarda çalışılması gerektiği belirtilmiştir (Piyasena vd., 2003).

Ultrasonikasyon, ısı ve basınç kombinasyonları ile birlikte de kullanılmaktadır. Bu kombinasyonlar şu şekildedir;

- Manosonikasyon: Ultrasonikasyon ve basınç (MS) kombinasyonu
- Termosonikasyon: Ultrasonikasyon ve ısı (TS) kombinasyonu
- Manotermosonikasyon: Ultrasonikasyon, basınç ve ısı (MTS) kombinasyonudur (Chemat vd., 2011).

Gıda endüstrisinde mikrobiyal ve enzim inaktivasyonu uygulamalarında ultrasonikasyonun verimliliğini arttırmak için kimyasallar, basınç ve sıcaklık ile kombine olarak da kullanılabilir. Ultrasonikasyon uygulamasıyla, enzimler ve mikroorganizmalar ısı uygulamalara kıyasla daha düşük sıcaklıklarda inaktive edilebildiğinden daha kaliteli, lezzetli ve besleyici meyve suyu üretilmesi mümkün olacağı ifade edilmektedir (Dinçer ve Topuz, 2018).

Meyve sularında askorbik asit içeriği diğer bir kalite bileşeni olarak ifade edilmektedir (AnayaEsparza vd., 2017). Isı ve kavitasyonun meyve sularında, çözünmüş oksijenin uzaklaştırılmasını sağladığı ve askorbik asidin parçalanmasını geciktirebileceği belirtilmiş ve çalışma sonucunda ultrasonikasyon ile işlenmiş guava sularında askorbik asit içeriği daha yüksek bulunmuştur (Chang vd., 2007).

Bulanık elma suyu biyoaktif bileşenler açısından zengindir. Biyoaktif bileşenlerin uzaklaştırılması ile berrak elma suyu üretilmektedir ve tüketici tarafından daha çok tercih edildiği belirtilmiştir. Ultrasonikasyon sonucunda elma suyunda bulanıklık kalitesinin arttığı belirtilmiştir (Ergutay ve Başlar, 2014).

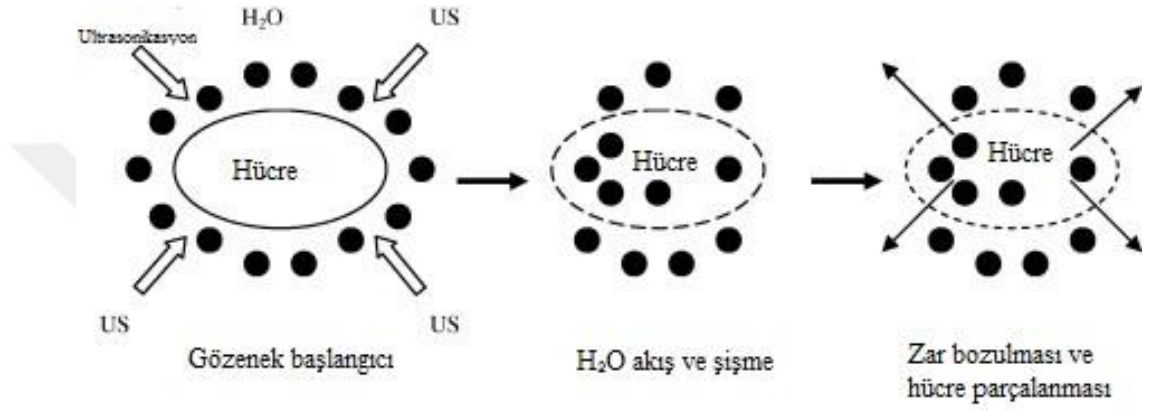
Ultrasonikasyon uygulaması meyve suyu işlemede genel olarak hedef mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonu amacıyla uygulanmaktadır (Dinçer ve Topuz, 2018). Ultrasonikasyonun meyve suyu pastörizasyonunda uygulanabilir bir teknoloji olacağı bildirilmiştir. İşlem sırasında bazı reaksiyonlar meydana gelebileceği öngörülmüş ve besin değerleri açısından daha fazla çalışmalar gerçekleşmesi gerektiği vurgulanmıştır (Mohideen vd., 2015).

2.5.1.Ultrasonikasyon Teknolojisi ile Mikrobiyal İnaktivasyon

Güçlü ultrasonikasyon olarak adlandırılan frekanslarda, kavitasyon dalgaları ve gaz kabarcıkları oluşur. Kavitasyon dalgaları sıcaklık ve basınç bölgeleri oluşturarak mikroorganizma inaktivasyonunu sağlamaktadır (Piyasena vd., 2003). Bu yöntem ısı işlemlere göre gıda bileşenlerinde daha az değişikliğe neden olmaktadır (Butz ve Tauscher, 2002).

Ultrasonikasyon, sıvı bir örneğe uygulandığında içerisinde basınç değişikliklerinden dolayı kavitasyon oluşmaktadır (Chang vd., 2007). Kavitasyon tarafından oluşturulan kimyasal ve fiziksel kuvvetler, mikroorganizmaların hücre duvarında ciddi hasara yol açarak, mikrobiyal inaktivasyon sağlamaktadır. Ayrıca sıvı gıdalardaki öldürücü etki sayesinde, hücre parçalanmasına kadar yapısal ve fonksiyonel bileşenleri bozan hücre içi kavitasyona da neden olmaktadır (Chandrapala vd., 2012).

Ultrasonik mikrobiyal inaktivasyon mekanizması; hücre zarının incilmesi, bölgesel ısınma ve serbest radikallerin üretilmesine dayanmaktadır (Chemat vd., 2011). Akustik kavitasyon, hücreleri parçalayacak ve enzimleri denatüre edecek sıcaklık ve basınç üretmektedir. Oluşan kabarcıklar, hücre duvarında hasara yol açılacak yüzeylere sahiptirler. Hücre duvarındaki hasar ile sitoplazma patlar, ardından hücre zarı bozulması ve hücrenin parçalanması ile mikroorganizmaların inaktivasyonu gerçekleşir (Chemat vd., 2011; Chandrapala vd., 2012; de Sao Jose vd., 2014). Hücre içi kavitasyon oluşumu Şekil 2.7’de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Ultrasonikasyon gerçekleştiren hücre hasar mekanizması (Chemat vd., 2011)

Ultrasonikasyonun mikrobiyal inaktivasyon etkisi bazı parametrelere bağlıdır (Piyasena vd., 2003; Cheng vd., 2007; Dinçer ve Topuz, 2018). Bu parametreler ortam koşullarına ek olarak şu şekilde sıralanmıştır;

- Ultrasonikasyon gücü, genliği, uygulama süresi,
- Mikroorganizma türü,
- Örnek hacmi ve bileşimi.

Ultrasonikasyon tek başına uygulandığında, mikrobiyal inaktivasyonda yüksek güç ve uzun temas süreleri gerekmesinden dolayı diğer gıda işleme teknolojileri ile kombinasyon halinde uygulanmasının işlemi güçlendireceği ve daha verimli olacağı ifade edilmiştir (Chandrapala vd., 2012). Ultrasonikasyonun ısı ve basınç kombinasyon etkileri Çizelge 2.5’de verilmiştir.

Çizelge 2.5. Ultrasonikasyonun, ısı ve basınç kombinasyonunun inaktivasyon etkileri

	Bitkisel Hücreler	Sporlar	Enzimler
Ultrasonikasyon	Etkin	Etkin değil	Etkin değil
Manosonikasyon	Etkin	Etkin	Etkin değil
Manotermosonikasyon	Etkin	Etkin	Etkin

Gıdalarda ultrasonikasyon işlemi ile inaktivasyonda en çok kullanılan mikroorganizmalar; *Saccaromyces cerevisiae* ve *Escherichia coli* olduğu belirtilmiştir. (Chemat vd., 2011). Mikroorganizmaların ultrasonikasyon işlemine olan dirençleri farklılık göstermektedir. Gram pozitif bakteriler kalın hücre duvarları nedeniyle, gram negatif bakterilerden daha dirençli olduğu bilinmektedir (Villamiel ve de Jong, 2000; Chemat vd., 2011). Koklar, basillere göre hücre yüzeyi ve hacmi nedeniyle ultrasonikasyona daha dirençlidir. Büyük hücreler üzerine ise ultrasonikasyon uygulamasının küçük hücrelerden daha etkili olduğu belirtilmiştir (Chemat vd., 2011).

2.5.2.Ultrasonikasyon Teknolojisi ile Enzim İnaktivasyonu

Meyvelerde bulunan pektin metil esteraz, polifenoloksidaz, peroksidaz ve lipoksigenaz gibi enzimler meyve suyunun kalite özelliklerini olumsuz biçimde etkileyebilmektedir. Bu nedenle meyve suyu işlemede mikrobiyal inaktivasyon için enzimlerin inaktivasyonu da hedeflenmektedir (Dinçer ve Topuz, 2018). Enzim inaktivasyonu ısı işlemleri ile kolaylıkla gerçekleşmektedir. Ancak mikrobiyal inaktivasyonda da olduğu gibi ısı işlem uygulamaları gıdaların bileşenlerinde ve duyu özelliklerinde değişimlere neden olmaktadır. (Chemat vd., 2011). Enzim inaktivasyonu; basınç, sıcaklık, pH ve uygulama süresine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Kombinasyon uygulamaları meyve sularında inaktivasyon etkinliğini daha fazla arttırdığı ifade edilmektedir (Roobab vd., 2022).

Portakal suyuna uygulanan ısı işlem uygulamasının, içerisindeki ısıya dayanıklı enzimlerin inaktivasyonunda etkili olmadığı bilinmektedir. Monotermosonikasyonun pektinmetilesteraz, lipaz ve proteaz enzimi inaktivasyonunda daha etkili olduğu kanıtlanmıştır (Vercet vd., 1997; Vercet vd., 1999). Ultrasonikasyon uygulamasının enzim inaktivasyonu etkinliği üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Katalaz enziminde (Potapovich vd., 2003), PPO ve POD enzimleri (Grintsevich ve Metelitsa, 2002; Jang ve Moon, 2011; Sun vd., 2015; Zhu vd., 2017), yaban turpunda peroksidaz enzimi (Lopez

ve Burgos, 1995), meyve suyunda endojen enzimi (Silva ve Sulaiman, 2017; Roobab vd., 2022) ve havuç suyunda peroksidaz enzimi (Jabbar vd., 2014) inaktivasyonunda ultrasonikasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elma ve portakal sularında PPO ve pektinmetilesterazın (PME) inaktivasyonunda manotermosonikasyon ile etkinliğini 10 kat arttırdığı belirtilmiştir (Güzel, 2013).

2.5.3. Ultrasonikasyon Teknolojisinin Meyve Suyu Endüstrisindeki Uygulamaları

Chang vd. (2007), tarafından guava meyve suyuna ultrasonikasyon uygulaması, 35 kHz'de 30 dakika uygulanmış ve sıcaklıklar 15-20 °C'de kontrol altında tutulmuştur. Ultrasonikasyonun kullanılması ile askorbik içeriğinde artış görülmüştür. Daha düşük berraklık ve daha yüksek polifenoloksidaz aktivitesi elde edildiği ifade edilmiştir (Chang vd., 2007).

Mohideen vd. (2015), tarafından yaban mersini suyunda sürekli ultrasonikasyon uygulamasının mikrobiyal ve fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisi üzerine çalışma yapılmıştır. Isıl işlem uygulamasının, antosiyaninler üzerine zarar verdiği ve meyve suyunun renginde değişikliğe neden olduğundan ultrasonikasyon uygulamasının bu parametreler üzerinde ısıtma işleme görece etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır. Antosiyanin içeriği, toplam fenolik madde içeriği, toplam antioksidan aktivite, toplam katı madde, titre edilebilir asitlik, pH ve renk değerleri belirlenmiştir. Ultrasonikasyon uygulamasının, yaban mersini suyunun antosiyanin içeriğini ve renk özelliklerini koruduğu sonucuna ulaşılmıştır (Mohideen vd., 2015).

Pala vd. (2015), tarafından yapılan başka bir çalışmada ise nar suyunda *E.coli* ATCC 25922 mikrobiyal inaktivasyon amacıyla farklı sürelerde (0, 6, 12, 18, 24, 30 dk.) ve 500W gücünde ultrasonikasyon uygulanmıştır. Sıcaklık 35 °C'nin altında su banyosu yardımı ile kontrol altına alınmıştır. 30 dakika US uygulamasından sonra *E.coli*'de 6.64 logaritmik birimlik azalma gözlemlendiği belirtilmiştir. Uygulama sonunda nar suyunun fenolik bileşiklerinde, pH ve Brix derecesi (°Bx) değerlerinde değişimin görülmediği ifade edilmiştir (Pala vd., 2015).

Aadil vd. (2013), tarafından yapılan farklı bir çalışmada ise greyfurt suyuna farklı sürelerde (30, 60 ve 90 dk.), 600W gücünde ultrasonikasyon uygulanmıştır. Uygulama sonrası greyfurt suyu örneklerinde fenolik bileşikler ve C vitamini içeriğinde artış gözlemlenmiştir. C vitamininde görülen artışın kavitasyon nedeniyle tutulan oksijenin serbest kalmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Diğer bileşen içeriklerine

baktığımızda, pH ve °Bx değerlerinde bir fark görülmemiş ve kalite bileşenlerinin olumlu yönde etkilendiği belirtilmiştir (Aadil vd., 2013).

2.5.4.Ultrasonikasyon Teknolojisinin Elma Suyundaki Uygulamaları

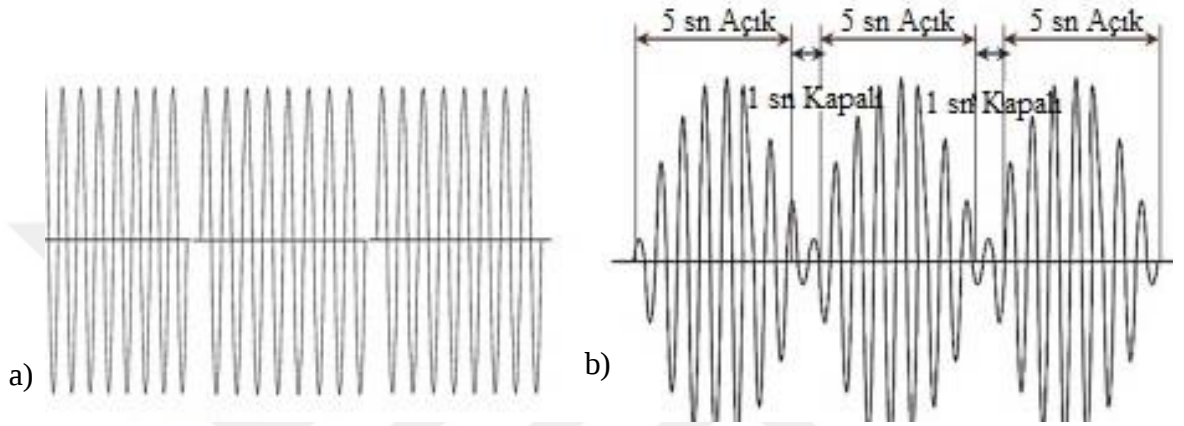
Patil vd. (2009), tarafından yapılan çalışmada bir portakal ve elma suyunda *E.coli* ATCC 25922 suşunun ultrasonikasyon uygulaması ile inaktivasyonu amaçlanmıştır ayrıca *E.coli*'nin asitli ortamlarda hayatta kalma potansiyeleri değerlendirilmiştir. Asit adaptasyonluğunu değerlendirmek için uygulamadan önce *E.coli* fosfat tamponlu tuz çözeltisi ile yıkanmış. Örnekler 50 mL olarak hazırlanmış ve uygulama boyunca sıcaklıkları 30 °C'nin altında tutulmuştur. Ultrasonikasyonun ürettiği ısıyı dağıtmak ve sıcaklık kontrolünü sağlamak için buz banyosu kullanılmıştır. Uygulama boyunca 3 dakika aralıklar ile numune alınarak analizler gerçekleştirilmiştir. Ultrasonikasyon genliği değişken olarak belirlenmiş olup farklı genliklerde (0,4 µm, 7,5 µm ve 37,5 µm) çalışılmıştır. 15 dakika ultrasonikasyon uygulanmasının ardından 4.7 logaritmik birimlik azalma görüldüğü bildirilmiştir (Patil vd., 2009).

Ugarte-Romero vd. (2006) tarafından yapılan başka bir çalışmada elma sırasında *E.coli* K12 inaktivasyonu amacıyla ısııl işlem ve ultrasonikasyon uygulaması karşılaştırılmıştır. 20 dakika boyunca farklı sıcaklıklarda (40, 45 ve 50 °C), 0,46 W/mL ve 20 Khz frekansta ultrasonikasyon uygulanmıştır. Uygulama sonunda 40 °C'de ısııl işleme kıyasla 5,3 log fazla mikrobiyal azalma gözlemlenmiş ve elma sırasında pH ve °Bx kalite parametrelerini etkilemediğini ancak bulanıklık ve renk değerlerinde değişiklik gözlemlendiği belirtilmiştir. 60 °C uygulamasında ısııl işlemin etkin olduğu ve ultrasonikasyon uygulamasının 1 log azalma ile sonuçlanmış ve sıcaklık arttıkça ultrasonikasyonun mikrobiyal inaktivasyon etkinliğinde ısııl işleme göre farklı olmadığı ifade edilmiştir (Ugarte-Romero vd., 2006).

