

**ULTRASONİKASYONUN VİŞNE SUYUNUN BAZI KİMYASAL
VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNE ETKİSİNİN
YÜZEY CEVAP YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

TUĞBA TÜRKEN

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

HAZİRAN 2014

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı

Prof. Dr. Yaşar DÜRÜST

Enstitü Müdürü

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

Prof. Dr. Ömer ZORBA

Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Hande Selen ERGE

Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

İmza

1- Prof. Dr. Feryal KARADENİZ

2- Yrd. Doç. Dr. Seda KARASU YALÇIN

3- Doç. Dr. Hande Selen ERGE

ÖZET

ULTRASONİKASYONUN VIŞNE SUYUNUN BAZI KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNE ETKİSİNİN YÜZEY CEVAP YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

Tuğba TÜRKEN

Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Haziran 2014, 115 sayfa

Danışman: Doç. Dr. Hande Selen ERGE

Bu çalışmada; ultrasonikasyon işleminin vişne suyunun bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi yüzey cevap yöntemi ile belirlenmiştir. Vişne suyu, değişen dalga genlik (% 40-100), sıcaklık (20-40°C) ve 2-10 dakika uygulama süresinde 20 kHz sabit frekansta sonikasyona maruz bırakılmıştır.

Toplam monomerik antosiyanin ($P<0.01$), toplam fenolik madde ($P<0.05$), antioksidan aktivite ($P<0.05$), polimerik renk ($P<0.05$) ve görsel renk değişimleri ($P<0.05$) için karesel model önemli bulunmuştur. *Escherichia coli* O157:H7 inaktivasyonu için ise etkileşimleri de içeren bir çeşit lineer model olan 2FI modeli önemli bulunmuştur ($P<0.01$).

Sonuçlar, ultrasonikasyon genlik değerlerinin, sıcaklığın ve sürenin pH, °Bx ve titrasyon asitliği üzerinde önemli etkisinin olmadığını göstermiştir. Ultrasonikasyon genlik değeri ve sıcaklığının artması ile vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarında önemli bir artış gözlenmiştir. Sıcaklığın, toplam fenolik madde miktarında önemli etkisi olmuştur, sıcaklık arttıkça toplam fenolik madde miktarında da artış elde edilmiştir ($P<0.05$). Renk değerleri (L^* , a^* , b^* , C, h), genel olarak artan sıcaklık, genlik değeri ve süre ile artmıştır.

Escherichia coli O157:H7'nin ultrasonikasyon sıcaklık ve süresinden önemli ölçüde etkilendiği belirlenmiştir ($P<0.05$).

Anahtar Kelimeler: Ultrasonikasyon, vişne suyu, toplam monomerik antosiyanin, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite, *E.coli* O157:H7, yüzey cevap yöntemi

ABSTRACT

DETERMINATION OF EFFECTIVENESS OF ULTRASONICATION ON SOME CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF SOURCHERRY JUICE BY RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

TÜRKEN, Tuğba

M. Sc. Thesis, Abant İzzet Baysal University

Department of Food Engineering

June 2014, 115 pages

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hande Selen ERGE

In this study, effect of ultrasonication on some chemical and microbiological properties of sourcherry juice was determined by response surface methodology. Sourcherry juice was sonicated at varying amplitude levels (50-100 %), temperatures (20-40 °C) and treatment times of 2-10 minutes at a constant frequency of 20 kHz.

A quadratic model for the changes of total monomeric anthocyanins ($P<0.01$), total phenolics ($P<0.05$), antioxidant activity ($P<0.05$), polymeric color ($P<0.05$) and visual color ($P<0.05$) was found significant. 2FI model determined for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 was found significant ($P<0.01$).

The results showed that different ultrasonication amplitudes, temperatures and times had no significant effect on pH, °Bx and titratable acidity. A significant increase in total monomeric anthocyanins in sourcherry juice was observed as the amplitude level and temperature increased ($P<0.01$). Temperature had a significant effect on the levels of total phenolics content, an increase in the total phenolics was obtained as the temperature increased ($P<0.05$). The effect of amplitude level on the increase in antioxidant activity of sourcherry juice was also found significant ($P<0.05$). Colour parameters (L^* , a^* , b^* , C, h) generally increased by increasing temperature, amplitude and time. It was determined that *E.coli* O157:H7 significantly affected by ultrasonication temperature and time ($P<0.05$).