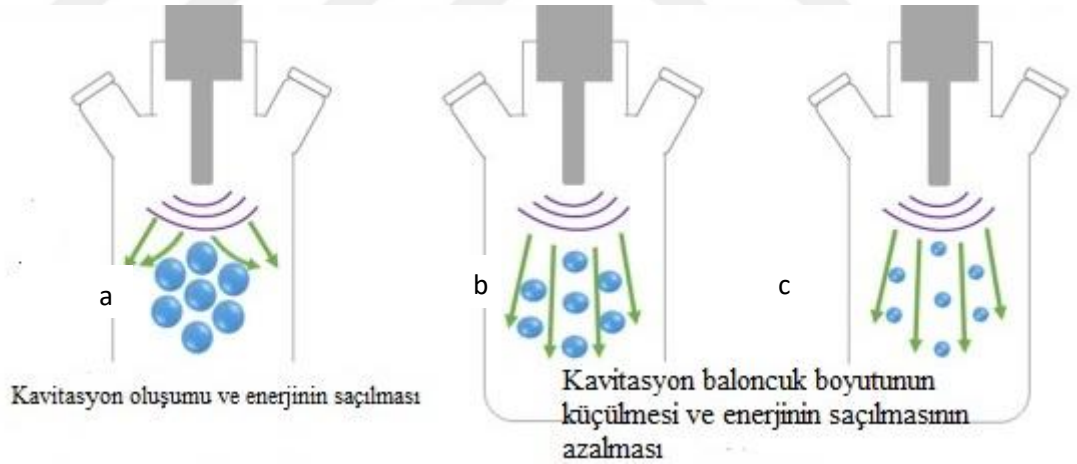
2.5.5.Vurgulu (V) Ultrasonikasyon

Vurgu süresi ve vurgu aralığı, ultrasonikasyonun açık ve kapalı olan süresi olarak ifade edilmektedir (Pan vd., 2012). Vurgulu (V) ultrasonikasyon, enerji tasarruflu uygulama olarak önerilmektedir ve sürekli (S) ultrasonikasyona göre daha etkili olduğu ifade edilmektedir (Al-Juboori vd., 2015). Etkin bir US (V) çalışması için uygun açık kapalı süresinin değerlendirilmesi gerektiği önerilmektedir. Vurgu uygulamasında, US (S) uygulanmasına kıyasla enerji daha etkin kullanılmaktadır; verimli ama daha az enerji tüketimi gerçekleştirilmektedir (Martinez-Guerra ve Gude, 2016).

US (V) farklı aralıklarda açık kapalı şekilde uygulanması sırasında kapalı olan sürede gevşeme etkisi oluşturur ve tekrar açık olan moda geçtiğinde hücre zarının parçalanmasının daha etkin olacağı vurgulanmaktadır (Şekil 2.8). US (V) kavitasyonun oluşturduğu baloncukların çevre hareketini sınırlandırmaktadır. Bu sayede verilen enerjinin saçılmasını önlemesi ile etkinliğinin fazla olacağı belirtilmektedir (Şekil 2.9) (Cui vd., 2013; Masri vd., 2020).



Şekil 2.8. a) US (S), b) US (V) dalga yayılımı (Martinez-Guerra ve Gude, 2015)



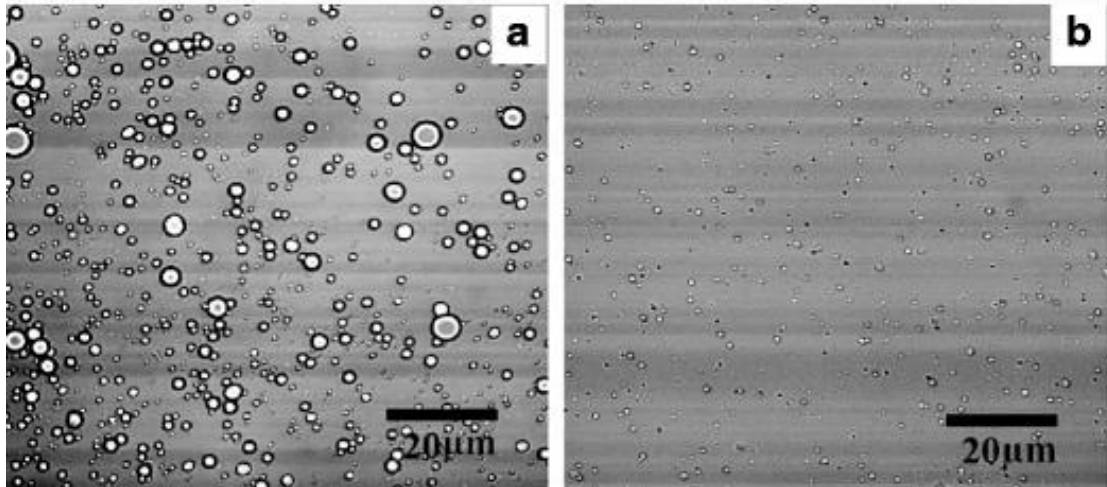
Şekil 2.9. a) US (S) etkisi, b) US (V) açık etkisi, c) US (V) kapalı etkisi (Masri vd., 2020)

2.5.6.Vurgulu Ultrasonikasyonun Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları

Martinez-Guerra ve Gude (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, atık yemeklik yağların biyodizele dönüşümü için US (V) uygulaması gerçekleştirilmiştir. Çeşitli süre kombinasyonları denenmiş ve 7 saniye açık 2 saniye kapalı vurgu uygulamasının ekstraksiyon verim etkinliğinin en fazla olduğu bildirilmiştir (Martinez-Guerra ve Gude, 2016).

Chand vd. (2010), soya fasulyesi yağından biyodizel üretimi için US (V) uygulaması üzerine çalışmışlardır. Vurgu modu 5 saniye açık 25 saniye kapalı olacak şekilde ayarlanmış ve US (V) üretim verimliliğini %96 arttırdığını ifade etmişlerdir (Chand vd., 2010).

Cui vd. (2013), tarafından yapılan bir çalışmada ise protein mikrokapsüllerine sürekli ve US (V) uygulanmıştır. US (V) 2 sn açık 2 sn kapalı uygulanmasından sonra etkinliğinin US (S)'dan daha fazla olduğu belirtilmiştir. US (V)'nun protein mikrokapsül boyutuna etkisi mikroskop altında görüntüsü verilmiştir (Şekil 2.10) (Cui vd., 2013).



Şekil 2.10. Farklı ultrasonikasyon uygulamalarına maruz bırakılan protein mikrokapsüllerinin mikroskopik görüntüleri: a) US (S) uygulanmış protein mikrokapsülü, b) 2 sn açık 2 sn kapalı US (V) uygulanmış protein mikrokapsülü (Cui vd., 2013)

Pan vd. (2012), tarafından nar kabuğundan antioksidan ekstraksiyonunda S ve V US'nu karşılaştırmışlardır. US (V) 5 saniye açık 5 saniye kapalı olarak uygulanmıştır. US (V) uygulaması, nar kabuğundan antioksidan ekstraksiyon verimini arttırmıştır. US (S)

ile kıyaslandığında daha düşük enerji, yüksek ekstraksiyon verimi ve antioksidan aktivite artışından dolayı uygulanabilirliğinin yüksek olduğu ifade edilmiştir. Fakat ultrasonikasyon uygulama süresi arttıkça antioksidan aktiviteyi olumsuz etkilediği belirtilmiştir (Pan vd., 2012).

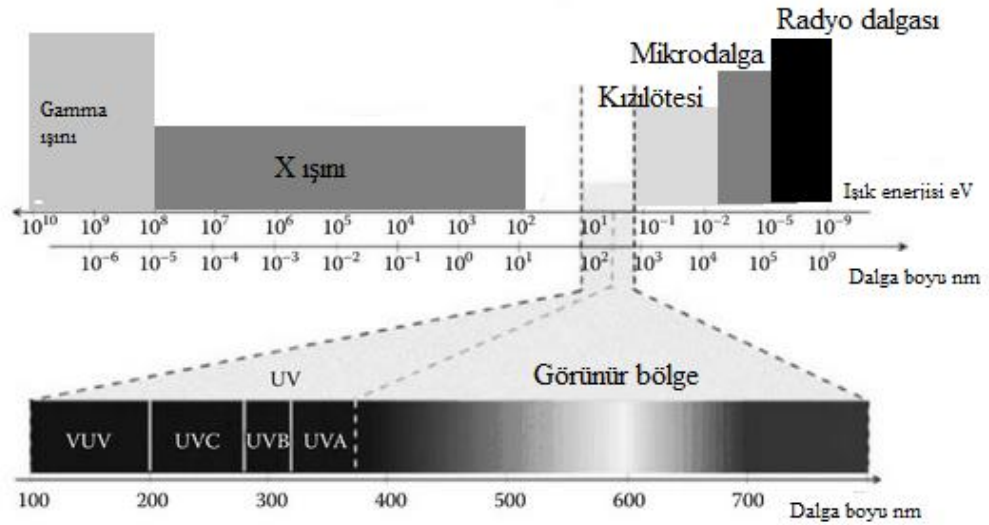
Adekunte vd. (2010), tarafından yapılan başka bir çalışmada da 80 mL domates suyuna ultrasonikasyon uygulanmış ve bazı kalite parametreleri incelenmiştir. Ultrasonikasyon gücü 1.500 W, vurgu süreleri 5 sn açık 5 sn kapalı olacak şekilde 10 dakika uygulanmıştır. Prop, örneğin 25 mm içerisine daldırılmıştır. Analizler sonucu renk, pH, °Bx ve askorbik asit içeriği bakımından önemli fark görülmediği belirtilmiştir (Adekunte vd., 2010).

Valdramis vd. (2010), tarafından yapılan bir çalışmada da portakal suyunda 1500W ultrasonikasyon gücünde, 5 sn açık 5 sn kapalı US (V) uygulaması gerçekleştirilmiştir. Enzimatik esmerleşme ve askorbik asit içeriği incelendiğinde önemli bir fark gözlemlenmemesinden kaynaklı kaliteli meyve suyu üretiminde kullanılabileceği bildirilmiştir (Valdramidis vd., 2010).

Wang vd. (2021), tarafından yapılan bir çalışmada ise elma suyuna US (V) uygulanması ile *Lactobacillus plantarum*' un mikrobiyal inaktivasyonu incelenmiştir. Ultrasonikasyon uygulaması 58,3 ve 93,6 W gücünde, 5 sn açık 5 sn kapalı olarak 30 dakika boyunca uygulanmıştır. Uygulama sonunda ultrasonikasyonun oluşturduğu kavitasyon sayesinde hücre zarı geçirgenliği artmaktadır. Geçirgenliğinin artması ile metabolitlerin ve şekerlerin hücre içine taşınması kolaylaşmıştır. Bu nedenle *Lactobacillus plantarum* mikrobiyal büyümeyi arttırdığı bilgisi sunulmaktadır. Ayrıca ultrasonikasyonun elma suyunda fenolik bileşiklerin türevlerini düzenlediği belirtilmektedir (Wang vd., 2021).

2.6. Ultraviyole Işık (UV-C)

Gıda güvenliği ve muhafazasının sağlanması amacıyla gıdaların yapı, lezzet ve besin içeriklerini daha iyi koruyabilmek adına son yıllarda araştırmalar soğuk sterilizasyon yöntemleri üzerine yoğunlaşmış ve ısıtma işlemi alternatif olarak endüstriyel anlamda kullanılmaya başlamıştır. Ultraviyole ışık uygulaması, gıdalarda absorpsiyon, yansıma, kırılma ve saçılma mekanizmaları ile etkinlik sağlamaktadır (Koutchma, 2009).



Şekil 2.11. Elektromanyetik spektrum (Koutchma, 2009)

UV ışık, elektromanyetik spektrumda (Şekil 2.11) X ışınları ile görünür bölge arasında 100-400 nm aralığındaki dalga boylarını kapsamaktadır (Koutchma, 2009). Ultraviyole ışık etkileri dalga boylarına göre değişkenlik göstermektedir ve bu etkilerden kaynaklı üç bölgeye ayrılmaktadır (Diffey, 2002). Dalga boyuna göre uzak UV 10-200 nm aralığında iken yakın UV 200-380 nm dalga boyu aralığına sahiptir. Yakın UV de dalga boylarına göre üçe ayrılmaktadır (Özkütük, 2007).

- UV-A: Uzun dalga boyu, 315-400 nm aralığındadır ve bronzlaşmaya neden olmaktadır.
- UV-B: Orta dalga boyu, 280-315 nm aralığındadır. Deride yanıklara ve cilt kanserlerine neden olmaktadır.
- UV-C: Kısa dalga boyu, 200-280 nm aralığında mikroorganizma öldürücü etkisi vardır. Bakteri ve virüs inaktivasyonunda kullanılmaktadır (Özkütük, 2007; Ünlütürk, 2020).

Ultraviyole ışık gıda endüstrisinde farklı alanlarda kullanılmaktadır. Süt ürünleri, et ürünleri, fırıncılık ve meyve sebze gibi gıda alanlarında; mikrobiyal inaktivasyon (Baysal vd., 2013), yüzey dezenfeksiyonu (Devine vd., 2001; Sommers vd., 2010), ambalajlama teknikleri (Gençer, 2014), su dezenfeksiyonu (Li vd., 2019), yenilebilir film kaplama (Li vd., 2020), aflatoksin oluşumunun engellenmesi (İşman, 2004) ve enzim inaktivasyonu (Akgün ve Ünlütürk, 2017) uygulamalarında kullanılmaktadır. Özellikle

meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonu ve muhafazasında uygulanmaya başlayan yöntemlerden birisi ultraviyole ışık uygulamasıdır (Tarhan vd., 2006). UV-C işleminin, meyve sularının kalite özelliklerini, ısıl işleme göre daha iyi koruduğu yapılan çalışmalarda görülmektedir (Guerrero-Beltran ve Barbosa-Canovas, 2005).

UV ışınların gıda ürünlerinde uygulamaları, Amerikan Gıda ve İlaç dairesi (FDA)'nın 2000 yılında UV ışınlarının taze sıkılmış meyve sularında ısıl işlemlere alternatif teknoloji olarak onaylaması ile artış göstermiştir (Ünlütürk, 2020). Mikroorganizmalar üzerindeki inaktivasyon etkisi UV-C ışık 200-280 nm dalga boyu aralığındadır ancak en yüksek absorpsiyon gösteren optimum dalga boyu 253,7 nm'dir (Koutchma, 2008; Caminiti vd., 2012).

UV-C ışığın, virüsler ve protozoalar dahil olmak üzere gıdaları bozan mikroorganizmalara karşı etkili bir teknik olduğu ifade edilmiştir (Guerrero-Beltran ve Barbosa-Canovas, 2004). Ancak hedef mikroorganizma türünün, UV-C ışık duyarlılığı bakımlarından değişkenlik göstermektedir (Koutchma, 2009).

Bazı içeceklerin optimum dalga boyu için UV-C ışık geçirgenliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; meyve suyu ve diğer içeceklerin suya göre geçirgenliklerinin düşük olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.6). Bunun nedeninin yüksek UV-C ışık absorpsiyonu ve saçılmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir (Koutchma, 2009).

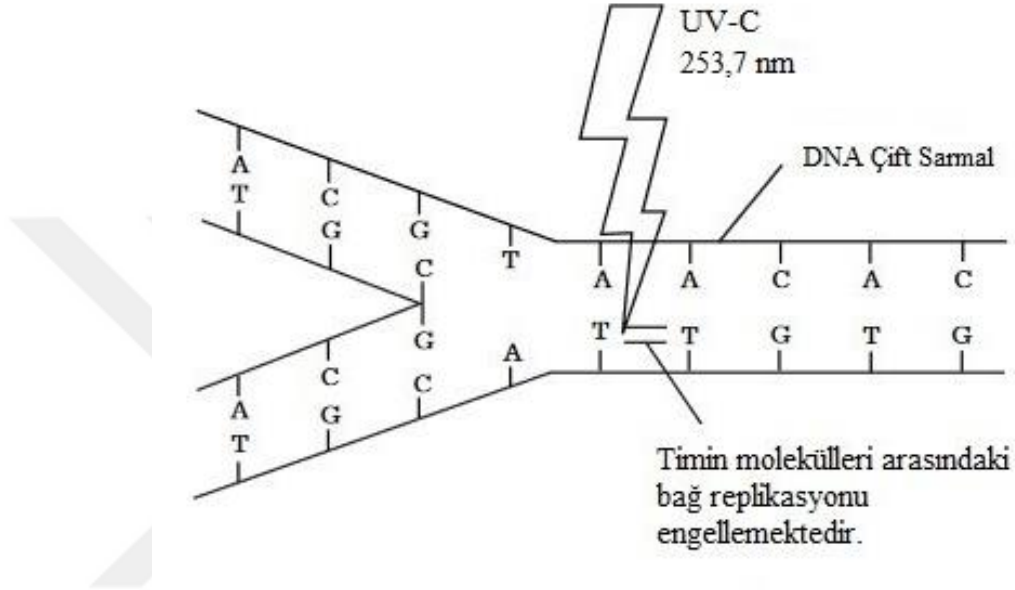
Çizelge 2.6. Sıvı gıdaların 253,7 nm'de absorpsiyon katsayıları (Koutchma, 2009)

Ürün	Absorpsiyon Katsayısı (cm ⁻¹)
Su	0,01
Berrak elma suyu	15
Portakal suyu	100
Çiğ süt	290
Yumurta akı	104
Şarap	9

2.6.1. Ultraviyole Işık (UV-C) Teknolojisi ile Mikrobiyal İnaktivasyon

UV-C ışık, DNA denatürasyonu (Şekil 2.12) yoluyla mikrobiyal inaktivasyon sağlamaktadır. Su ve sıvı gıda ürünleri sterilizasyonunda kullanımı yaygınlaşmıştır (Anjaly, 2021). Bu dalga boyunda (253,7 nm), DNA tarafından absorbe edilen ışık, kimyasal kovalent bağlar meydana getirerek timin dimerleri oluşturmaktadır. Timin dimerleri, UV-C ışık hücre hasarının önemli ve birincil noktasını oluşturmaktadır.

Ardından oluşan timin dimerleri etkisiyle, DNA iplikçik katlanmalarına sebep olmasıyla DNA'nın yapısı bozulmaktadır. Bu süreç, kromozom replikasyonunu güçlendirir ve genlerin transkripsiyonu gerçekleşemez. DNA replikasyonu gerçekleştiremeyen hücre inaktive olmaktadır. Bazı koşullarda hücrenin kendini aktif duruma getirebileceği ifade edilmiştir. Ancak yoğun UV-C ışık şiddeti ile hasarın büyük olduğu durumlarda hücrenin kendini onarımı imkânsız hale gelmektedir (Özkütük, 2007).



Şekil 2.12. UV-C ışığının DNA hasarı ile inaktivasyonu (Baysal ve İçier, 2012)

Ultraviyole ışığın, mikrobiyal inaktivasyonu bazı faktörlere bağlıdır; (Koca vd., 2018).

- UV-C ışık kaynağı ve dozu,
- Mikroorganizmanın UV-C ışık duyarlılığı,
- UV-C ışık uygulanacak ürünün özellikleri,
- Gıda bileşimleri,
- Ambalajın UV-C ışık geçirgenliği.

Meyve suyu işlemede UV-C ışık uygulaması, meyve sularının raf ömrünün uzatılması ve gıda kaynaklı hastalıkların önüne geçilmesi amacıyla yapılmaktadır (Pala ve Tokluca, 2010). Meyve sularına UV-C ışık uygulanması sırasında mikrobiyal inaktivasyonun en yüksek düzeyde; fenolikler, karotenoidler ve C vitamini gibi biyoaktif bileşikler ile aroma bileşenlerindeki kayıpların ve istenmeyen lezzet oluşumu gibi durumların ise en az düzeyde gerçekleştirildiği UV-C ışık dozlarının, her meyve suyu için

optimizasyonunu içeren ileri düzeyde araştırmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (Pala ve Tokluca, 2010). Elma suları, yapılarının berrak olmasından dolayı UV-C ışığı daha iyi absorbe etmektedir (Keyser vd., 2008).

UV-C ışık mikrobiyal inaktivasyon için gerekli UV yoğunluğu Lambert-Beer yasasına göre hesaplanmaktadır (Morowitz, 1950) ve Denklem 2.2’de verilmiştir.

$$I_{avg} = I_0(1 - e^{-A_e L})A_e L \quad (2.2)$$

I_0 : Gelen yoğunluk (mW/cm²)

A_e :Absorbans katsayısı (cm⁻¹)

L : Uzunluk (cm)

UV dozu, Denklem 2.3 ile hesaplanmaktadır.

$$\text{UV Doz} = I_{avg} (\text{mWs/cm}^2) \times \text{maruz kalma süresi} \quad (2.3)$$

UV uygulamasından sonra hayatta kalma oranı Denklem 2.4 ile hesaplanmaktadır (Ünlütük vd., 2008).

$$S = \frac{N}{N_0} \quad (2.4)$$

N : UV uygulamasından sonraki mikrobiyal sayım (log/mL)

N_0 :Başlangıçtaki mikrobiyal sayım (log/mL)

2.6.2.Ultraviyole Işığın Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları

Doğan (2017), şalgam suyunun raf ömrünün arttırılması için ultraviyole ışık uygulamış ve farklı akış hızlarında (1.500, 2.500 ve 3.500 ml/dk) 5 ve 25 °C sıcaklıklarda denemeler gerçekleştirerek 5 aylık depolama boyunca mikrobiyolojik, fiziksel ve duyuşal özelliklerini değerlendirmiştir. Duyusal analizler sonucunda UV işlem görmüş şalgam suyu, ısıtılmış işlem görmüş üründen daha iyi değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Şalgam suyuna ultraviyole ışık uygulamanın, ısıtılmış işlemlere göre daha iyi ürün kalitesi ve duyuşal özellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Böylelikle ısıtılmış işlem yerine ultraviyole ışık uygulamasının muhafaza yöntemi olarak kullanılabileceğini bildirmiştir (Doğan, 2017).

Şanlı (2022), tarafından yapılan çalışmada kaymaklı ve kaymaksız yoğurtlara ultraviyole ışık uygulanmasının etkisi ile yağ ve protein oksidasyonundaki değişimler araştırılmıştır. Depolama aşamasında UV-C ışık uygulanmış örneklerin pH’ında düşme ve kahverengileşme indeksi artışı olduğu ifade edilmiştir. Çalışma sonucunda yağ ve

protein oksidasyonunda artış gözlemlenmiş ve artış ile doğru orantılı olarak yanık tat oluşumu duyuşsal analizlerde sunulmuştur. Duyuşsal değışimden kaynaklanan yabancı lezzet olarak ifade edilen tattan dolayı tüketici tarafından tercih edilemeyebileceği belirtilmiştir (Şanlı, 2022).

Uysal Pala (2011), tarafından nar ve portakal suyunda raf ömür süresini uzatmak amacı ile UV-C ışık uygulayarak ısıl işlem uygulanan meyve suları ile karşılaştırmıştır. Çalışma sonunda *E.coli* ATCC 25922’de 6,15 ve 5,72 logaritmik birimlik azalma gözlemlenmiştir. UV-C ışık uygulanmış meyve sularının renk, askorbik asit ve antosiyoın içeriklerinde önemli bir fark olmazken ısıl işlem uygulanmış meyve sularında önemli bir azalma olduğunu bildirmiştir. Duyuşsal analiz sonuçlarına göre UV-C uygulanmış meyve suları panelistler tarafından daha çok tercih edilmiştir (Uysal Pala, 2011).

2.6.3.Ultraviyole Işığın Elma Sularındaki Uygulamaları

Gabriel (2012), tarafından berrak elma sularında *E.coli* O157:H7 inaktivasyonu için UV-C ışık uygulaması çalışılmıştır. Çalışmasının amacı maya ve bakterilerin ısı ve UV-C ışık dirençlerini karşılaştırmak olarak ifade edilmiştir. Analiz için ticari olarak temin edilen berrak elma suları kullanılmıştır. Çalışma sonunda mayaların UV-C ışığa, bakterilerden daha dirençli bulunduğu belirtilmiştir (Gabriel, 2012).

Akgün ve Ünlütürk (2017), gerçekleştirdikleri bir çalışmada *E.coli* O157:H7’nin gösterge suşu olduğu belirtilen *E.coli* K12 inaktivasyonunu amaçlamışlardır. Ticari ve taze sıkılmış elma sularına inoküle edilmiş ve inaktivasyonunun sağlanması için UV LED (Light Emitted Diode) ışık uygulaması gerçekleştirmişlerdir. Taze sıkılmış elma suları UV LED uygulamasından önce farklı sıcaklıklarda (70, 80 ve 90 °C) ve sürelerde (3, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120 ve 180 sn) olmak üzere ısıl işlem uygulamışlardır. Isıl işlem öncesi mikrobiyal yük 7 log iken sonrasında 5 log olarak belirtmişlerdir. Ardından 254 nm ve 405 nm aralığındaki 6 farklı dalga boyunda, 20 ve 40 dakika sürede UV LED ışık uygulamışlardır. Gerçekleşen en iyi inaktivasyonun, 254 nm 40 dakikada 3,7 log azalma olduğunu ve UV LED uygulaması sonunda elma suyu örneklerinin bulanıklığında azalma gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Akgün ve Ünlütürk, 2017).

Yılmaz (2022), tarafından elma suyunda *E.coli* O157:H7 inaktivasyonu sağlamak amacıyla UV-C ışık teknolojisi kullanılmıştır. Sistemin sıcaklığını kontrol altında tutmak için soğutmalı su banyosu sisteme dahil edilmiştir. UV-C işleminin 60 dakika uygulanması ile *E.coli* O157:H7 için 5,68 log azalma olduğu belirtilmiştir. Uygulama sonrası yapılan analizlerde elma suyunda, toplam flavonoid ve toplam fenolik bileşikler

istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı ancak toplam antioksidan aktivite değerinde düşüş gözlemlenmiş ve bu düşüşün istatistiksel olarak önemli bulunduğu ifade edilmiştir. Kahverengileşme indeksi ve renk değerlerinde değişim olduğu sunulmuştur (Yılmaz, 2022).

2.6.4.UV-C Işığın ve Ultrasonikasyon Kombinasyonunun Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları

Uyar (2018), tarafından ultrasonikasyon ile UV-C ışık kombine işlem uygulamasının yumurta sarısında *Salmonella Typhimurium* inaktivasyonu çalışılmıştır. Yumurta sarısı, 90 dakika ultrasonikasyon ve UV-C ışığa maruz bırakılmıştır. Çalışma sonunda hedef mikroorganizmada 1,33 log azalma gözlemlenmiştir. Yumurta sarısında renk ve viskozite açısından olumsuz etki görülmediği ifade edilmiştir (Uyar, 2018).

Gouma vd. (2015), yaptıkları bir çalışmada elma suyunda bozulmaya neden olan mayaların inaktivasyonu için UV-C ışık ve ısı işlem kombine olarak uygulamışlardır. Kombinasyon halinde gerçekleştirilen uygulamanın UV-C dozu ve uygulama süresini kısalttığını ifade etmişlerdir (Gouma vd., 2015).

Kombine işlem uygulamalarının, bireysel uygulamalara kıyasla mikrobiyal inaktivasyon üzerinde daha etkin olduğu belirtilmektedir (Muñoz vd., 2012). Böylelikle uygulama süresinin ve enerji yoğunluğunun azalacağı bildirilmiştir (Leistner, 2000).

Bu tez çalışmasında ultrasonikasyon destekli ultraviyole ışık eşzamanlı uygulanması ile elma suyunda mikrobiyal inaktivasyonun daha hızlı gerçekleştirilmesi ve ürünün besin değerlerinin korunması amaçlanmıştır. Elma suyuna uygulanan yüksek ultrasonikasyon gücünden kaynaklı sıcaklık artışı gözlemlenmektedir. Mikrobiyal inaktivasyon için gerekli enerjiyi uygulamak ve sıcaklığı kontrol altında tutmak amacıyla ultrasonikasyon destekli ultraviyole uygulaması sürekli ve vurgulu işlem kombinasyonu halinde gerçekleştirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu tez çalışmasında kullanılan ticari elma suları (Cappy, The Coca Cola Company, İstanbul, Türkiye) Burdur ilindeki yerel bir marketten temin edilmiştir. Ticari olarak satın alınan elma suyu örnekleri uygulamanın gerçekleştirilmesi için belirlenen farklı hacimlerde (200 ve 750 mL) hazırlanmış olup inokülasyon öncesi ve sonrasında denemelerin gerçekleştirileceği zamana kadar geçen süre boyunca $+4\pm2$ °C’de buzdolabında (Regal Cool 4302A+, Vestel) muhafaza edilmiştir. Çalışmada kullanılan *E.coli* O157:H7 suşu Afyon Kocatepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Gökhan Akarca’nın kişisel kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme Planı

Başlangıçta yüksek hacimde (750 mL) elma suyu örneği üzerine US+UV-C ışık kombine uygulamasının mikrobiyal inaktivasyon etkisini değerlendirmek amacıyla denemeler gerçekleştirilmiştir. Bunun için ilk olarak uygulama sırasında örnek sıcaklıklarının 40 ± 3 °C aralığında kalmasını sağlayabilen ultrasonikasyon gücü (W) ve süre (dakika) kombinasyonları değerlendirilmiştir.

Farklı US güçlerinde (100 ve 150 W) farklı sürelerde (5, 20, 22, 25 dk.) elma sularının sıcaklıkları ölçülmüştür. Elma suyu içerisindeki değerli bileşenlerin 40 ± 3 °C’de olumsuz etkileneceği bilindiğinden (Pala ve Tokluca, 2010) bu sıcaklık aralığının üzerine çıkan uygulama koşulları parametre olarak değerlendirilmemiştir.

Düşük hacimde (200 mL) elma suyu örneği üzerine US+UV-C ışık kombine uygulamasının mikrobiyal inaktivasyon etkisini değerlendirmek amacıyla denemeler gerçekleştirilmiştir. Yüksek hacim için yapılan deneme koşullarının belirlenmesi ön denemelerde olduğu gibi uygulama sırasında örnek sıcaklıklarının 40 ± 3 °C aralığında kalmasını sağlayabilen ultrasonikasyon gücü (W) ve süre (dakika) kombinasyonları seçilerek mikrobiyal inaktivasyon denemelerine geçilmiştir.

200 mL hacimdeki elma suyu örnekleri üzerine uygulanan farklı US güçlerinde (100, 125, 140 ve 150 W) ve sürelerde (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 dk.) gerçekleştirilen denemeler boyunca elma sularının sıcaklıkları ölçülmüştür. Çalışmada işlem süresince

uygun sıcaklık (40 ± 3 °C) aralığını sağlayabilen US gücü (W) ve süre (dakika) kombinasyonları parametre olarak seçilmiştir.

3.2.2. Ultrasonikasyon ve Ultraviyole Işık (UV-C) Kombine Uygulaması

Hazırlanan elma suyu örnekleri, ultrasonikasyon probu (UW 3200 Model, Bandelin electronic, Berlin, Almanya) ve özel olarak tasarlanan 254 nm dalga boyuna sahip 6 adet UV-C lambaya sahip sürekli akış reaktör sistemi kullanılarak kombine uygulamaya maruz bırakılmıştır. Ultrasonikasyon destekli UV-C reaktör sistemi; peristaltik pompa, UV-C reaktör, proplu ultrasonikasyon, örnek kabı, buz haznesi, akış boruları ve bağlantı kablolarından oluşmaktadır (Şekil 3.2). Ultrasonikasyon probu, örnek kabı içerisine 3,5 cm daldırılmış (Şekil 3.1) ve örnek, peristaltik pompa (Lead Fluid YZ15, China) yardımıyla iç çapı 5 mm olan kuvars boru içerisinden geçirildikten sonra yine pompa yardımıyla örnek kabına geri dönmesi sağlanmıştır. Bu şekilde elma suları üzerine ultrasonikasyon ve ultraviyole ışığın (UV-C) kombine uygulaması sürekli sistemde gerçekleştirilmiştir. Literatürde, ışık dağılımının örneğin her tarafında eşit olması için örneğin karıştırılması gerektiğini bildirilmektedir (Bolton ve Linden, 2003). Söz konusu karıştırma işlemi bu araştırmada ultrasonikasyonun oluşturduğu kavitasyon ile sağlanmıştır.

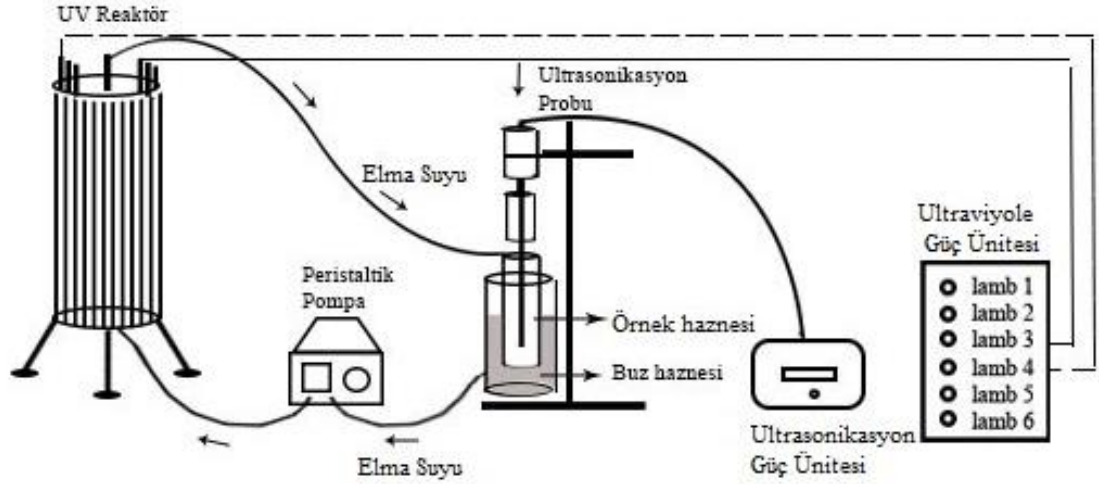


Şekil 3.1. Örnek haznesi içerisine daldırılmış ultrasonikasyon probu

Ultrasonikasyon uygulaması ile oluşturulan kavitasyon enerjisinden ve UV-C ışık uygulaması ile meydana gelen foton enerjisinden kaynaklanan sıcaklık artışını kontrol

altında (40 ± 3 °C) tutmak için, örnek kabı buz ile dolu bir hazne içerisinde tutulmuştur (Şekil 3.2).

US ve UV-C ışık kombine uygulamasına maruz bırakılan elma sularında; *E.coli* O157 H7'nin mikrobiyal inaktivasyon düzeyi ile örneklerin pH, suda çözünen kuru madde (°Bx), toplam antioksidan aktivite değeri, toplam fenolik bileşik içeriği, toplam flavonoid içeriği, renk, kahverengileşme indeksi değerleri belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Ultrasonikasyon destekli UV-C ışık kombine uygulama sisteminin şematik gösterimi

3.2.3. Mikrobiyolojik Analizler

E.coli O157:H7'nin mikrobiyal inaktivasyonu (logaritmik birim azalma) Denklem 3.1'de belirtildiği gibi hesaplanmıştır (Akçelik vd., 1999).

$$N = C / [V(n_1 + 0.1 \times n_2) \times d] \quad (3.1)$$

N: Örneğin 1 mL'indeki mikroorganizma sayısı

C: Tüm petrilereki toplam koloni sayısı

V: Petrilere aktarılan hacim

n_1 : İlk seyreltiden yapılan sayımlardaki petri adedi

n_2 : İkinci seyreltiden yapılan sayımlardaki petri adedi

d: Sayımın yapıldığı ardışık 2 seyreltiden daha konsantre olanın seyreltme oranı

Ön Zenginleştirme

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarlarında derin dondurucuda (Regal Cool 4302A+, Vestel) gliserol içerisinde bulunan bulunan *E.coli* O157:H7 suşunun aktifleştirme işlemi, kültürün steril falkonlarda Tryptic Soy

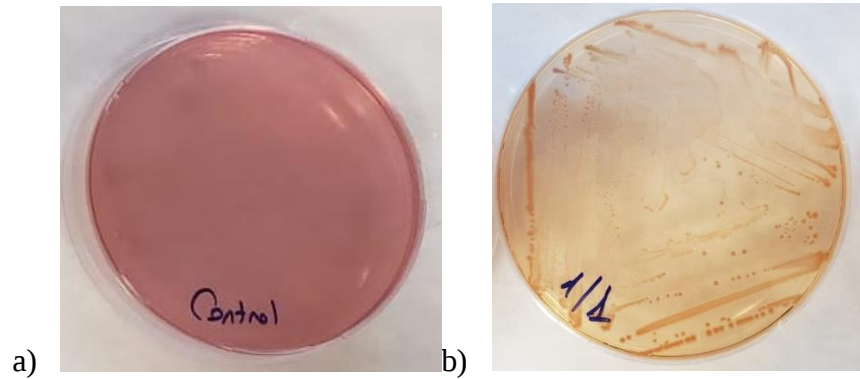
Broth (TSB) (Merck KgaA, Darmstadt, Germany) sıvı besiyerinde 18-24 saat 37 ± 2 °C’de inkübasyona bırakılmasıyla gerçekleştirilmiştir (Balpetek ve Gürbüz, 2009).