Key Words: Ultrasound, sourcherry juice, total monomeric anthocyanins, total phenolics, antioxidant activity, *E.coli* O157:H7, response surface methodology

Kendime ve tüm sevdiklerime

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, tezimin her aşamasında bana yardımcı olan danışmanım sayın Doç. Dr. Hande Selen ERGE'ye, laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan Uzman Fatih İşleyen ve Uzman Şebnem Kurhan'a teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu aşamada da benden maddi-manevi desteklerini esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	2
2.1 Ultrasonikasyon.....	2
2.1.1 Ultrasonikasyon Uygulamasına Etki Eden Faktörler.....	4
2.1.2 Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizması.....	4
2.1.3 Kimyasal Kalite Üzerine Etkisi.....	8
2.1.4 Ultrasonikasyonun Farklı Yöntemlerle Kombinasyonu.....	11
2.1.5 Ultrasonikasyonun Gıda Endüstrisindeki Kullanım Alanları.....	14
2.2 Fenolik Bileşikler.....	17
2.2.1 Fenolik Asitler.....	18
2.2.2 Flavonoidler.....	19
2.3 Antioksidanlar ve Antioksidan Aktivitenin Sağlık Açısından Önemi.....	30

2.4	<i>Escherichia coli</i>	34
3.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	37
3.1	Materyal.....	37
3.2	Deney Tasarımının Oluşturulması.....	37
3.3	Yöntem	39
3.3.1	Suda Çözünür Kuru Madde (^o Bx) Tayini.....	39
3.3.2	pH Değeri Tayini.....	39
3.3.3	Titrasyon Asitliği Tayini	39
3.3.4	Görsel Renk Değerleri Tayini	39
3.3.5	Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini	40
3.3.6	Polimer Renk, Renk Yoğunluğu ve Polimer Renk Yüzdesi Değerlerinin Hesaplanması	41
3.3.7	Toplam Fenolik Madde Tayini.....	43
3.3.8	Antioksidan Aktivite Tayini.....	44
3.3.9	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 sayımı	45
3.3.10	İstatistiksel Analiz.....	46
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	47
4.1	Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyunda suda çözünür kuru madde (^o Bx), pH değeri ve toplam asitlik miktarına etkisi	48
4.2	Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyunda görsel renk değerlerine (L*, a*, b*, C ve h) etkisi	49

4.3	Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyu toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi	59
4.4	Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyu polimerik renk (%) üzerine etkisi	64
4.5	Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyu toplam fenolik madde miktarına etkisi	69
4.6	Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisi	73
4.7	Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyunda <i>E.coli</i> O157:H7 inaktivasyonuna etkisi	78
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	82
	KAYNAKÇA.....	84
	ÖZGEÇMİŞ	

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Ultrasonikasyonun kullanıldığı gıda prosesleri, etki mekanizması, avantajları ve uygulanan gıdalar.....	15
Çizelge 3.1. Yanıt yüzey metodu ultrasonikasyon uygulaması sıcaklık, genlik ve süre değerleri.....	38
Çizelge 4.1 Deneylerde kullanılan vişne suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri...	47
Çizelge 4.2 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda °Bx, pH ve titrasyon asitliği değerleri.....	48
Çizelge 4.3 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda görsel renk değerleri.....	49
Çizelge 4.4 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyu L* değerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları.....	50
Çizelge 4.5 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyunda a* ve b* değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları.....	54
Çizelge 4.6 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyu C ve h değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları.....	56
Çizelge 4.7 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda toplam monomerik antosiyanin miktarı.....	60