Doğrulama

Sıvı besiyeri (TSB) içerisinde geliştirilen mikroorganizmaların saf kültür olup olmadığının doğrulama işlemleri bu aşamada yapılmıştır. *E.coli* O157:H7 doğrulamasındanda CT (cefixim-tellurit) katkısı ilave edilmiş SMAC Agar besiyeri kullanılmıştır (Doğan vd., 2003). Öncelikle SMAC-CT (Sorbitol MacConkey) Agar (Merck KgaA, Darmstadt, Germany) besiyerine sürme yöntemi ile ekim yapılmış ve petriler 18-24 saat 37 ± 2 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. *E.coli* O157:H7, *E.coli*’nin aksine sorbitolü kullanamamaktadır ve sorbitolü kullanamayan *E.coli* O157:H7’nin SMAC besiyerinde renksiz koloniler oluşturduğu gözlemlenmiştir (Chang ve Fang, 2007). Doğrulama işlem basamağının sonunda elde edilen petri görüntüleri Şekil 3.3’de gösterilmiştir.

Zenginleştirme

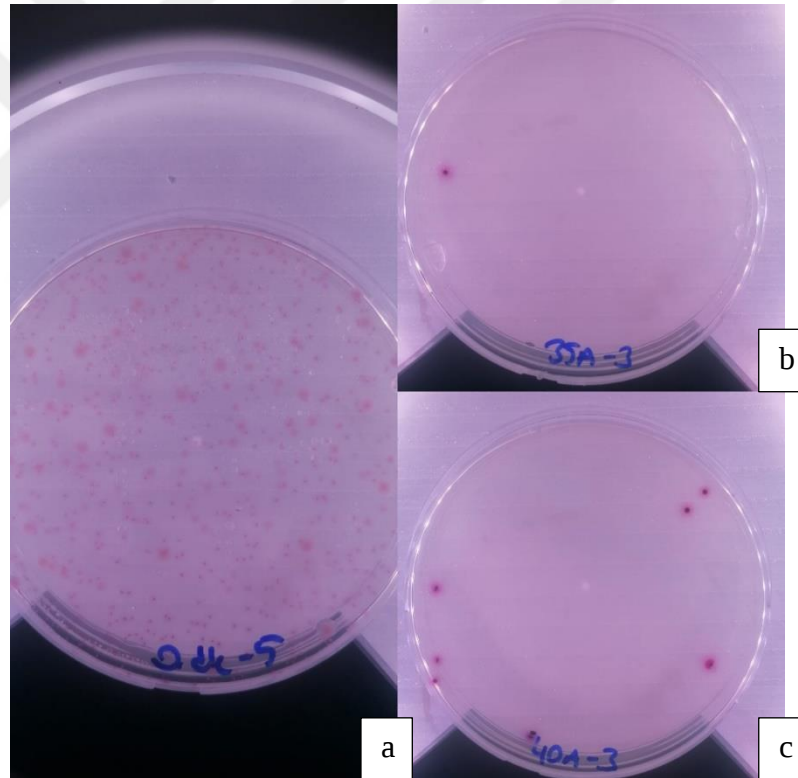
E.coli O157:H7 suşunun zenginleştirilmesi için, hazırlanan TSB besiyerinden 20 mL tüplere alınmış ve üzerine 0,1 mL suş eklenmiştir. Ardından tüpler 18-24 saat 37 ± 2 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Cam tüpler 18 saat sonunda inkübatörden çıkarılmış ve spektrofometrede 600 nm dalga boyunda optik yoğunluk (OD) değeri okunmuştur. Optik yoğunluğun 0,7-1,0 aralığında olması dikkate alınarak zenginleştirme sonucu elde edilen suşlar elma suyuna inoküle edilerek analizler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3. *E.coli* O157:H7 SMAC-CT agarda doğrulama yapılan petrilerin inkübasyon sonrası görüntüleri a) kontrol agar, b) *E.coli* O157:H7 sürme ekim yapılan agar ve tek düşen koloniler

US ve UV-C Kombine Uygulaması Sonrasında Elma Sularının Mikrobiyal Yüklü

İstenilen OD değerine ulaşan suşlar elma suyu örneği içerisine inoküle edildikten sonra elma suyu ve *E.coli* suşu 10:1 (v:v) cam şişe içerisinde karıştırılmıştır. Ultrasonikasyon destekli UV-C ışık uygulanmamış (0. dakika) ve belirlenen süre boyunca işlem uygulanan örneklerden dilüsyonlar hazırlanmıştır. Tamponlanmış peptonlu su (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ve elma suyu örnekleri 10:1 (v:v) steril cam şişelerde dilüe edilmiştir. Sonrasında steril cam tüplere 9 mL peptonlu su eklenmiş ardından üzerine 1 mL örnek ilave edilerek seyreltme yapılmıştır. Örneklerin -1, -2, -3, -4, -5 ve -6 dilüsyonlarından ikişer paralelli olarak *E.coli* O157:H7 Cromogenic Agar Base (Condalab, Madrid, Spain) besiyerine dökme yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petriler 18-24 saat 37 ± 2 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında petrilerde sayım yapılarak mikrobiyal yükleri belirlenmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. *E.coli* O157:H7 petri görüntüsü a) US ve UV-C ışık uygulanmamış elma suyu ekim sonucu, b) 35 dk. US (140 W)+UV-C işlem uygulaması sonrası ekim sonucu, c) 40 dk. US (140 W)+UV-C işlem uygulaması sonrası ekim sonucu

3.2.4.pH Tayini

Denemelerde kullanılan elma suyu örneklerinin pH değeri, pH metre (6173 pH, Jenco, San Diego, CA, ABD) ile kombine elektrot kullanılarak Cemeroğlu (2013) tarafından verilen yöntemle göre oda sıcaklığında (25 ± 2 °C) ölçülmüştür. Alınan 15 mL örneğin içerisine elektrotlar daldırılmış ve daldırıldıktan 1 dakika sonra pH değeri okunmuştur.

3.2.5.Toplam Antioksidan Aktivite Değeri (ABTS)

Elma suyu örneklerinin toplam antioksidan aktivite değeri için ABTS yöntemi kullanılmıştır (Cemeroğlu, 2013). Analiz için bir gün önce, 40,6 mg ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) tartılıp 10 mL'lik balon jojeye aktararak hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlanmıştır. Ardından 7 mg potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) tartılıp 10 mL'lik balon jojeye aktararak hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlanmıştır. ABTS stok çözelti için, hazırlanan çözeltiler 1:1 oranında karıştırılmış ve karanlıkta 12-16 saat bekletilmiştir. ABTS çalışma çözeltisi hazırlamak için, stok çözelti metanol ile 734 nm'de 0,9-1,00 aralığında olacak şekilde seyreltilmiştir. Doğrusal kalibrasyon eğrisinin oluşturulması için Trolox® çözeltisi (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) (Fluka, St. Louis, MO, ABD), 5,0, 10,0, 20,0 ve 25,0 µM konsantrasyonlarda hazırlanmıştır (EK 1- Şekil 3.1). Konsantrasyonlardan 150 µL alınıp üzerine 2.850 µL ABTS çalışma çözeltisi ilave edilmiştir ardından vorteks (ViseMix, WM-10, Daihan Scientific Co. Ltd., Gang-Won-Do, Güney Kore) ile karıştırılarak 30 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda 734 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Optizen Pop, Mecasys Co., Ltd., Daejeon, Güney Kore) absorbans değerleri okunmuştur. Örneklerin absorbans değerlerinin kalibrasyon eğrisi aralığında gelmesi için (Thaipong vd., 2006) 5 kat seyreltilmiştir. Seyreltilen örneklerden 200 µL alınmış ve üzerine 100 µL metanol eklenmiş ardından 2.700 µL çalışma çözeltisi eklenmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır. Ardından 30 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda 734 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Sonuçlar µmol Trolox/100 mL eşdeğeri cinsinden okunmuştur.

3.2.6.Toplam Fenolik Bileşik Tayini

Fenolik bileşikler, hidroksil grubunun bağlandığı benzen halkasını içermektedir. Gıdalarda lezzetin ve renk maddelerinin oluşmasında ve esmerleşmede etkili olduğu

bilinen fenolik bileşikler, antioksidatif kapasiteye sahip olmaları nedeniyle insan sağlığı ve beslenmesinde önemli bileşiklerdir (Si vd., 2016).

Elma suyu örneklerinin toplam fenolik bileşik tayini Folin-Ciocalteu ayracı yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Cemeroğlu 2013). Folin-Ciocalteu yöntemi, fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyip oksitlenmiş forma dönüştürdüğü bir redoks reaksiyon ilkesini kapsamaktadır (Uylaşer ve Başoğlu, 2011). Reaksiyon sonucunda oluşan mavi rengin fotometrik olarak ölçümü ile toplam fenolik bileşiklerin analizi gerçekleştirilmektedir (Cemeroğlu, 2013). Elma suyu örneği sıvı ürün olmasından dolayı herhangi bir hazırlık aşaması bulunmamaktadır. Folin-Ciocalteu reaktifi (Merck, Darmstadt, Almanya), örnek miktarına göre 1:10 (v:v) oranında distile su eklenerek seyreltilmiştir. Kalibrasyon eğrisi çizmek için, 25,0, 50,0, 62,5 ve 100,0 mg/L konsantrasyonlarda gallik asit çözeltisi (Fluka, St. Louis, MO, ABD) hazırlanmıştır. Her konsantrasyondan 500 µL alınıp tüplere aktarılmıştır. Üzerine 2.500 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilip vorteks cihazı ile karıştırılmış ve 3 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından 2.000 µL sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Merck, Darmstadt, Almanya), ilave edilip, karanlıkta ve oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir.

Na_2CO_3 çözeltisi 75 g/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Na_2CO_3 18,75 g tartılıp 250 mL'lik balon jojede hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlanmıştır. Değerlerin kalibrasyon eğrisi aralığına girmesi için örnekler 5 kat seyreltilmiştir. Örneklerden 500 µL alınıp tüplere aktarılmış ve üzerine 2,5 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilip vorteks cihazı ile karıştırılmıştır. Ardından 3 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sürenin sonunda, hazırlanan Na_2CO_3 çözeltisinden 2.000 µL ilave edilmiş ve vorteks cihazı ile karıştırılmıştır. Hazırlanan tüpler karanlıkta ve oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Ardından örneklerin absorbans değerleri 760 nm'de spektrofotometrik olarak okunmuştur. Okunan sonuçlar kalibrasyon eğrisi (EK 2 - Şekil 3.2) yardımı ile değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı standart eğri yardımı ile hesaplanmıştır. Örneklerin toplam fenolik bileşik içeriği, mg gallik asit değeri/100 mL elma suyu cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.7. Toplam Flavonoid İçeriği

Meyve suyunda bulunan flavonoid bileşikleri, asitli ortamlarda ve düşük sıcaklıklarda formaldehit ile reaksiyona girmektedir. Fenolik bileşiklerin en önemli gurubunu flavonoidler oluşturmaktadır (Cemeroğlu, 2013). Örneklerin toplam flavonoid içeriği Zhishen vd. (1999) tarafından belirtilen yöntemle göre belirlenmiştir.

Kalibrasyon eğrisi oluşturmak için kateşin (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) kullanılmıştır. Kateşin 5 mg tartılıp 50 mL'lik balon jodede hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlanmıştır. Kalibrasyon eğrisi (EK 3 - Şekil 3.3) için, 100, 80, 60, 40 ve 20 konsantrasyonlarda hazırlanmış standart olarak kullanılmıştır. Sodyum nitrit (NaNO_2) (Merck, Darmstadt, Almanya), 1,25 gr tartılmış ve 25 mL'lik balon jodede hacim çizgisine kadar distile su ilave edilmiştir. Alüminyum klorür (AlCl_3) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD), 2,5 gr tartılmış ve 25 mL'lik balon jodede hacim çizgisine kadar distile su ilave edilmiştir. Sodyum hidroksit (NaOH) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD), 1 gr tartılmış ve 25 mL'lik balon jodede hacim çizgisine kadar distile su ilave edilmiştir. Ardından, 1 mL elma suyu örneği tüpe alınıp üzerine 4 mL distile su ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. %5'lik NaNO_2 çözeltisinde 0,3 mL eklenmiş ve vorteks cihazı ile karıştırılarak oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 0,3 mL %10'luk AlCl_3 ilave edildikten sonra ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 1 dakika bekletilmiştir. Sonrasında karışıma 2 mL 1 M NaOH ilave edilmiş ve 2,4 mL distile su ilave edilip karıştırılmıştır. Kalibrasyon eğrisi için hazırlanan farklı konsantrasyon tüpleri ve elma suyu örneklerinin absorbans değerleri 510 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuştur. Elde edilen değerler kalibrasyon eğrisi yardımı ile hesaplanmıştır. Sonuçlar mg kateşin eşdeğeri (KE)/100 mL elma suyu olarak belirtilmiştir.

3.2.8. Renk Tayini

Meyve ürünlerinin renk değerlerinin önemli kalite faktörlerinden biri olduğu belirtilmiştir (Shewfelt, 1986). Elma suyu örneklerinin renk değerleri (L^* , a^* ve b^*) kolorimetre (Chromameter CR-400, Konica Minolta Holdings Inc., Marunouchimarka, Tokyo, Japonya) yardımı ile (Şekil 3.5) CIE (Commission International de L'Eclairage) sistemi kullanılarak belirlenmiştir. L^* aydınlık değerini, a^* kırmızı ve yeşillik, b^* ise sarı ve mavilik değeri olarak ifade edilmektedir (McGuire, 1992). Ölçüm için elma suları 5 mL örnek ölçüm kabına alınmış ve üçer vurgu yapılarak 3 paralelli ölçümler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.5. Elma suyu örneklerinin renk tayininde kullanılan renk tayin cihazı

Örneklerin toplam kroma farkı (ΔC), toplam renk değişimi (ΔE), renk indeksi (CI), kroma (C^*) ve Hue açısı $^\circ$ değerleri, aşağıda verilen denklemler (Denklem 3.3-3.7) kullanılarak hesaplanmıştır (Karacaoğlu vd., 2016).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3.3)$$

$$\Delta C = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3.4)$$

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (3.5)$$

$$\text{Hue Açısı} = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (3.6)$$

$$CI = \frac{a^*}{b^*} \quad (3.7)$$

L*: parlaklık, a*: kırmızılık-yeşillik, b*: sarılık-mavilik değeri olarak belirtilmektedir.

3.2.9. Kahverengileşme İndeksi

Elma suyu örneklerinin kahverengileşme indeksi Wrolstad (1993), tarafından verilen yöntemle spektrofotometrede 420 nm dalga boyunda distile suya karşı absorbansları ölçülerek Denklem 3.9'a göre hesaplanmıştır (Bayana, 2015).

$$\text{Brix faktör} = \frac{\text{Hammadde brix}}{\text{Örnek brix}} \quad (3.8)$$

$$BI = \frac{Absorbans}{Brix\ faktör} \quad (3.9)$$

Absorbans: Spektrofotometrede 420 nm dalga boyunda okunan değer

3.2.10.Suda Çözünen Kuru Madde (°Bx) Tayini

Elma suyu örneklerinin Brix derecesi (°Bx) tayini, refraktometre (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japonya) kullanılarak Cemeroğlu (2013)'te verilen yöntemle göre yapılmıştır. Öncelikle refraktometreye 1-2 damla distile su ilave edilerek sıfırlama işlemi yapılmıştır. Ardından elma suyu örneklerinden (1-2 damla) üç paralelli ölçüm yapılmıştır. Elma suyu örnekleri berrak olduğu için süzme işlemi gerektirmeden okuma yapılabilmektedir. Ölçümler sukroz cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.11.İstatiksel Analizler

Çalışma 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş iken tüm denemelerde mikrobiyolojik analizler 2 paralelli, fiziksel ve kimyasal analizler ise 3 paralelli olarak yapılmıştır. Elma suyu örnekleri üzerine uygulanan kombine US+UV-C ışık uygulaması kategorik faktör olarak alınmıştır. İşlem uygulanan örneklerin bazı mikrobiyolojik (*E.coli* O157:H7'nin mikrobiyal inaktivasyonu) ve kalite özellikleri (pH, °Bx, kahverengileşme indeksi, renk özellikleri, toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik madde miktarı ve toplam flavonoid analizi) yanıt olarak belirlenmiştir. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Faktörün her bir yanıt üzerindeki bireysel etkileri, SPSS 22.0 (IBM, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) paket programı kullanılarak (%95 güven aralığı) tek yönlü varyans (ANOVA) ve karşılaştırma testleri (Post Hoc-Duncan testleri) ile belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Ön Deneme Bulguları

Ön denemeler kapsamında gerçekleştirilen çalışmalar (örnek hacminin belirlenmesi, US uygulama gücü ve şeklinin belirlenmesi ile US+UV-C kombine işlem uygulaması için gereken sürenin belirlenmesi) bu bölümde ayrı ayrı başlıklar altında verilmiştir. Ayrıca alınan ölçümlere (sıcaklık ve enerji) ve gerçekleştirilen analizlere ait veriler Çizelge 4.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Ön denemelerde 750 mL elma suyuna uygulanan US+UV-C kombine uygulamasının mikrobiyal inaktivasyon üzerine etkisi (n=3)

US Gücü (W)	US Uygulama Süresi (dakika)	US Uygulaması için Harcanan Enerji (J)	Mikrobiyal İnaktivasyon (log)
150	5	45.000	0,3
150	20	180.000	1,78
100	25	150.000	1,78

Örnek Hacmi Belirleme: Bu araştırmada elma suyunun pastörizasyonu için US+UV-C kombine işlem uygulamasının literatürde bulunan çalışmalardan genel olarak daha yüksek hacimde uygulanabilirliği hedeflendiğinden 750 mL örnek hacmi ile çalışmalara başlanmıştır. Bu hacimde gerçekleştirilen deneme süresi boyunca ultrasonikasyon uygulaması sürekli olarak yapılmış ve örnek sıcaklığı 40 ± 3 °C’de tutulmuştur. Ancak uygulanan parametreler hedeflenen 5 logaritmik birimlik mikrobiyal inaktivasyonu sağlayabilmek için yeterli olmamıştır (Çizelge 4.1). Konu ile ilgili literatürde bulunan çalışmalar değerlendirildiğinde (D’amico vd., 2006; Kiang vd., 2013) *E.coli* O157:H7’nin 5 logaritmik birimlik inaktivasyonu için 1 mL elma suyuna yaklaşık 1.200 J enerji verilmesi gerektiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan örnek hacmi (750 mL) için ise 900.000 J enerji gereksinimi olduğu belirlenmiş ve US+UV-C kombine işlem süresinin, uygulanabilecek en yüksek güçte (150 W) yaklaşık 100 dakika olması gerektiği hesaplanmıştır. Söz konusu 100 dakikalık süre boyunca gerçekleştirilecek US+UV-C kombine işlem uygulamasının elma suyunun kalite özelliklerini olumsuz etkileyebileceği ve kısa sürede mikrobiyal inaktivasyon sağlama hedefiyle uyuşmadığı için örnek hacmi uygulanabilirliği en uygun olan hacim 200 mL olarak belirlenmiştir.