Çizelge 4.8 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları.....	61
Çizelge 4.9 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda polimerik renk (%) miktarı.....	65
Çizelge 4.10 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyundaki polimerik renk üzerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları.....	66
Çizelge 4.11 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda toplam fenolik madde miktarı.....	69
Çizelge 4.12 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyundaki toplam fenolik madde miktarına etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları.....	70
Çizelge 4.13 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda antioksidan aktivite değerleri.....	74
Çizelge 4.14 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları.....	75
Çizelge 4.15 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda <i>E. coli</i> O157:H7 sayısı.....	78
Çizelge 4.16 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyunda <i>E.coli</i> O157:H7 inaktivasyonuna etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları.....	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kavitasyon mekanizması	6
Şekil 2.2 Fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları.....	17
Şekil 2.3 Fenolik asitlerin genel yapısı a)Hidroksibenzoik asit türevleri, b)Hidroksisinamik asit türevleri.....	19
Şekil 2.4 Flavonoidlerin genel yapısı.....	20
Şekil 2.5 Yaygın bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları.....	21
Şekil 2.6 Flavonoller ve flavonların kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.7 Flavanonların kimyasal yapısı	23
Şekil 2.8 Flavilium katyonunun kimyasal yapısı	25
Şekil 2.9 Antosiyanidinlerin kimyasal yapıları	26
Şekil 2.10 Glikoz bağlı bir antosiyanin yapısı	27
Şekil 2.11 Antosiyaninlerin pH'ya bağlı kimyasal yapıları ve renkleri.....	28
Şekil 3.1 Kateşin standart eğrisi.....	43
Şekil 3.2 Troloks standart eğrisi.....	45
Şekil 4.1 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığının vişne suyunda L* değerine etkisi.....	51
Şekil 4.2 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresinin vişne suyunda L*değerine etkisi.....	52

Şekil 4.3 Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda L* değerine etkisi.....	53
Şekil 4.4 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyunda a* değerine etkisi	55
Şekil 4.5 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda b* değerine etkisi.....	55
Şekil 4.6 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyunda C değerine etkisi	57
Şekil 4.7 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığının vişne suyunda h değerine etkisi.....	58
Şekil 4.8 Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda h değerine etkisi.....	59
Şekil 4.9 Ultrasonikasyon süresinin ve sıcaklığının vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi.....	62
Şekil 4.10 Ultrasonik dalga genliği ile ultrasonikasyon sıcaklığının vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi.....	63
Şekil 4.11 Ultrasonik dalga genliği ile ultrasonikasyon süresinin vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi.....	64
Şekil 4.12. Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonik dalga genlik değerinin vişne suyundaki polimerik renk (%) üzerine etkisi.....	67
Şekil 4.13 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresinin vişne suyunda polimerik renk (%) üzerine etkisi	68
Şekil 4.14 Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonikasyon genlik değerinin vişne suyunda polimerik renk (%) üzerine etkisi	68

Şekil 4.15 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda toplam fenolik madde miktarına etkisi.....	71
Şekil 4.16 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyunda toplam fenolik madde miktarına etkisi	72
Şekil 4.17 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyunda toplam fenolik madde miktarına etkisi.....	72
Şekil 4.18 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisi.....	76
Şekil 4.19 Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisi.....	77
Şekil 4.20 Ultrasonikasyon süresi ve sıcaklığının vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisi.....	77
Şekil 4.21 Ultrasonikasyon uygulama süresi ve sıcaklığının vişne suyunda <i>E.coli</i> O157:H7 inaktivasyonu üzerine etkisi	80
Şekil 4.22 Ultrasonikasyon uygulama süresi ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda <i>E.coli</i> O157:H7 inaktivasyonu üzerine etkisi.....	81
Şekil 4.23 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığının vişne suyunda <i>E.coli</i> O157:H7 inaktivasyonu üzerine etkisi.....	81

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Absorbans
ABTS	2,2' - azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
ABTS ^{•+}	ABTS radikali
CIE	Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (International Commission on Illumination)
CT	Cefixime Telurite
DNA	Deoksiribonükleik asit
FDA	Food and Drug Administration
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
IFU	Uluslararası meyve suyu üreticileri federasyonu (International Federation of Fruit Juice Producers)
KHz	Kilo Hertz
KPa	Kilo Pascal
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein(Low density lipoprotein)
M	Molarite
MW	Molekül ağırlığı (Molecule weight)
MHz	Mega Hertz
N	Normalite
P	Permeabilite faktörü (P vitamini)
PPO	Polifenol oksidaz

SMAC	Sorbitol MacConkey Agar
TEAC	Troloks eşdeğer antioksidan kapasite (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
TROLOX	6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametil kroman-2 karboksilik asit
X	Sıcaklık
Y	Genlik
Z	Süre
S_f	Seyreltme faktörü
μL	Mikro litre
$\lambda_{\text{vis-max}}$	Maksimum absorbans dalga boyu
ε	Molar absorbans