Ultrasonikasyon Gücü ve Akış Hızı Belirleme: Belirlenen hacimde (200 mL) en az 5 logaritmik birim mikrobiyal inaktivasyon hedefi için gereken enerjinin yaklaşık 240.000 J olduğu hesaplanmıştır. Bu enerjinin en kısa sürede elma suyu örneklerine verilmesi amacıyla ilk olarak ultrasonikasyon güç ünitesinin üretebildiği en yüksek güçte (150 W) denemeler gerçekleştirilmiştir. Denemeler boyunca elma suyu örneklerinin sıcaklık ölçümleri alınarak ne kadar sürede 40 ± 3 °C'nin üzerindeki sıcaklıklara ulaşıldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. US+UV-C Uygulamalarında belirlenen sıcaklık ve enerji değerleri

US Gücü (W)	US Uygulama Süresi (dk.)	US Uygulama Şekli (S/V/S+V*)	Örneğin Başlangıç Sıcaklığı (°C)	Örneğin Son Sıcaklığı (°C)	US Uygulaması için Harcanan Enerji (J)
100	5	S	1,2	24	30.042
100	10	S	1,2	31	60.263
100	15	S	6,4	34,9	90.429
100	20	S	10,6	30,9	120.000
130	10	S	8,8	47,6	77.720
150	10	S	7,9	52	90.904
150	15	S	6,4	62	130.420
100	20	V	9,6	18,9	60.000
150	20	V	5,7	31,6	74.988
100	20	15S+5V	13,3	35,9	100.000
100	30	10S+10V+10S	9,6	31,8	140.000
125	30	5S+5V+5S+5V+5S+5V	8,9	19,2	149.109
140	35	5S+5V+5S+5V+5S+5V+5S	10	35,3	210.124
140	35	5S+5V+5S+5V+5S+5V+5S	13,4	47	210.036
140	35	5S+5V+5S+5V+5S+5V+5S	11,2	48	210.017
140	40	5S+5V+5S+5V+5S+5V+5S+5V	10	26,6	224.140
140	40	5S+5V+5S+5V+5S+5V+5S+5V	12,1	36,6	223.920
140	40	5S+5V+5S+5V+5S+5V+5S+5V	13,1	42,5	224.007
150	20	10S+10V	9,1	42,5	120.914
150	30	5S+5V+5S+5V+5S+5V	12,1	32,4	179.490
150	40	5S+5V+5S+5V+5S+5V+5S+5V	11,4	44,6	239.603

*S: Sürekli, V: Vurgulu, S+V: Sürekli+Vurgulu

US gücünün belirlenmesi için gerçekleştirilen denemelerde uygun sıcaklık koşulları için US ünitesi üzerinden tüketilen enerji verileri Çizelge 4.2’de; bu koşullarda gerçekleştirilen mikrobiyal inaktivasyon değerleri ise Çizelge 4.3’te verilmiştir. US gücünün 100-150 W aralığında olduğu denemelerde; 100 W için hedeflenen mikrobiyal inaktivasyon sağlanamamış olup 150 W US gücünün uygulandığı denemelerde ise yüksek sıcaklık artışı (>50 °C) gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.3. Belirlenen hacimde (200 mL) elma suyuna farklı US güçlerinde gerçekleştirilen kombine US+UV-C uygulamasının mikrobiyal inaktivasyon üzerine etkisi

US Gücü (W)	US Uygulama Süresi (dk.)	US Uygulama Şekli (S/V/S+V*)	US Uygulaması için Harcanan Enerji (J)	Mikrobiyal Azalma (log)
100	20	S	120.000	4,05
100	20	V	60.000	3,72
150	20	V	74.988	3,71
100	30	10S+10V+10S	170.000	4,30
150	20	10S+10V	120.914	3,95
150	30	5S+5V+5S+5V+5S+5V	179.500	4,26
140	35	5S+5V+5S+5V+5S+5V+5S	209.905	4,31
140	40	5S+5V+5S+5V+5S+5V+5S+5V	224.255	5,04

*S: Sürekli, V: Vurgulu, S+V: Sürekli+Vurgulu

Akış hızı öncelikle 200 mL/dk olarak örnek hacmine göre ayarlanmıştır. Ancak gerekli mikrobiyal inaktivasyon gerçekleşmemesinden kaynaklı, elma suyunun UV-C ışığa maruziyetini arttırmak amacı ile 35 mL/dk’ya ayarlandığında mikrobiyal inaktivasyonda fark gözlemlenememiştir. Belirlenen akış hızında, elma suyunun en az 1 defa UV-C ışığa maruz kalması için gereken süre 22 dakika olarak hesaplanmıştır. Bütün örneğin UV-C ışığa maruz kalmasını amaçlayarak akış hızı 100 mL/dk. akış hızına ayarlanarak çalışmalara devam edilmiştir.

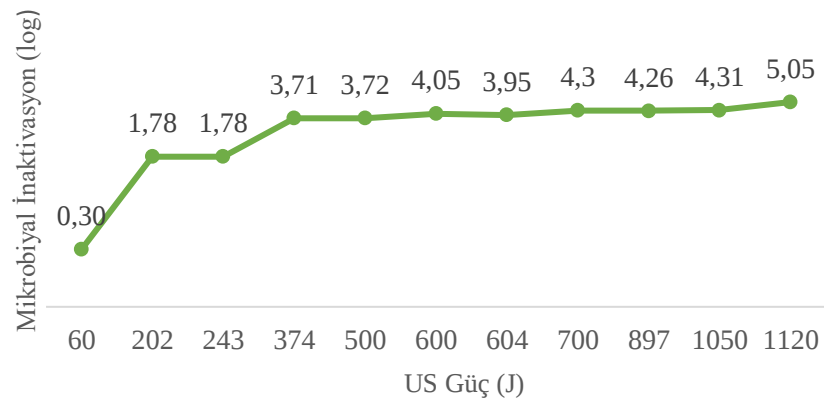
Ultrasonikasyon Uygulama Şekli Belirleme: Hedeflenen mikrobiyal inaktivasyonun ve sıcaklık kontrolünün (40±3 °C) birlikte sağlanabilmesi için farklı US uygulama şekillerinin [sürekli (S), vurgulu (V) ve sürekli+vurgulu (S+V)] denenmesine karar verilmiştir. Sürekli ve vurgulu ultrasonikasyon uygulamasının birlikte kullanıldığı (S+V) denemelerde elma suyu sıcaklıklarının kontrol altında tutulabildiği ve mikrobiyal inaktivasyon için uygulanması öngörülen enerji seviyelerine çıkılabildiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Ultrasonikasyon Destekli UV-C Kombine İşlem Uygulama Süresi Belirleme: Isıl

işlem uygulamalarından kaynaklı mikrobiyal inaktivasyonun 40 °C ve üzeri sıcaklıklarda gözlemlendiği (Ugarte-Romero vd. 2006) bilinmektedir. Bu nedenle işlem boyunca elma sularının sıcaklıklarının yükselmesi buz banyosu ile elimine edilmeye çalışılmıştır. Yine sürekli (S) ve yüksek güçte (140 W) US uygulamalarının gerçekleştirildiği denemelerde, sıcaklık yükselmesinin oluşturduğu problem US (S+V) uygulanarak elimine edilebilmiştir. Çünkü vurgulu (V) US uygulanması sırasında, bir önceki sürekli (S) uygulamada oluşan ısı enerjisi buz banyosuna aktarılarak elma sularının sıcaklığı hedeflenen aralıkta tutulabilmiştir (Şekil 4.1). US uygulamasında mikrobiyal inaktivasyon için gerekli olan enerji ve uygulama sıcaklığının 40±3 °C'nin üzerine çıkmaması parametreleri dikkate alındığında, kombine US (S+V)+UV-C ışık uygulamasının 140 W güçte 35 ve 40 dakika süre ile yapılmasına karar verilmiştir (Çizelge 4.3).

4.2. Mikrobiyolojik Analizlere Ait Bulgular

Çalışmada elma suyunda US destekli ultraviyole ışık (C) uygulaması ile FDA tarafından belirlenen 5 logaritmik birim mikrobiyal inaktivasyon hedeflenmiştir. Araştırmamızda 140 W güçte kombine US (S+V)+UV-C uygulaması ile 35 dakikada 4,31±0,28 log azalma ve aynı güçte 40 dakikada ise 5,04±0,66 log azalma elde edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Uygulama süresi ve şeklinden bağımsız olarak 1 mL elma suyuna uygulanan US enerjisine karşı mikrobiyal inaktivasyon değerleri

Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, örneğe uygulanan enerji ile doğru orantılı olarak mikrobiyal inaktivasyon gözlemlenmiştir. D'amico vd. (2006), tarafından yapılan çalışmada, *E.coli* O157:H7 inaktivasyonu amacıyla 45 mL elma şırasına 6 dakika boyunca 150 W gücünde US uygulanmış ve 54.000 J enerji tüketimi ile 4,3 log mikrobiyal inaktivasyon gerçekleştiği ifade edilmiştir (D'amico vd., 2006). Çalışmamızda elma suyu örneklerine kombine US (S+V)+UV-C uygulanmasının bir sonucu olarak hedeflenen mikrobiyal inaktivasyonun sağlanabildiği düşünülmektedir.

Yılmaz (2022) tarafından yapılan bir çalışmada, 200 mL elma suyu örneklerine 60 dakika süresince UV-C uygulamasında 40 mL/dk akış hızında ve 240 J/cm² doz uygulanmıştır. Çalışma sonucunda 5,68 log *E.coli* O157:H7 inaktivasyonu sağlandığı belirtilmiştir (Yılmaz, 2022).

Yapılan literatür taramasında 50 mL ve/veya daha yüksek hacimli elma suyu örneklerinde US uygulaması ile *E.coli* O157:H7'nin 5 log birimlik inaktivasyonunun sağlandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Elma suyu örneklerine kombine US (S+V) ve UV-C uygulanması ile hem FDA tarafından belirlenen mikrobiyal inaktivasyon düzeyi sağlanabilmiş hem de inaktivasyon için gerekli olan işlem süresi ilgili yöntemlerin tek başına uygulamalarına göre önemli düzeyde azalmıştır.

4.3. pH, °Bx, Toplam Antioksidan Aktivite Değeri, Toplam Fenolik Bileşik İçeriği ve Toplam Flavonoid Analizlerine Ait Bulgular

Elma sularına uygulanan US (S+V)+UV-C işleminin örneklerin pH, °Bx, antioksidan aktivite değeri, toplam fenolik madde içeriği ve toplam flavonoid içeriği üzerine etkisi Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Elma sularına uygulanan US (S+V)+UV-C işleminin örneklerin pH, °Bx, antioksidan aktivite değeri, toplam fenolik madde içeriği ve toplam flavonoid içeriği üzerine etkisi (n=3)

Parametre	pH	Brix derecesi (°Bx)	Toplam Antioksidan Aktivite Değeri (μmol TE/100 mL)	Toplam Fenolik Bileşik İçeriği (mg GAE/100 mL)	Toplam Flavonoid İçeriği (mg KE/100 mL)
Kontrol	4,02±0,02 ^a	11,66±0,05 ^a	50,02±0,64 ^a	311,63±1,34 ^a	53,17±0,72 ^a
140W 35 dk.	3,98±0,03 ^{ab} (%9)*	12,13±0,05 ^b (%4)*	41,57±5,47 ^b (%16,89)*	279,36±20,39 ^b (%10,35)*	40,11±2,77 ^b (%24,56)*
140W 40 dk.	3,95±0,02 ^b (%17)*	12,17±0,13 ^b (%4,37)*	45,08±4,51 ^b (%9,87)*	276,88±15,07 ^b (%11,15)*	42,40±2,57 ^b (% 16,49)*

^{a, b} aynı sütundaki farklı harflendirmeler farklı sürede uygulanan işlemlerin aynı kimyasal analiz değeri üzerine etkisinin istatistiksel olarak farklı olduğunu ifade etmektedir; p<0,05

* % azalmayı ifade etmektedir.

US (S+V)+UV-C işlemi uygulanmayan elma suyunun (kontrol) pH değeri 4,02±0,02 olarak bulunmuştur. Elma suyu örneklerinin pH değerleri 35 ve 40 dakika US(S+V)+UV-C uygulaması sonrasında sırasıyla 3,98±0,03 ve 3,95±0,02 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve 35 dakika US(S+V)+UV-C işlemi uygulanan örneklerin pH değeri istatistiksel olarak benzer (p>0,05) bulunmuş iken 40 dakika US(S+V)+UV-C işlemi uygulanan elma suyu örneğinin pH değeri diğer örneklerden önemli derecede düşük bulunmuştur (p<0,05, EK 4 - Şekil 4.1). Konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada elma suyu örnekleri 20 °C’de 25 kHz frekansta 0, 30, 60 ve 90 dakika süresince US uygulamasına maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda uygulanan US işlemlerinin örneklerinin pH değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir (p>0,05) (Abid vd., 2013). Elma suyuna ultrasonik su banyosu (40 ve 60 °C’de 15, 30 ve 60 dakika) ve ultrasonik prop (40 ve 60 °C’de 10, 15 ve 20 dakika) ile uygulanan US işleminin elma sularının pH değeri üzerinde önemli etkisinin olmadığı Belgheisi ve Kenari (2019) tarafından yapılan çalışmada da tespit edilmiştir. Ultrasonikasyon işleminin portakal (Walkling-Ribeiro vd., 2009) ve üzüm suyu (Tiwari vd., 2010) örneklerinin pH değerleri üzerine etkisinin önemsiz olduğu farklı çalışmalarda da gösterilmiştir. Juarez-Enriquez vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, elma sularına 3 L kapasiteli kesikli bir UV-C reaktörde 25 °C’de 0,032 W/cm² olarak yapılan UV uygulamasının pH’sı 3,74 elma suyu örneklerinin pH değerini 3,54 değerine düşürerek azalmaya neden olduğu görülmüştür (p<0,05). Caminiti vd., (2012) tarafından elma suyu örneklerine UV uygulaması işleminin örneklerin pH değerlerini etkilemediği

rapor edilmiştir. Çalışmamızda elma suyu örneklerinin pH değerlerinde görülen farklılığın örneklerin suda çözünen kurumadde değerlerindeki farklılıkları kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği'ne göre elma sularında olması gereken minimum °Bx değeri 11,2 olarak belirtilmiştir (TGK, 2014). Çalışmamızda kontrol grubu elma suyu örneklerinin °Bx değeri başlangıçta $11,66 \pm 0,05$ iken 35 dakika ve 40 dakika US (S+V)+UV-C işlemi uygulaması sonrasında sırasıyla $12,13 \pm 0,05$ ve $12,17 \pm 0,13$ olarak bulunmuştur ($p < 0,05$, EK 5 - Şekil 4.2). Elma sularının °Bx değerindeki artışın US (S+V)+UV-C işlemi uygulaması sırasında gerçekleşen muhtemel su kaybı ile ilişkili olduğu değerlendirilmektedir.

Kontrol grubu elma suyu örneklerinin ABTS yöntemi ile belirlenen toplam antioksidan aktivite değeri $50,02 \pm 0,64$ µmol TE/100 mL iken bu değer 35 ve 40 dakika US (S+V)+UV-C uygulaması sonrasında sırasıyla $41,57 \pm 5,47$ ve $45,08 \pm 4,51$ µmol TE/100 mL bulunmuştur. US (S+V)+UV-C işlemi ile elma suyu örneklerinin toplam antioksidan aktivite değerlerinde azalma meydana gelmişken ($p < 0,05$), işlemin 35 veya 40 dakika olarak uygulanması elma sularının toplam antioksidan aktivite değerlerini önemli düzeyde değiştirmemiştir ($p > 0,05$, EK 6 - Şekil 4.3). Literatürde US uygulama süresinin toplam antioksidan aktivite değerini etkilediği belirtilmiştir (Wang vd., 2017). Bayana vd., (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, elma suyunda 60 dakika UV-C ışık uygulamasında 12 µM TE olan toplam antioksidan aktivite değerinin uygulama sonunda 7,93 µM TE'ye düştüğü belirlenmiştir ($p < 0,05$). Toplam antioksidan aktivite değerinde gözlemlenen azalmanın karotenoid izomerizasyonu gerçekleşmesinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Tiwari vd., 2009).

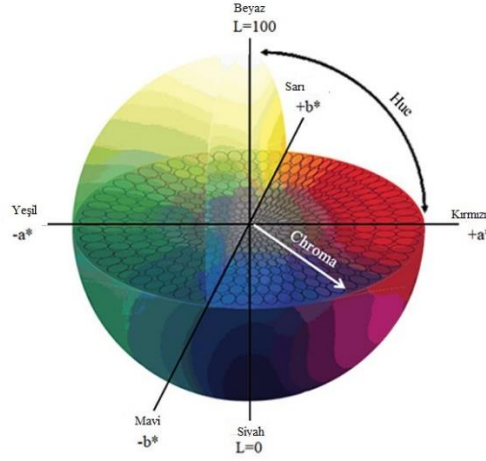
Toplam fenolik bileşik içeriği kontrol için $311,63 \pm 1,34$ mg GAE/100 mL bulunmuştur. 35 ve 40 dakika uygulama sonrasında sırasıyla $279,36 \pm 20,39$ ve $276,88 \pm 15,07$ mg GAE/100 mL bulunmuş ve uygulama süresi ile birlikte azalma gözlemlenmiştir bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$, EK 7 - Şekil 4.4). Literatürde (Wang vd., 2017), ultasonikasyon uygulaması sonucu oluşan kavitasyon etkisi sonucunda (işlem sırasında harcanan enerji ile orantılı olarak) fenolik bileşiklerin hidroksil radikallerinin serbest kalarak bozunmaya uğradığı bildirilmiştir (Wang vd., 2017). Çalışma bulgularımız adı geçen literatür bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Toplam flavonoid içeriği kontrol grubu elma suyunda $53,17 \pm 0,72$ mg KE/100 mL olarak tespit edilmiş iken 35 ve 40 dakikada US (S+V)+UV-C uygulaması sonrasında sırasıyla $40,11 \pm 2,77$ ve $42,40 \pm 2,57$ mg KE/100 mL değerlerine düşmüştür ($p < 0,05$).

Ancak US (S+V)+UV-C işlemleri uygulama süresinin (35 ve 40 dakika) örneklerin toplam flavonoid içeriği üzerinde etkili olmadığı ($p>0,05$, EK 8 - Şekil 4.5) belirlenmiştir. Konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada (Nadulski vd., 2019) elma suyu örneklerine US uygulaması sonrasında örneklerin toplam flavonoid içeriğinde istatistiksel olarak önemli artış meydana geldiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). US uygulaması ile meyve sularında toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin artması literatürde farklı teoriler ile açıklanmaktadır. İlk teori, ultrasonikasyon etkisiyle hidroksil radikallerinin oluşumu ve ardından bunların fenolik bileşiklerin aromatik halkalarıyla bağlanması ile ilgilidir. Orto- veya para-konumunda ikinci bir hidroksil grubunun eklenmesinin fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesini arttırdığı bildirilmektedir (Ashokkumar vd., 2008). US işlemi sonrası polifenol oksidaz (PPO) aktivitesindeki değişikliğin de toplam fenolik ve flavonoid bileşimini etkilediği belirtilmektedir (Bhat vd., 2011).

4.4. Renk Analizlerine Ait Bulgular

Ürünlerin kalite özelliklerinden biri olarak ifade edilem renk değerleri, tüketiciler tarafından bir ürünün tercih edilmesindeki ilk ve en önemli parametrelerden biridir. CIE, matematiksel koordinatları kullanarak renk değerlerinin kırmızı, yeşil ve mavi baskınlıklarını belirtmektedir (Şekil 4.2) (Aghajanzadeh vd., 2022). Renk parametrelerinden biri olan ve 0-100 aralığında ifade edilen L^* değeri parlaklığı ifade etmektedir. a^* yeşil ve kırmızılığı, b^* mavi ve sarılık değerlerini ifade etmekte ve -120 ve +120 aralığında bir değer almaktadır (Darvishi vd., 2012; Polat vd., 2020). CIE sisteminde a^* değeri çoğunlukla meyvelerdeki likopen miktarı nedeniyle ortaya çıkan kırmızı rengi, b^* değeri ise β -karoteninin etkili olduğu turuncu rengi belirtmektedir (Pathare vd., 2013).



Şekil 4.2. CIE renk sistemi koordinatları (Aghajanzadeh vd., 2022)

Elma suyu örneklerinde US (S+V)+UV-C uygulaması sonucunda elde edilen L^* (aydınlık), a^* (kırmızılık-yeşillik), b^* (sarılık-mavilik), C^* , ΔC , Hue Açısı $^\circ$, ΔE ve BI değerleri Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Kontrol ve US (S+V)+UV-C işlemi uygulanmış elma suyu örneklerinin renk özellikleri (n=3)

	Kontrol	140W 35 dk.	140W 40 dk.
L^*	29,45±0,08 ^a	29,69±0,21 ^a	29,73±0,09 ^a
a^*	-0,27±0,01 ^a	-0,34±0,05 ^b	-0,28±0,04 ^{ab}
b^*	-1,19±0,14 ^a	-1,36±0,20 ^a	-1,83±0,13 ^b
C^*	1,22±0,14 ^a	1,42±0,19 ^a	1,85±0,12 ^b
ΔC	-	0,42±0,09	0,64±0,12
Hue Açısı$^\circ$	77,13±1,75 ^a	75,53±3,57 ^a	81,20±1,69 ^a
ΔE	-	0,59±0,09	0,73±0,10
BI	0,28±0 ^a	0,38±0,03 ^b	0,41±0,02 ^b

^{a, b} aynı sütundaki farklı harflendirmeler farklı sürede uygulanan işlemlerin aynı kimyasal analiz değeri üzerine etkisinin istatistiksel olarak farklı olduğunu ifade etmektedir; $p < 0,05$

L^* : parlaklık, a^* : kırmızılık-yeşillik, b^* : sarılık-mavilik değeri olarak belirtilmektedir.

Farklı sürelerde US(S+V)+UV-C işlemi uygulaması elma suyu örneklerinin L^* değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli olmayan bir değişime (artışa) neden olmuştur. US uygulaması sonucu oluşan küçük parçacıkların ışığı daha iyi yansıttığı ve buna bağlı olarak US uygulanan örneklerin L^* değerinde artış görülebileceği literatürde bildirilmektedir (Zhou vd., 2021). US (S+V)+UV-C işleminin 35 dakika süre ile uygulanması ile elma suyu örneklerinin a^* değerinde istatistiksel açıdan önemli bir

azalmaya yol açmış ($p < 0,05$, EK 9 - Şekil 4.6) iken kontrol grubu ile 40 dakika US (S+V)+UV-C işlemi uygulanan örneklerin a^* değerleri istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p > 0,05$, EK 10 - Şekil 4.7). Elma suyu örneklerine US (S+V)+UV-C işlemi uygulaması örneklerin b^* değerlerinde negatif yönde bir artış meydana getirmiş ve 40 dakikalık uygulamanın b^* değerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde değişime neden olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$, EK 11 - Şekil 4.8). Örneklerin b^* değerinde negatif yönde gelen artış sarılıktan uzaklaşma bir diğer ifade ile mavilikte artma anlamına gelmektedir. US (S+V)+UV-C işlemi uygulaması sonucunda elma suyu örneklerinin renk parametrelerinde meydana gelen değişimler US işlemi sırasında ortaya çıkan kavitasyonların etkisinden kaynaklanabilir (Tiwari vd., 2008).

Kroma (C^*) değeri, 0 (nötr) ve 60 (parlaklık) arasındaki renk doygunluğunu veya rengin saflığını belirtmektedir. Kroma değerinin düşük olması (soluk renk) algılamada zorluk ve yüksek olması (canlı renk) tüketici tarafından algılanan yüksek renk yoğunluğu olarak ifade edilmektedir (Alves vd., 2020; Turgut ve Topuz, 2020; Pandiselvam vd., 2023). US (S+V)+UV-C işleminin 35 dakika uygulanması elma suyu örneklerinin C^* değerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime yol açmamış ($p > 0,05$) iken 40 dakikalık uygulama ile örneklerin C^* değerleri önemli düzeyde artmıştır ($p < 0,05$, EK 12 - Şekil 4.9).

Hue açısı, renk tonunu ifade etmektedir. Buna göre 0° açısı kırmızılık-morluk, 90° açısı sarı rengi, 180° açısı mavi-yeşil değeri ve 270° açısı ise mavi rengi göstermektedir (Yıldız, 2023). Elma suyu örneklerine US (S+V)+UV-C işlemi uygulamasının süreden bağımsız olarak örneklerin hue açısı değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmamıştır ($p > 0,05$, EK 13 - Şekil 4.10).

Renk saflığı olarak tanımlanan kahverengileşme indeksi (BI), meyve suyunda besin değerinin azalmasının bir göstergesi olarak belirtilmektedir (Aghajanzadeh vd., 2022). Elma suyu örneklerine US (S+V)+UV-C işlemi uygulaması örneklerin BI değerinde artışa neden olmuştur. Yapılan istatistiksel analizde US (S+V)+UV-C işlemi için her iki uygulama süresinde (35 ve 40 dakika) elde edilen BI değerlerinin kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek ($p < 0,05$) olduğu belirlenmiş iken 35 ve 40 dakika uygulama sonucunda elde edilen BI değerleri istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p > 0,05$, EK 14 - Şekil 11). Literatürde BI değerindeki artışın uygulama sırasında ortaya çıkan hidroksil radikalleri gibi serbest radikaller nedeniyle artan oksidasyon reaksiyonlarından kaynaklandığı belirtilmektedir (Aghajanzadeh vd., 2022). Meyve sularına uygulanan ısıtma işlemlerin Maillard reaksiyonlarını teşvik ederek kahverengiliği

arttırdığı literatürde belirtilmektedir (Falguera vd., 2011; Ertekin Filiz ve Seydim, 2018; Arı vd., 2020).

Toplam renk farkı (ΔE) değeri, örnek renginin kontrol grubu örneğe göre farklılıklarını belirtmektedir (Aghajanzadeh vd., 2022). ΔE ile ifade edilen renk farklılığı değerinin tüketiciler tarafından algılanması için bu değer 3 ve üzerinde olması gerektiği ifade edilmektedir. Şöyleki; $\Delta E < 1$ algılanamaz, $1 \leq \Delta E < 2$ asgari, $2 \leq \Delta E < 3$ algılama sınırında, $3 \leq \Delta E < 5$ algılanabilir ve $5 \leq \Delta E < 12$ önemli seviyede renk farklılığı ve $\Delta E \geq 12$ ise tamamen farklı renk tonu olması anlamına gelmektedir (Altaş, 2022). Çalışmamızda farklı sürelerde US (S+V)+UV-C işlemi uygulanan elma suyu örneklerinde ΔE değerinin 1'in altında olması belirlenen renk farklılıklarının insan gözüyle algılanamayacağı anlamına gelmektedir. Elma suyu örneklerinde US uygulaması sonucu meydana gelen renk değişimlerinin insan gözüyle kolaylıkla algılanamayacağı Abid vd. (2013) tarafından da vurgulanmakta ve bu durumun US işleminin elma suyuna uygulanmasını teşvik eden unsurlardan biri olduğu ifade edilmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, ısıl olmayan gıda işleme teknolojilerinden US ve UV-C ışığının kombine uygulaması için tasarlanan deney düzeneği, ticari elma suyu örneklerinde *E.coli* O157:H7'nin mikrobiyal inaktivasyon amacı ile uygulanmıştır. Elma sularında yenilikçi işleme teknolojilerinin pastörizasyon amacıyla kullanılabilmesi için FDA tarafından belirlenen 5 log inaktivasyon değerine ulaşılan işlem parametrelerinde, uygulanan işlemin elma sularının pH, °Bx, toplam antioksidan aktivite değeri, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid içeriği, renk (L^* , a^* , b^* , C^* , ΔC , Hue açısı° ve ΔE) ve kahverengileşme indeksi değeri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Çalışmada, 140 W güçte US (S+V)+UV-C işleminin 35 dk. uygulanması sonucunda elma suyundaki *E.coli* O157:H7 sayısında $4,31 \pm 0,28$ log birimlik bir azalma gözlemlenirken, 40 dk. uygulama sonunda ise $5,04 \pm 0,66$ log birimlik azalma elde edilmiştir. Mikrobiyolojik analizler sonucunda görülen mikrobiyal azalmanın uygulanan US enerjisi artışı ile doğru orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. Mikrobiyal inaktivasyon için elma suyuna verilmesi gereken enerjinin yüksek olması nedeni ile işlem sırasında örnek sıcaklığı artmıştır. Sıcaklık kontrolünün sağlanması için US uygulaması sürekli+vurgulu (S+V) uygulaması şeklinde gerçekleştirilmiş ve sıcaklık artışı kontrol altına alınmıştır.

Kontrol grubu ve 35 dakika US (S+V)+UV-C işlemi uygulanan örneklerin pH değeri istatistiksel olarak benzer ($p > 0,05$) bulunmuş iken 40 dakika US (S+V)+UV-C işlemi uygulanan elma suyu örneğinin pH değeri diğer örneklerden önemli derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu durum örneklerin suda çözünen kurumadde değerlerindeki farklılıklar ile ilişkilendirilmiştir.

US (S+V)+UV-C işlemi uygulaması ile örneklerin °Bx değerinde işlem sırasında gerçekleşen muhtemel su kaybı ile ilişkili olarak artış meydana geldiği belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan elma suyu örneklerinin °Bx değerlerinin Türk Gıda Kodeksi Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği'ne göre elma sularında olması gereken minimum °Bx değerinden (11,2) yüksek olduğu görülmüştür.

US (S+V)+UV-C işlemi ile elma suyu örneklerinin toplam antioksidan aktivite, fenolik bileşik ve toplam flavonoid içeriği değerlerinde azalma meydana gelmişken ($p < 0,05$), işlemin 35 veya 40 dakika olarak uygulanması elma sularının toplam antioksidan aktivite ve fenolik bileşik içeriği değerlerini önemli düzeyde değiştirmemiştir ($p > 0,05$).

Farklı sürelerde US (S+V)+UV-C işlemi uygulaması elma suyu örneklerinin L* değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli değişime yol açmamış iken işleminin 35 dakika süre ile uygulanması ile elma suyu örneklerinin a* değerinde istatistiksel açıdan önemli bir azalmaya yol açmıştır. Elma suyu örneklerine US (S+V)+UV-C işlemi uygulaması örneklerin b* değerlerinde negatif yönde bir artış meydana gelmiştir.

US (S+V)+UV-C işleminin 40 dakika uygulanması ile örneklerin C* değerleri ve uygulama süresinden bağımsız olarak örneklerin BI değerleri önemli düzeyde artmıştır ($p<0,05$). Elma suyu örneklerine US (S+V)+UV-C işlemi uygulamasının örneklerin hue açısı değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmamıştır. Çalışmamızda farklı sürelerde US (S+V)+UV-C işlemi uygulanan elma suyu örneklerinin ΔE değerinin tüketiciler tarafından algılanamayan düzeyde (1'in altında) olduğu görülmüştür.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, (D'amico vd., 2006) yapılan çalışmada *E.coli* O157:H7'nin 4,63 log birimlik mikrobiyal inaktivasyonu için gerekli enerjinin 240.000 J olması beklenmektedir. Ancak S+V uygulaması ile 224.255 J enerji verilerek ilgili patojen mikroorganiz sayısında 5,03 log birimlik azalma gözlemlenmiştir. Böylelikle US (S+V) uygulamasında daha az enerji ile sıcaklık kontrolü sağlanarak daha etkili bir sonuç elde edilmiştir.

Konu ile ilgili olarak bundan sonra yapılacak çalışmalarda; (i) pastörizasyon işlemi görmemiş elma sularında US (S+V)+UV-C işlemi uygulaması gerçekleştirilerek işlemin mikrobiyal inaktivasyon ve elma suyunun kalite parametrelerine etkilerinin belirlenmesi, (ii) depolamanın US (S+V)+UV-C işlemi uygulanan elma sularının kalite parametreleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi ve (iii) US (S+V)+UV-C işleminin örneklerin duyu özellikleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi gibi çalışmaların yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aadil, R.M., Zeng, X. A., Han, Z., ve Sun, D.W. (2013). Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*, 141(3), 3201-3206.
- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M.M., Hu, B., Lei, S., ve Zeng, X. (2013). Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1182-1187.
- Adekunte, A. O., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Scannell, A. G. M., ve O'donnell, C. P. (2010). Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122(3), 500-507.
- Aghajanzadeh, S., Ziaifar, A. M., ve Verkerk, R. (2022). Effect of thermal and non-thermal treatments on the color of citrus juice: A review. *Food Reviews International*, 39(1), 1-23.
- Ağcam, E., Akyıldız, A., ve Dündar, B. (2018). Thermal pasteurization and microbial inactivation of fruit juices. In *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*, Edited by G. Rajauria, B. K. Tiwari, Academic Press, (309-339).
- Ahmad, F., Zaidi, S., ve Arshad, M. (2021). Postharvest quality assessment of apple during storage at ambient temperature. *Heliyon*, 7(8), e07714.
- Akçelik, M., Aydar, Y. L., Ayhan, K., Çakır, İ., Doğan, H. B., Gürgün, V., Halkman, K., Kaleli, D., Kuleşan, H., Özkaya, F. D., Tunail, N. ve Tükel, Ç. (1999). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları (82-83). Ankara: Armoni Matbaacılık Ltd. Şti.
- Akgün, M. P., ve Ünlütürk, S. (2017). Effects of ultraviolet light emitting diodes (LEDs) on microbial and enzyme inactivation of apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, 260, 65-74.
- Al-Juboori, R. A., Yusaf, T., ve Bowtell, L. (2015). Energy conversion efficiency of pulsed ultrasound. *Energy Procedia*, 75, 1560-1568.
- Altaş, A., (2022). *Chia (Salvia Hispanica L.) Tohumu Müsilajının Geleneksel Salep İçeceği Üretiminde Stabilizatör Olarak Kullanımı*. (Yüksek Lisans Tezi). Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Burdur.
- Alves, L. D. L., dos Santos, R. L., Bayer, B. L., Devens, A. L. M., Cichoski, A. J., ve Mendonça, C. R. B. (2020). Thermosonication of tangerine juice: Effects on quality characteristics, bioactive compounds, and antioxidant activity. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(12), e14914.
- Anaya-Esparza, L. M., Velázquez-Estrada, R. M., Roig, A. X., García-Galindo, H. S., Sayago-Ayerdi, S. G., ve Montalvo-González, E. (2017). Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 26-37.

- Anjaly, M. G. (2021). *Effect of Combined Treatments of Ultrasound and Ultraviolet Radiation for Preservation of Pineapple Juice*. (Master of Science Thesis). Agricultural University, Kerala.
- Arı, B., Budak, N. H., Seydim, A. C., ve Güzel-Seydim, Z. (2020). Effects of Ozonation on Apple Juice Quality. *International Journal of Fruit Science*, 20(sup3), 1570-1578.
- Artık, N., (2006). Meyve Suyu Üretim Teknolojisi, *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı, Gıda Serisi 2* (E-Kitap: <https://kutuphane.tarimorman.gov.tr/vufind/MyResearch/UserLogin>), Ankara.
- Arya, S. S., Nachiappan, N., Waghmare, R., ve Bhat, M. S. (2023). Recent progress and future perspectives on non-thermal apple juice processing techniques. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5(1), 1-13.
- Asl, P. J., Rajulapati, V., Gavahian, M., Kapusta, I., Putnik, P., Khaneghah, A. M., ve Marszałek, K. (2022). Non-thermal plasma technique for preservation of fresh foods: A review. *Food Control*, 134, 108560.
- Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilku, K., Versteeg, C. (2008). Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 155-160.
- Baboli, Z. M., Williams, L., ve Chen, G. (2020). Design of a batch ultrasonic reactor for rapid pasteurization of juices. *Journal of Food Engineering*, 268, 109736.
- Balpetek, D., ve Gürbüz, Ü. (2009). *Bazı Et Ürünlerinde E.coli 0157: H7 Varlığının Araştırılması*. (Yüksek Lisans Tezi). Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Donsì, F., Yildiz, S., Candoğan, K., Pokhrel, P. R., ve Guadarrama-Lezama, A. Y. (2022). Nonthermal processing technologies for stabilization and enhancement of bioactive compounds in foods. *Food Engineering Reviews*, 14(5), 1-37.
- Bayana, D. (2015). *Yumurta Sarısı Karotenoidleri ve Yağ Asidi Kompozisyonu Üzerine Ultraviyole Işığın Etkisi*. (Yüksek Lisans Tezi). Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Burdur.
- Bayana, D., Ertan, K., Gürsoy, O., ve Yılmaz, Y. (2015). UV-C ışık uygulamasının elma suyunun antioksidan aktivite ve kahverengileşme indeksi üzerine etkisi. 9. *Gıda Mühendisliği Kongresi, Bildiri Özet Kitabı*, İzmir.
- Baysal, T., ve İçer F. (2012). Gıda Mühendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler. Nobel Akademik Araştırmalar Yayınevi, Ankara.