1. GİRİŞ

Son yıllarda; gıda muhafazasında yeni teknolojiler geleneksel muhafaza yöntemlerine kıyasla dikkat çekmeye başlamıştır. Bunun nedeni; taze, besin değeri yüksek ve güvenilir gıdalara olan talebin artması şeklinde açıklanmaktadır. Gıda güvenliği bakımından ısıtma işlemi gerektiren yöntemlerin yerine tat ve aroma kayıplarını en aza indirerek dayanıklılıklarını artıran yeni teknolojiler geliştirilmektedir (Piyasena ve ark. 2003). Gıda endüstrisinde ısıtma işlemi olmayan teknolojiler; geleneksel ya da günümüzde var olan muhafaza teknikleri ile sağlanmaya çalışılmaktadır. “Engeller teknolojisi (hurdle technology)” olarak bilinen bu teknikler, gıda muhafazasında geleneksel yöntemlerin kullanılmasında başarıyla uygulanmaktadır. Günümüzde, engeller teknolojisi dışında bazı ısıtma işlemi gerektirmeyen muhafaza yöntemleri de önem kazanmaya başlamıştır. Bunlar arasında; atımlı elektrik alan, yüksek basınç ve ultrasonikasyon gibi yöntemler yer almaktadır (Leistner & Gorris, 1995). Ultrasonikasyon, gıda endüstrisinde geniş uygulama alanı bulan bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Ultrasonikasyon, sadece mikrobiyel inaktivasyon amacıyla değil; pişirme, ekstraksiyon, filtrasyon, kesme ve emülsifikasyon gibi birçok işlemde de kullanılmaktadır (Earnshaw ve ark. 1995; Knorr ve ark. 2004; Kuldiloke, 2002). Ultrasonikasyonun ısıtma işlemine kıyasla en önemli avantajı, uygulanan gıdanın kalite özelliklerini korumasıdır. Tat, aroma, renk ve gıdaların içerdiği fitokimyasallar, tüketici tarafından gıdanın tercih edilmesinde önde gelen kalite özellikler arasında bulunmaktadır (Leighton, 2007; Chandrapala ve ark. 2012; McClement, 1995).

Bu araştırmada; ılımlı sıcaklık koşullarında (20°C, 30°C, 40°C), farklı dalga boyu genlik değerlerinde (% 50, % 75, % 100) ve farklı sürelerde (2, 6 10 dakika) uygulanan ultrasonikasyonun pastörizasyon öncesi aşamada temin edilen vişne sularının bazı kalite özelliklerine etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla; pH, suda çözünür kuru madde miktarı, titrasyon asitliği, görsel renk değerleri, toplam monomerik antosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve polimer renk ölçümleri yapılmıştır. Ultrasonikasyonun vişne suyuna inokülasyonu yapılan *Escherichia coli* O157:H7 üzerine etkisi de belirlenmeye çalışılmıştır. Nitekim; *Escherichia coli* O157:H7'nin, mikrobiyolojik kriterler tebliğine göre doğrudan sıkılmış, pastörize edilmemiş meyve sularındaki sayısının 0/25 mL olması gerektiği bildirilmektedir. Deneme deseni, yüzey cevap yöntemine göre oluşturulmuştur.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAşTIRMASI

2.1 Ultrasonikasyon

Son yıllarda yapılan birçok çalışmaya göre meyve ve sebzeler sağlıklı beslenmenin vazgeçilmez bileşenlerindendir. Buna bağlı olarak minimum işlenmiş meyve – sebzelere olan talep her geçen gün artmaktadır. Tüketicilerin doğal ürünlere yönelmeleri nedeni ile pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısıya hassas moleküllere (aromatik bileşikler ve vitaminler gibi) zarar veren uygulamalar sorgulanmaya başlanmıştır. Bunların yerine konsantreler, taze sıkılmış meyve suları ve düşük sıcaklık uygulamaları yer almaya başlamıştır. Ancak bu tür minimum işlenmiş meyve sularında kontaminasyon kaynaklı bazı patojenlerin neden olduğu hastalıkların ortaya çıkması; sterilizasyon veya pastörizasyon işleminin yerini alacak yeni teknolojilerin geliştirilmesinin gerekli olduğunu göstermiştir. Bu yeni teknolojinin hem besinlerin kalite kriterlerini koruması hem de kontaminasyon