- Baysal, A. H., Molva, C., ve Ünlütürk, S. (2013). UV-C light inactivation and modeling kinetics of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in white grape and apple juices. *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), 494-498.
- Belgheisi, S., ve E. Z. Kenari, R. (2019). Improving the qualitative indicators of apple juice by Chitosan and ultrasound. *Food Science and Nutrition*, 7(4), 1214-1221.
- Bhat, R., Kamaruddin, N. S. B. C., Min-Tze, L. ve Karim, A. A. (2011). Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 1295-1300.
- Biedrzycka, E., ve Amarowicz, R. (2008). Diet and health: apple polyphenols as antioxidants. *Food Reviews International*, 24(2), 235-251.
- Boyer, J., ve Liu, R. H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3, 1-15.
- BUGEM, (2020). 1990-2020 Bitkisel Üretim Verileri. *Tarım ve Orman Bakanlığı*. Erişim adresi <https://www.tarimorman.gov.tr>
- Butz, P., ve Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35(2-3), 279-284.
- Caminiti, I. M., Palgan, I., Muñoz, A., Noci, F., Whyte, P., Morgan, D. J., ve Lyng, J. G. (2012). The effect of ultraviolet light on microbial inactivation and quality attributes of apple juice. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 680-686.
- Caswell, H. (2009). The role of fruit juice in the diet: an overview. *Nutrition Bulletin*, 34(3), 273-288.
- Cemeroğlu, B. (2018). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1, Bizim Grup Basımevi. Ankara.
- Cemeroğlu, B. (2011). *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*. Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara.
- Cemeroğlu, B. (2013). Gıda Analizleri: Gıda Analizlerinde Genel Yöntemler, *Bizim Grup Basımevi*, Ankara.
- Chand, P., Chintareddy, V. R., Verkade, J. G., ve Grewell, D. (2010). Enhancing biodiesel production from soybean oil using ultrasonics. *Energy & Fuels*, 24(3), 2010-2015.
- Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., ve Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing—Food quality assurance and food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 88-98.
- Chang, J. M., ve Fang, T. J. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E.coli* O157: H7. *Food Microbiology*, 24(7-8), 745-751.

- Chawla, R. P. G. R., ve Patil, G. R. (2010). Soluble dietary fiber. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(2), 178-196.
- Chemat, F., ve Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813-835.
- Cheng, L. H., Soh, C. Y., Liew, S. C., ve Teh, F. F. (2007). Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. *Food Chemistry*, 104(4), 1396-1401.
- Chiozzi, V., Agriopoulou, S., ve Varzakas, T. (2022). Advances, applications, and comparison of thermal (pasteurization, sterilization, and aseptic packaging) against non-thermal (ultrasounds, UV radiation, ozonation, high hydrostatic pressure) technologies in food processing. *Applied Sciences*, 12(4), 2202.
- Cody, S. H., Glynn, M. K., Farrar, J. A., Cairns, K. L., Griffin, P. M., Kobayashi, J., ve Vugia, D. J. (1999). An outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. *Annals of Internal Medicine*, 130(3), 202-209.
- Cui, X., Wang, B., Zhong, S., Li, Z., Han, Y., Wang, H., ve Moehwald, H. (2013). Preparation of protein microcapsules with narrow size distribution by sonochemical method. *Colloid and Polymer Science*, 291, 2271-2278.
- D'amico, D. J., Silk, T. M., Wu, J., ve Guo, M. (2006). Inactivation of microorganisms in milk and apple cider treated with ultrasound. *Journal of Food Protection*, 69(3), 556-563.
- Darvishi, H., Khoshtaghaza, M. H., ve Minaee, S. (2012). Drying kinetics and colour change of lemon slices. *International Agrophysics*, 28(1), 1-6.
- de Melo, F. T., de Oliveira, I. M., Greggio, S., Dacosta, J. C., Guecheva, T. N., Saffi, J., ve Rosa, R. M. (2012). DNA damage in organs of mice treated acutely with patulin, a known mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10), 3548-3555.
- de Sao Jose, J. F. B., de Andrade, N. J., Ramos, A. M., Vanetti, M. C. D., Stringheta, P. C., ve Chaves, J. B. P. (2014). Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. *Food Control*, 45, 36-50.
- de Souza Sant'Ana, A., Rosenthal, A., ve de Massaguer, P. R. (2008). The fate of patulin in apple juice processing: A review. *Food Research International*, 41(5), 441-453.
- Devine, D. A., Keech, A. P., Wood, D. J., Killington, R. A., Boyes, H., Doubleday, B., ve Marsh, P. D. (2001). Ultraviolet disinfection with a novel microwave-powered device. *Journal of Applied Microbiology*, 91(5), 786-794.
- Diffey, B. L. (2002). Sources and measurement of ultraviolet radiation. *Methods*, 28(1), 4-13.

- Dinçer, C., ve Topuz, A. (2018). Meyve suyu işlemede ultrases kullanımı. *Gıda*, 43(4), 569-581.
- Doğan, H. B., Kuleasan, H., Cakir, I., ve Halkman, A. K. (2003). Evaluation of increased incubation temperature and cefixime–tellurite treatment for the isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from minced beef. *International Journal of Food Microbiology*, 87(1-2), 29-34.
- Doğan, K. (2017). *Optimization of Ultraviolet Pasteurization Conditions of Shalgam (Şalgam) Juice and Determination of Its Shelf Life*. (Doctoral Dissertation). Yıldız Technical University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Istanbul.
- dos Santos Sousa, L., Cabral, B. V., Madrona, G. S., Cardoso, V. L., ve Reis, M. H. M. (2016). Purification of polyphenols from green tea leaves by ultrasound assisted ultrafiltration process. *Separation and Purification Technology*, 168, 188-198.
- Doyle, M. P. (1991). *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 12(4), 289-301.
- Dündar, B. (2022). Ultrases Uygulamasının elma suyu ilaveli trabzon hurması nektarının reolojik özellikleri üzerine etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25(4), 864-871.
- Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., ve Liu, R. H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405(6789), 903-904.
- Ekşi, A., ve F. Karadeniz. (1991). Natürliche zuckerverteilung von apfelsaft aus der sorte Amasya. *Flussiges Obst*, 58(2), 70-71
- Eljaaidi, A.A. (2016). *2D ve 3D ultrasound systems in development of medical imaging technology*. (Doctoral Dissertation). Cape Peninsula University of Technology, Cape Town.
- Engmann, F. N., Ma, Y., Tchabo, W., ve Ma, H. (2015). Ultrasonication treatment effect on anthocyanins, color, microorganisms and enzyme inactivation of mulberry (*Moraceae nigra*) juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 854-862.
- Ercan, S. S., ve Soysal, C. (2013). Use of ultrasound in food preservation. *Nature Science*, 5, 5-13.
- Ertekin Filiz, B., ve Seydim, A. C. (2018). Kinetic changes of antioxidant parameters, ascorbic acid loss, and hydroxymethyl furfural formation during apple chips production. *Journal of Food Biochemistry*, 42(6), e12676.
- Ertugay, M. F., ve Başlar, M. (2014). The effect of ultrasonic treatments on cloudy quality-related quality parameters in apple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26, 226-231.

- Falguera, V., Pagán, J., ve Ibarz, A. (2011). Effect of UV irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1), 115-119.
- Fan, X., Huang, R., ve Chen, H. (2017). Application of ultraviolet C technology for surface decontamination of fresh produce. *Trends in Food Science & Technology*, 70, 9-19.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2001). Manual on the application of the HACCP system in mycotoxin prevention and control. *FAO Food and Nutrition Paper*, 73.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2003). Pesticide residues in food 2003 - Dietary risk assessment for pesticide residues in food. Erişim adresi <http://www.fao.org/agriculture/crops/corethemes/theme/pests/jmpr/jmpr-rep/en/>.
- Gabriel, A. A. (2012). Inactivation of Escherichia coli O157: H7 and spoilage yeasts in germicidal UV-C-irradiated and heat-treated clear apple juice. *Food Control*, 25(2), 425-432.
- Gençer, A. (2014). *Anorganik nanopartiküller içeren ultraviyole koruyucu sert kaplamalar*. (Yüksek Lisans Tezi). Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Gouma, M., Álvarez, I., Condón, S., ve Gayán, E. (2015). Modelling microbial inactivation kinetics of combined UV-H treatments in apple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 27, 111-120.
- Grintsevich, E. E., ve Metelitsa, D. I. (2002). Kinetics of ultrasonic inactivation of peroxidase in aqueous solutions. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 76(8), 1368-1373.
- Guerrero-Beltrán, J. A., ve Barbosa- Cánovas, G. V., (2004). Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food Science and Technology International*, 10(3), 137-147.
- Guerrero-Beltrán, J. A., ve Barbosa-Cánovas, G.V., (2005). Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice by ultraviolet light. *Journal of Food Process Engineering*, 28(5), 437-452.
- Güzel, B. H. (2013). *Inactivation of foodborne pathogens and enzymes by ultrasound under pressure at non-lethal and lethal temperatures in apple and orange juices*. (Doctoral Dissertation). Middle East Technical University, Ankara.
- Halkman, K. (2019). Gıda Mikrobiyolojisi II Ders Notları. *Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü*, Ankara.

- Hsin-Yi, C., ve Chou, C. C. (2001). Acid adaptation and temperature effect on the survival of *E.coli* O157:H7 in acidic fruit juice and lactic fermented milk product. *International Journal of Food Microbiology*, 70(1-2), 189-195.
- İşman, B. (2004). *Aydın yöresinde yetiştirilen kuru incirlerdeki fungus florasına ultraviyole ışınlarının etkilerinin incelenmesi*. (Doktora tezi). Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Jabbar, S., Abid, M., Wu, T., Muhammad Hashim, M., Hu, B., Lei, S., ve Zeng, X. (2014). Study on combined effects of blanching and sonication on different quality parameters of carrot juice. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(1), 28-33.
- Jang, J. H., ve Moon, K. D. (2011). Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. *Food Chemistry*, 124(2), 444-449.
- Juarez-Enriquez, E., Salmerón, I., Gutierrez-Mendez, N., Ortega-Rivas, E. (2016). Ultraviolet irradiation effect on apple juice bioactive compounds during shelf storage. *Foods*, 5(1), 10.
- Kadalkal, Ç., ve Sebahattin, N. A. S. (2011). Elma ve elma ürünlerinde patulin miktarını etkileyen faktörler. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 6(1), 87-96.
- Karacaoğlu, C., Gürsoy, O., ve Yılmaz, Y. (2016). Ultrasonikasyon destekli vakum impregnasyon emdirme tekniği ile muamele işleminin kivi dilimlerinin kuruma kinetiği üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 14(3), 256-266.
- Keyser, M., Müller, I. A., Cilliers, F. P., Nel, W., ve Gouws, P. A. (2008). Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(3), 348-354.
- Kiang, W. S., Bhat, R., Cheng, L. H., ve Rosma, A. (2013). Effects of thermosonication on *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* Enteritidis as a function of pH and temperature. *Journal of Medical and Bioengineering*, 2(3), 177-181.
- Koca, N., Saatli, T. E., ve Urgan, M. (2018). Gıda sanayisinde ultraviyole ışığın yüzey uygulamaları. *Akademik Gıda*, 16(1), 88-100.
- Kolniak-Ostek, J., Oszmiański, J., ve Wojdyło, A. (2013). Effect of L-ascorbic acid addition on quality, polyphenolic compounds and antioxidant capacity of cloudy apple juices. *European Food Research and Technology*, 236, 777-798.
- Koutchma, T. (2008). UV light for processing foods. *Ozone: Science and Engineering*, 30(1), 93-98.
- Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 138-155.

- Krasulya, O., Bogush, V., Trishina, V., Potoroko, I., Khmelev, S., Sivashanmugam, P., ve Anandan, S. (2016). Impact of acoustic cavitation on food emulsions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 30, 98-102.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Kim, D. O., Lee, H. J., ve Lee, C. Y. (2003). Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6516-6520.
- Leistner, L. (2000). Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*, 55(1-3), 181-186.
- Leszczuk, A., Szczuka, E., Wydrych, J., ve Zdunek, A. (2018). Changes in arabinogalactan proteins (AGPs) distribution in apple (*Malus x domestica*) fruit during senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 138, 99-106.
- Li, X., Cai, M., Wang, L., Niu, F., Yang, D., ve Zhang, G. (2019). Evaluation survey of microbial disinfection methods in UV-LED water treatment systems. *Science of the Total Environment*, 659, 1415-1427.
- Li, C., Sheng, L., Sun, G., ve Wang, L. (2020). The application of ultraviolet-induced photo-crosslinking in edible film preparation and its implication in food safety. *LWT-Food Science and Technology*, 131, 109791.
- Lopez, P., ve Burgos, J. (1995). Peroxidase stability and reactivation after heat treatment and manothermosonication. *Journal of Food Science*, 60(3), 451-455.
- Lynch, M., Painter, J., Woodruff, R., ve Braden, C., (2006). Surveillance for foodborne-disease outbreaks: United States, 1998-2002. *Morbidity and mortality weekly report. Surveillance summaries*, 55(10), 1-42. Washington.
- Mandha, J., Shumoy, H., Matemu, A. O., ve Raes, K. (2023). Characterization of fruit juices and effect of pasteurization and storage conditions on their microbial, physicochemical, and nutritional quality. *Food Bioscience*, 51, 102335.
- Martinez-Guerra, E., ve Gude, V. G. (2015). Continuous and pulse sonication effects on transesterification of used vegetable oil. *Energy Conversion and Management*, 96, 268-276.
- Martinez-Guerra, E., ve Gude, V. G. (2016). Determining optimum pulse mode for ultrasound enhanced biodiesel production. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 35, 14-19.
- Masri, A. N., Mutalib, M. A., Yahya, W. Z. N., Aminuddin, N. F., ve Leveque, J. M. (2020). Rapid esterification of fatty acid using dicationic acidic ionic liquid catalyst via ultrasonic-assisted method. *Ultrasonics Sonochemistry*, 60, 104732.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.

- Mohideen, F. W., Solval, K. M., Li, J., Zhang, J., Chouljenko, A., Chotiko, A., ve Sathivel, S. (2015). Effect of continuous ultra-sonication on microbial counts and physico-chemical properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 563-570.
- Montenegro, J., Ruan, R., Ma, H., ve Chen, P. (2002). Inactivation of *E.coli* O157: H7 using a pulsed nonthermal plasma system. *Journal of Food Science*, 67(2), 646-648.
- Morales-de la Peña, M., Welte-Chanes, J., ve Martín-Belloso, O. (2019). Novel technologies to improve food safety and quality. *Current Opinion in Food Science*, 30, 1-7.
- Morowitz, H. J. (1950). Absorption effects in volume irradiation of microorganisms. *Science*, 111(2879), 229-230.
- Moyer, J. C. ve Aitken, H. C. (1980). Apple juice. In P. E. Nelson ve D. K. Tressler, (Ed.). *Fruit and Vegetable Juice Processing Technology*, 212-267. Westport, CT, USA: AVI Publishing Co.
- Muñoz, A., Palgan, I., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., Whyte, P., ve Lyng, J. G. (2012). Combinations of selected non-thermal technologies and antimicrobials for microbial inactivation in a buffer system. *Food Research International*, 47(1), 100-105.
- Nadulski, R., Kobus, Z., Wilczyński, K., Sobczak, P., Panasiewicz, M., Żukiewicz-Sobczak, W., ve Szparaga, A. (2019). Effect of extraction method and thermosonication on apple juice quality. *Applied Sciences*, 9(19), 3977.
- Nagasako-Akazome, Y., Kanda, T., Ikeda, M., ve Shimasaki, H. (2005). Serum cholesterol-lowering effect of apple polyphenols in healthy subjects. *Journal of Oleo Science*, 54(3), 143-151.
- Noor, R., Islam, Z., Munshi, S. K., ve Rahman, F. (2013). Influence of temperature on *Escherichia coli* growth in different culture media. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 7(2), 899-904.
- Oğuz, C. ve Karaçayır, H. F. (2009). Türkiye’de elma üretimi, tüketimi, pazar yapısı ve dış ticareti. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1, 41-49.
- Oyenihi, A. B., Belay, Z. A., Mditshwa, A., ve Caleb, O. J. (2022). “An apple a day keeps the doctor away”: The potentials of apple bioactive constituents for chronic disease prevention. *Journal of Food Science*, 87(6), 2291-2309.
- Özkütük, N. (2007). Ultraviyole lambalarının kullanımı. 5. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi*, 4-8 Nisan 2008, Antalya.
- Pala, Ç. U., ve Toklucu, A. K. (2010). Ultraviyole (UV) ışın teknolojisinin meyve sularına uygulanması. *Akademik Gıda*, 8(1), 17-22.

- Pala, Ç. U., Zorba, N. N. D., ve Özcan, G. (2015). Microbial inactivation and physicochemical properties of ultrasound processed pomegranate juice. *Journal of Food Protection*, 78(3), 531-539.
- Pan, Z., Qu, W., Ma, H., Atungulu, G. G., ve McHugh, T. H. (2012). Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(2), 365-372.
- Pandiselvam, R., Mitharwal, S., Rani, P., Shanker, M. A., Kumar, A., Aslam, R., Tekgül Barut, Y., Kothakota, A., Rustagi, S., Bhati, D., Anusha Siddiqui, S., Siddiqui W. M., Ramniwas, S., Aliyeva, A., ve Khaneghah, A. M. (2023). The influence of non-thermal technologies on color pigments of food materials: An updated review. *Current Research in Food Science*, 6, 100529.
- Pathare, P. B., Opara, U. L., ve Al-Said, F. A. J. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 36-60.
- Patil, S., Bourke, P., Kelly, B., Frías, J. M., ve Cullen, P. J. (2009). The effects of acid adaptation on *Escherichia coli* inactivation using power ultrasound. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 486-490.
- Patist, A., ve Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 147-154.
- Petruzzi, L., Campaniello, D., Speranza, B., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., ve Bevilacqua, A. (2017). Thermal treatments for fruit and vegetable juices and beverages: A literature overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(4), 668-691.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., ve Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31(2), 593-606.
- Piyasena, P., Mohareb, E., ve McKellar, R. C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 207-216.
- Polat, A., Kurtulmuş, F., ve İzli, N. (2020). Sürekli ve kesikli mikrodalga yöntemleriyle kurutulan elmanın renk değişim analizi. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34(1), 149-165
- Porębska, I., Sokołowska, B., Skąpska, S., ve Rzoska, S. J. (2017). Treatment with high hydrostatic pressure and supercritical carbon dioxide to control *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice. *Food Control*, 73, 24-30.
- Potapovich, M. V., Eremin, A. N., ve Metelitz, D. I. (2003). Kinetics of catalase inactivation induced by ultrasonic cavitation. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 39, 140-146.
- Prasanna, V., Prabha, T. N., ve Tharanathan, R. N. (2007). Fruit ripening phenomena—an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(1), 1-19.

- Ravn-Haren, G., Dragsted, L. O., Buch-Andersen, T., Jensen, E. N., Jensen, R. I., Németh-Balogh, M., ve Bügel, S. (2013). Intake of whole apples or clear apple juice has contrasting effects on plasma lipids in healthy volunteers. *European Journal of Nutrition*, 52, 1875-1889.
- Ray, B., ve Bhunia, A. (2007). *Fundamental Food Microbiology*. CRC press.
- Roobab, U., Aadil, R. M., Madni, G. M., ve Bekhit, A. E. D. (2018). The impact of nonthermal technologies on the microbiological quality of juices: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 437-457.
- Roobab, U., Abida, A., Afzal, R., Madni, G. M., Zeng, X. A., Rahaman, A., ve Aadil, R. M. (2022). Impact of high-pressure treatments on enzyme activity of fruit-based beverages: an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(2), 801-815.
- Samani, B. H., Khoshtaghaza, M. H., Lorigooini, Z., Minaei, S., ve Zareiforush, H. (2015). Analysis of the combinative effect of ultrasound and microwave power on *Saccharomyces cerevisiae* in orange juice processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 32, 110-115.
- Sayiner, G., ve Beyhan, Y. (2023). Geleneksel besin saklama yöntemleri ve yeni teknolojiler. *Toros University Journal of Food Nutrition and Gastronomy*, 2(1), 79-92.
- Schneider, Y., Zahn, S., ve Rohm, H. (2008). Power requirements of the high-frequency generator in ultrasonic cutting of foods. *Journal of Food Engineering*, 86(1), 61-67.
- Shewfelt, R. L. (1986). Flavor and color of fruits as affected by processing. *Commercial Fruit Processing*, 481-529.
- Si, X., Chen, Q., Bi, J., Wu, X., Yi, J., Zhou, L., ve Li, Z. (2016). Comparison of different drying methods on the physical properties, bioactive compounds and antioxidant activity of raspberry powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(6), 2055-2062.
- Silva, F. V. M., ve Sulaiman, A. (2017). Chapter 4 - Advances in Thermo-sonication for the Inactivation of Endogenous Enzymes in Foods. In Bermudez-Aguirre, D (Ed), *Ultrasound: Advances for Food Processing and Preservation*. (s. 101-130). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804581-7.00004-X>.
- Singh, J., ve Gehlot, P. (2015). *Microbes in Action*. Agrobios (India), Agro House, Behind Nasrani Cinema Chopasani Road, Jodhpur, India.
- Sommers, C.H., Sites, J.E., ve Musgrove, M., (2010). Ultraviolet light (254 nm) inactivation of pathogens on foods and stainless steel surfaces. *Journal of Food Safety* 30(2): 470-479.

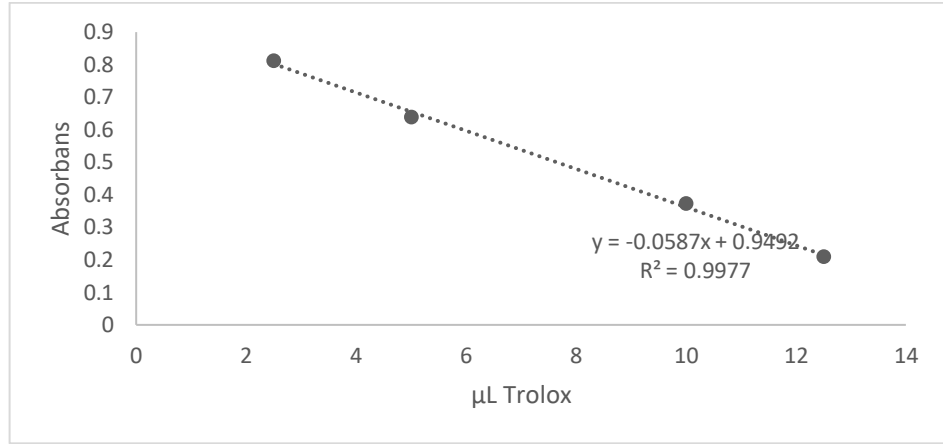
- Sun, Y., Zhong, L., Cao, L., Lin, W., ve Ye, X. (2015). Sonication inhibited browning but decreased polyphenols contents and antioxidant activity of fresh apple (*Malus pumila* mill, cv. Red Fuji) juice. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 8336-8342.
- Şanlı, A. (2022). *Sürekli sistemde ultraviyole ışık uygulanan kaymaklı ve kaymaksız yoğurtlarda yağ ve protein oksidasyon düzeylerinin belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Tarhan, S., Ergunes, G., ve Taser, O. F. (2006). Selection of chemical and thermal pretreatment combination to reduce the dehydration time of sour cherry (*Prunus cerasus* L.). *Journal of Food Process Engineering*, 29(6), 651-663.
- Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE). (2021). *Tarım Ürünleri Piyasaları, Elma*. Erişim adresi <https://arastirma.tarimorman.gov.tr>.
- Taştan, Ö. (2019). *Berrak elma suyunun ısıl olmayan pastörizasyonuna yönelik yüksek yoğunluklu vurgulu ışık, düşük voltajlı elektriksel işlem ve doğal antimikrobiyal maddelerin kombine kullanımının incelenmesi*. (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., ve Akkaya, Z. (2009). Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *Gıda*, 34(3), 175-182.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., ve Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675.
- Tiwari, B. K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C. P., ve Cullen, P. J. (2008). Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. *LWT – Food Science and Technology*, 41, 1876-1883.
- Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., ve Cullen, P. J. (2009). Effect of low temperature sonication on orange juice quality parameters using response surface methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 109-114.
- Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P. J., ve O'Donnell, C. P. (2010). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasound Sonochemistry*, 17, 598-604.
- Tosun, H., ve Gönül, Ş. A. (2003). *E.coli* O157: H7'nin aside tolerans kazanması ve asidik gıdalarda önemi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Derg*, 1, 10-17.
- Turgut, D. Y., ve Topuz, A. (2020). Depolama süresinin farklı kurutma yöntemleri ile kurutulmuş kamkat dilimlerinin bazı kalite özelliklerine etkisi. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 30(1), 44-56.

- Turgut, N. (2021). Gıdalarda *Escherichia coli* O157: H7 yaygınlığının riskleri ve kontrolü. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 5(1), 101-114.
- Türk Gıda Kodeksi (TGK). (2014). Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği. *Resmi Gazete 29080*, (TEBLİĞ NO: 2014/34).
- Ugarte-Romero, E., Feng, H., Martin, S. E., Cadwallader, K. R., ve Robinson, S. J. (2006). Inactivation of *Escherichia coli* with power ultrasound in apple cider. *Journal of Food Science*, 71(2), E102-E108.
- United States Department of Agriculture (USDA). (2018). Value of U.S. Agricultural Exports, 1997-2017. Erişim adresi <https://www.fas.usda.gov/data/value-us-agricultural-exports-1997-2017>.
- US Food and Drug Administration (USFDA). (2001). Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Procedures for the Safe and Sanitary Processing and Improving of Juice: Final Rule. *Federal Register*, 66(13), 6137-6202.
- US Food and Drug Administration (USFDA). (2020). *E.coli* and Foodborne Illness. Erişim adresi <https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/e-coli-and-foodborne-illness>.
- Uyar, H. (2018). *Ultrasonikasyon Destekli UV-C Işık İşleminin Yumurta Sarısında Salmonella typhimurium İnaktivasyonu Üzerine Etkisi*. (Yüksek Lisans Tezi). Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Burdur.
- Uylaşer, V., ve Başoğlu, F. (2011). Temel Gıda Analizleri. 2.baskı, Ankara, *Bizim Grup Basımevi*.
- Uysal Pala, Ç. (2011). *Bazı Meyve Sularına Isıl İşleme Alternatif Olarak Ultraviyole Işıklarının Uygulanması*. (Doktora Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Ünlütürk, S., Atılgan, M. R., Baysal, A. H., ve Tarı, C. (2008). Use of UV-C radiation as a non-thermal process for liquid egg products (LEP). *Journal of Food Engineering*, 85(4), 561-568.
- Valdramidis, V. P., Cullen, P. J., Tiwari, B. K., ve O'Donnell, C. P. (2010). Quantitative modelling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic browning of orange juice during ultrasound processing. *Journal of Food Engineering*, 96(3), 449-454.
- Vallée Marcotte, B., Verheyde, M., Pomerleau, S., Doyen, A., ve Couillard, C. (2022). Health benefits of apple juice consumption: A review of interventional trials on humans. *Nutrients*, 14(4), 821.
- Vercet, A., Lopez, P., ve Burgos, J. (1997). Inactivation of heat-resistant lipase and protease from *Pseudomonas fluorescens* by manothermosonication. *Journal of Dairy Science*, 80(1), 29-36.

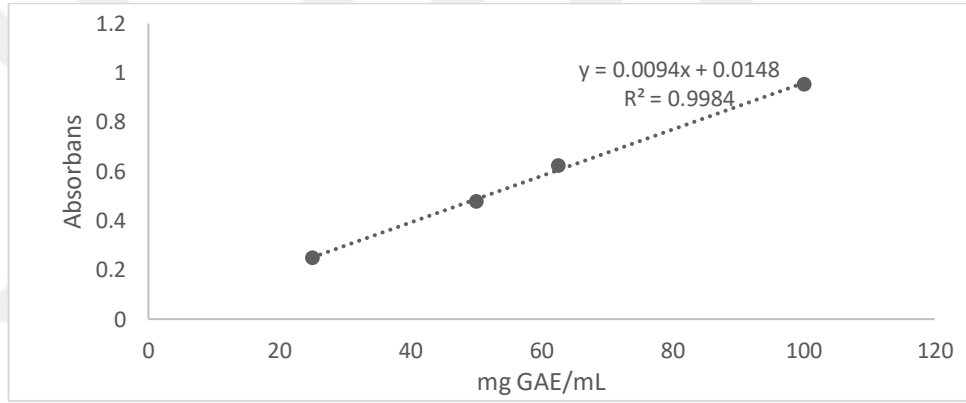
- Vercet, A., Lopez, P., ve Burgos, J. (1999). Inactivation of heat-resistant pectinmethylesterase from orange by manothermosonication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 432-437.
- Vidal, A., Ouhibi, S., Ghali, R., Hedhili, A., De Saeger, S., ve De Boevre, M. (2019). The mycotoxin patulin: An updated short review on occurrence, toxicity and analytical challenges. *Food and Chemical Toxicology*, 129, 249-256.
- Villamiel, M., ve de Jong, P. (2000). Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* and *Streptococcus thermophilus* in Trypticase® Soy Broth and total bacteria in milk by continuous-flow ultrasonic treatment and conventional heating. *Journal of Food Engineering*, 45(3), 171-179.
- Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Cronin, D. A., Lyng, J. G., ve Morgan, D. J. (2009). Shelf life and sensory evaluation of orange juice after exposure to thermosonication and pulsed electric fields. *Food and Bioprocess Processing*, 87, 102-107.
- Wang, J., Ma, H., Pan, Z., ve Qu, W. (2017). Sonochemical effect of flat sweep frequency and pulsed ultrasound (FSFP) treatment on stability of phenolic acids in a model system. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39, 707-715
- Wang, H., Tao, Y., Li, Y., Wu, S., Li, D., Liu, X., ve Show, P. L. (2021). Application of ultrasonication at different microbial growth stages during apple juice fermentation by *Lactobacillus plantarum*: Investigation on the metabolic response. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105486.
- Wei, F., Gao, G. Z., Wang, X. F., Dong, X. Y., Li, P. P., Hua, W., ve Chen, H. (2008). Quantitative determination of oil content in small quantity of oilseed rape by ultrasound-assisted extraction combined with gas chromatography. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(6), 938-942.
- Wrolstad, R. E. (1993). Color and pigment analyses in fruit products. *Station Bulletin* 624. Oregon State University, Corvallis: Agricultural Experiment Station.
- Wu, S., Xu, X., Yang, N., Jin, Y., Jin, Z., ve Xie, Z. (2022). Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in apple juice via induced electric field (IEF) and its bactericidal mechanism. *Food Microbiology*, 102, 103928.
- Yıldız, E. (2021). *Gemlik Çeşidi Siyah Sofralık Zeytinlerin İşlenmesinde Ultrases ve Ozon Uygulamalarının Etkileri*. (Yüksek Lisans Tezi). Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Yıldız, S., Pokhrel, P. R., Ünlütürk, S., ve Barbosa-Cánovas, G. V. (2021). Shelf life extension of strawberry juice by equivalent ultrasound, high pressure, and pulsed electric fields processes. *Food Research International*, 140, 110040.
- Yıldız, Z. (2023). Farklı Yöntemlerle Kurutulan Muz Halkalarının Renk Analizi. *Journal of Agriculture*, 6(1), 11-25.

- Yilmaz, B., Cakmak, H., ve Tavman, S. (2019). Ultrasonic pretreatment of carrot slices: Effects of sonication source on drying kinetics and product quality. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91(3), e20180447.
- Yılmaz, S. (2022). *Sürekli sistem ultraviyole ışık uygulama işleminin ticari elma sularının toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivitesi üzerine etkisi*. (Yüksek Lisans Tezi). Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Burdur.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., ve Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.
- Zhou, X., Wang, W., Ma, X., Xu, E., ve Liu, D. (2021). Ultrasonication of Thawed Huyou Juice: Effects on cloud stability, physicochemical properties and bioactive compounds. *Foods*, 10(8), 1695.
- Zhu, J., Wang, Y., Li, X., Li, B., Liu, S., Chang, N., ve Meng, X. (2017). Combined effect of ultrasound, heat, and pressure on *Escherichia coli* O157: H7, polyphenol oxidase activity, and anthocyanins in blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 251-259.
- Zhu, Z., Zhang, P., ve Sun, D. W. (2020). Effects of multi-frequency ultrasound on freezing rates and quality attributes of potatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 60, 104733.

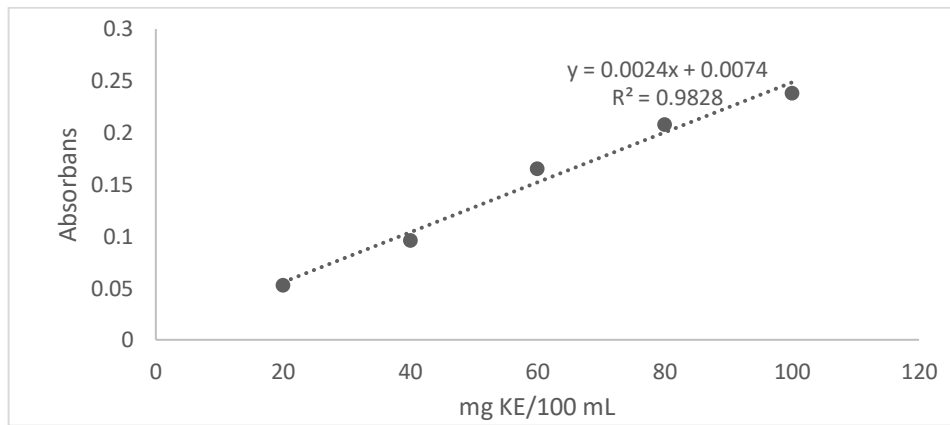
EKLER



EK 1 - Şekil 3.1. Toplam antioksidan aktivite değeri standart kalibrasyon eğrisi



EK 2 - Şekil 3.2. Toplam fenolik bileşik içeriği standart kalibrasyon eğrisi



EK 3 - Şekil 3.3. Toplam flavonoid tayini standart kalibrasyon eğrisi

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2,00	3	3,9567	
1,00	3	3,9767	3,9767
,00	3		4,0233
Sig.		,343	,053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 4 - Şekil 4.1. pH tayini için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
,00	3	11,6667	
1,00	3		12,1333
2,00	3		12,1767
Sig.		1,000	,584

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

EK 5 - Şekil 4.2. Suda çözünen kuru madde (°Bx) için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1,00	3	36,1067	50,0167
2,00	3	40,5600	
,00	3		
Sig.		,062	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 6 - Şekil 4.3. Toplam antioksidan aktivite değeri için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2,00	3	276,8800	311,6300
1,00	3	279,3600	
,00	3		
Sig.		,848	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 7 - Şekil 4.4. Toplam fenolik bileşik içeriği için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1,00	3	40,1133	53,1633
2,00	3	42,4000	
,00	3		
Sig.		,255	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 8 - Şekil 4.5. Toplam flavonoid içeriği için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05
		1
,00	3	29,4467
1,00	3	29,6900
2,00	3	29,7300
Sig.		,051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 9 - Şekil 4.6. L* değeri için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1,00	3	-,3467	
2,00	3	-,2800	-,2800
,00	3		-,2700
Sig.		,068	,750

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 10 - Şekil 4.7. a* değeri için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2,00	3	-1,8267	
1,00	3		-1,3667
,00	3		-1,1933
Sig.		1,000	,235

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 11 - Şekil 4.8. b* değeri için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
,00	3	1,2267	
1,00	3	1,4200	
2,00	3		1,8533
Sig.		,163	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 12 - Şekil 4.9. C* değeri için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05
		1
,00	3	77,1267
1,00	3	79,2400
2,00	3	80,4600
Sig.		,267

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 13 - Şekil 4.10. Hue açısı için istatistiksel analiz sonuçları

Duncan^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
,00	3	,2800	
1,00	3		,3833
2,00	3		,4133
Sig.		1,000	,159

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

EK 14 - Şekil 4.11. Kahverengileşme indeksi için istatistiksel analiz sonuçları