kaynaklı patojenleri inaktive edebilmesi gerekmektedir. Birçok alternatif teknoloji arasında ultrasonikasyon ya da sonikasyon teknolojisi, yaygın kullanımı ile birlikte bir takım uygulamalarla kombine edildiğinde etkili sonuçlar vermesinden dolayı dikkat çekmektedir (Wong ve ark. 2008; Bayraktaroğlu & Obuz, 2006; McClement, 1995). Bu teknolojinin özellikle sıvı gıdalarda bakteriyel inaktivasyon açısından etkili olduğunu Lee ve ark. (2009); Valero ve ark. (2007) yaptıkları çalışmalar ile göstermiştir. Ancak, ultrasonikasyon teknolojisinin basınç (manosonikasyon), ısı (termosonikasyon) ya da basınç ve ısıнын birlikte kullanılmasının (manotermosonikasyon) daha iyi sonuçlar vereceği üzerinde durulmaktadır (Pingret ve ark. 2013; Wong ve ark. 2008).

1960’lı yıllarda denizaltılarında kullanılan ses dalgası sisteminin balık ölümlerine yol açtığı belirtilmiştir (Earnshaw ve ark. 1995). Bu bilgilerden yola çıkan bilim adamları ultrasonikasyon yönteminin gelişmesine katkıda bulunmuşlardır. Sanz ve ark. (1985) sonikasyonun bakteri sporlarına olan etkisi üzerine çalışmıştır. Ordoñez ve ark. (1987) ise ısı ve yüksek güçteki ultrasonikasyonu ilk kez birlikte uygulamışlardır. Bu kombinasyona termoultrasonikasyon adını vermişler ve tek başına kullanılan ultrasonikasyon yöntemine kıyasla daha etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. 1994 yılının sonlarına doğru gelindiğinde termosonikasyon, manosonikasyon ve monotermosonikasyon terimleri netlik kazanmaya başlamıştır (Ulusoy ve ark. 2007).

Ultrasonikasyon, “saniyede 20.000 veya daha fazla titreşim gerçekleştiren ses dalgaları ile enerji meydana getirilmesi” olarak tanımlanmaktadır. Ultrasonikasyon için geliştirilen cihazlar genellikle 20 kHz’ den 10 MHz’ e kadar değişen frekanslarda kullanılabilmektedir (Butz & Tauscher, 2002). Gıdalarda mikrobiyal

inaktivasyonu sağlamak için daha çok düşük frekansta (20 – 100 kHz) yüksek-güçte ultrasonikasyon yani “power ultrasound” olarak adlandırılan yöntem tercih edilmektedir (Piyasena ve ark. 2003; Kuldiloke, 2002).

2.1.1 Ultrasonikasyon Uygulamasına Etki Eden Faktörler

Ultrasonikasyon işlemi sırasında aşağıdaki parametrelerde yapılan değişiklikler uygulamaya etki etmektedir. Bunlar;

- Ultrasonik dalgaların büyüklüğü (amplitüd),
- Ultrasonikasyonun uygulama süresi,
- Uygulama sıcaklığı,
- Mikrobiyal inaktivasyonda kullanılan mikroorganizma türü,
- Uygulanılan ortamın pH’sı,
- Uygulamanın yapıldığı gıdanın kompozisyonu,

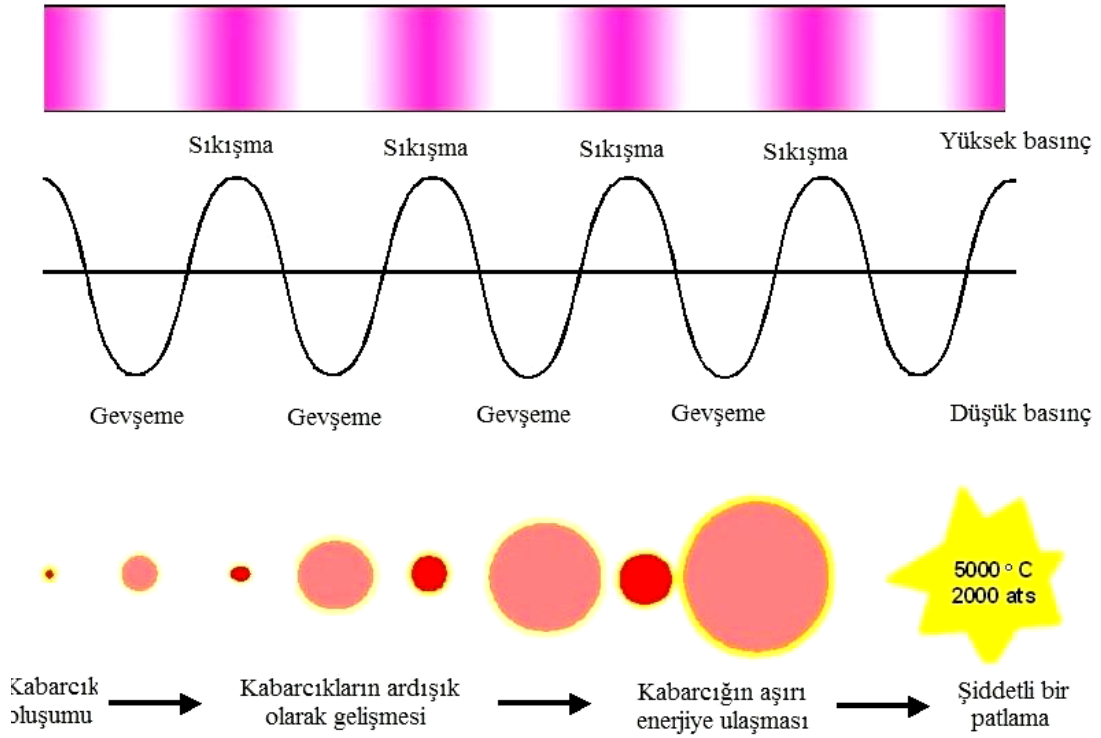
şeklinde sıralanmaktadır. Ancak, ultrasonikasyonun farklı uygulamalar ile kombinasyonu söz konusu olduğunda bu uygulamalara ilişkin parametrelerde göz önünde bulundurulmalıdır (Butz & Tauscher, 2002; Earnshaw ve ark. 1995).

2.1.2 Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizması

Gıdaların içerdiği temel besinler ve su mikrobiyal gelişim için uygun ortam oluşturmaktadır. Gıda maddelerinin mikroorganizmalardan korunması ve güvenli gıda üretilebilmesi için çeşitli ısıtma işlem uygulamaları geliştirilmiştir. Ancak, aşırı sıcaklık uygulamaları gıdaların kimyasal bileşimleri ve fonksiyonel özellikleri üzerine olumsuz etki göstermektedir (Chemat ve ark. 2011; Elvira ve ark. 2014).

Bu yüzden ısıtma işleme alternatif yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan ultrasonikasyon, mikrobiyal inaktivasyon konusu üzerinde sıkça çalışılan bir prostestir (Pingret ve ark. 2013; Furuta ve ark. 2004). Ultrasonikasyon ile mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesinde başlıca 3 adet mekanizmanın etkili olduğu bildirilmektedir (Hua & Thompson, 2000; Phull ve ark. 1997). Bunlardan ilki; yüksek frekanslı ultrasonikasyon dalgalarının bakteri hücre duvarını yıkıma uğratması şeklinde açıklanmaktadır. İkinci mekanizma, ultrasonikasyon sırasında oluşan kavitasyon baloncuklarının patlaması ile oluşan yüksek sıcaklık ve basıncın mikroorganizmaları etkisiz hale getirmesidir. Son mekanizma ise ultrasonikasyonda kavitasyon ile oluşan hidroksil radikallerinin mikroorganizmaları inaktive etmesidir.

Mikrobiyal inaktivasyon mekanizmasının, hücre duvarlarının incelenmesi, bölgesel ani ısınma ve serbest radikal oluşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ultrasonikasyon işlemi sırasında ses dalgası sıvı bir ortamla karşılaşınca boyuna hareket etmektedir. Böylece, sıkışma ve genişleme bölgeleri oluşmaktadır. Bu bölgelerde meydana gelen basınç değişimleri kavitasyona neden olmaktadır. Ortamda oluşan gaz baloncuklarının yüzey alanları, genişleme bölgesinde gaz difüzyonundan dolayı artmaktadır. Ultrasonikasyonun sağladığı enerji, buhar fazını korumaya yetmeyecek düzeye ulaştığında baloncukta hızlı bir yoğunlaşma meydana gelmektedir. Yoğunlaşan bu moleküller hızlı bir şekilde çarpışarak şok dalgalar meydana getirmektedir. Bu şok dalgaları 5500°C ve 50.000 kPa' a kadar ulaşabilen yüksek sıcaklık ve basınç alanları oluşturmaktadır (Knorr ve ark. 2004; O'Donnel ve ark. 2010; Piyasena ve ark. 2003; Koda ve ark. 2009; Kuldiloke, 2002). Bu olay kavitasyon olarak tanımlanmaktadır. Kavitasyon mekanizması Şekil 2.1'de verilmektedir (Başlar, 2011).

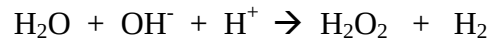
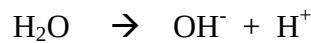


Şekil 2.1 Kavitasyon mekanizması (Başlar, 2011)

Ortaya çıkan kavitasyon enerjisi, baloncukların büyüme kinetiğine ve çarpışma şiddetlerine bağlıdır. Bu enerji, baloncuk çevresindeki yüzey geriliminin ve sıvının buhar basıncının azaltılması ile artırılabilir (Knorr ve ark. 2004). Basınç değişiminden meydana gelen patlamalar, ultrasonikasyonun başlıca mikrobiyel inaktivasyon etkisini oluşturmaktadır. Baloncukların patlaması sonucu oluşan sıcak bölgeler inaktivasyonun gerçekleşmesini sağlamaktadır. Ancak; mikroorganizmalar, geniş bir alana yayılmış ise tümüyle inaktivasyon gerçekleşmeyebilir. Kavitasyon; sıcaklık, dalga boyu, frekans, ortam viskozitesi, sıvı ve gaz kabarcığının özgül ısısı gibi birçok parametreye bağlıdır. Kullanılan ultrasonik frekansın 2.5 MHz'ın üzerinde olmaması gerektiği bildirilmektedir. Çünkü, yüksek frekanslarda kavitasyonun oluşmadığı belirtilmektedir. (Knorr ve ark. 2004; Piyasena ve ark. 2003).

Ultrasonikasyonun etki ve verimliliği konusunda birçok çalışma yapılmıştır. Ultrasonik bakteriyel inaktivasyon sistemleri üzerine patent olmasına karşın ultrasonikasyonun gıda proseslerinde tek başına kullanılmasının zor olduğu düşünülmektedir. Ultrasonikasyonun etkinliği üzerine çalışılan mikroorganizmanın türü oldukça önemlidir. Mikroorganizmalar ve özellikle de sporların dış etkilere karşı oldukça dayanıklı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle güvenli ürün üretilebilmesi için ultrasonikasyonun uzun süreli kullanılmasının gerektiği belirtilmektedir. Ultrasonikasyonun, basınç (manosonikasyon) ve sıcaklık (termosonikasyon) ile birlikte daha etkin olduğu ileri sürülmektedir (Chemat ve ark. 2011; Piyasena ve ark. 2003; Koda ve ark. 2009).

Gıdalarda mikrobiyal ve enzimatik inaktivasyona ilişkin birçok mekanizma öne sürülmektedir. Kavitasyon, yaygın olarak bilinen inaktivasyon mekanizmalarındandır. Kavitasyon şiddetinin, saf sudaki hidrojen peroksit (H₂O₂)'in kolorimetrik bir yöntem ile ölçülerek belirlenebileceği bildirilmektedir. Hidrojen peroksit oluşumu aşağıda verildiği gibidir:



Ancak, gıdaların içerdiği iyonlar ve diğer kolloidal bileşenlerden dolayı hidrojen peroksit oluşumunun izlenmesinin zor olacağı düşünülmektedir. Bu güne kadar gıdalarda kavitasyon aktivitesinin nasıl ölçüleceği konusunda güvenli bir yöntem geliştirilememiştir (O'Donnel ve ark. 2010).

2.1.3 Kimyasal Kalite Üzerine Etkisi

Ultrasonikasyon uygulanmış gıda ürünlerinin renk, tat ve minör bileşenler yönünden kabul edilebilir oldukları bazı çalışmalar ile belirlenmiştir. Renk bir gıdanın tüketici tarafından kabul edilebilirliğinin en belirgin ölçütüdür. Ultrasonikasyonun pek çok katı ve sıvı gıdada renk üzerindeki etkisi araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Bazı ürünlerde, sürekli ultrasonikasyon prosesiyle çalışıldığında enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının gözlemlendiği bildirilmektedir. Sütteki esmer pigmentlerin ultrasonikasyon uygulama süresi ile arttığı, bu artışın ısı işlem görmüş süte oranla daha az olduğu belirtilmektedir. Bu renk değişikliklerine ve esmerleşmeye başta açık renkliler olmak üzere meyve sularında rastlanmaktadır. Ultrasonikasyonun aynı zamanda meyve suyu bulanıklığında azalmaya ve homojenlikte artışa neden olduğu belirlenmiştir. (Pingret ve ark. 2013).

Gıda ürünlerinin karakteristik kimyasal özelliklerinin değişmesi, onların tüketiciler tarafından tercih edilmemelerine neden olmaktadır. Bazı çalışmalar, gıdalarda bulunan antioksidan bileşiklerin ultrasonikasyon sonrasında degradasyona uğradığını göstermektedir. Örneğin; domateste likopenin degradasyona uğradığı belirlenmiştir. Kavun suyuna ultrasonikasyon uygulamasının askorbik asitte ve toplam fenolik bileşenlerde azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Bu duruma kavitasyon sırasında oluşan hidroksil (OH[•]) radikalının sebep olduğu ileri sürülmektedir (Pingret ve ark. 2013). Ultrasonikasyonda kavitasyonun fiziksel etkileri yanında kimyasal etkilerinin de bulunduğu bildirilmektedir. Kavitasyon sırasında hidroksil radikallerinin oluştuğu ve oluşan radikallerin, oksitlenebilir gıdalar ile kolayca reaksiyona girebildiği aktarılmaktadır. Buna bağlı olarak, kavitasyon yararlı ya da zararlı olabilmektedir. Ultrasonikasyon, özellikle yağlar ve yağ içeriği yüksek gıdalara uygulandığında

oluşan oksidasyon ürünlerinin bileşime olumsuz etki ettiği bildirilmektedir. Bilindiği üzere gıdalarda ve biyolojik sistemlerde antioksidan aktivite, hidroksilasyon derecesine bağlıdır. Bu nedenle, fenolik bileşikler gibi gıda bileşenlerinin biyoaktivitesinde radikal oluşumu bir dezavantaj olarak yorumlanmaktadır. Hidroksil radikallerinin gıda bileşenlerini etkilediği durumlarda düşük frekanslı ultrasonikasyon uygulaması önerilmektedir. Çünkü yüksek frekanslı uygulamalarda kavitasyon artmakta ve bundan dolayı oluşan hidroksil radikallerinin de sayısı artmaktadır. Ultrasonikasyonun ekstraksiyon için kullanıldığı durumlarda askorbik asit ve etanol ilavesinin hidroksil radikalının etkisini azalttığı ileri sürülmektedir (Soria & Villamiel, 2010).

Knorr ve ark. (2004)'nın yaptıkları bir çalışmada; termosonikasyon uygulanan portakal suyunun 20°C'de depolanması süresince meydana gelen askorbik asit degradasyonunun, ısıl işlem uygulanmış portakal sularına kıyasla daha az olduğu saptanmıştır. Ultrasonikasyonun bu pozitif etkisinin oksijenin uzaklaşmasından kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmektedir. Taze limon suyundaki endojen enzim etkisinin de termosonikasyon ile azaltılabileceği saptanmıştır. Aynı çalışmada; ısıl işlem ve termosonikasyon uygulanan portakal suyunun depolama süresince renk değerleri de ölçülmüştür. Kırmızı ve sarı rengin göstergesi olan a ve b değerlerinde her iki yöntem bakımından önemli bir fark belirlenmezken, L değerinin termosonikasyon uygulanmış portakal suyunda ısıl işlem görmüş portakal suyuna kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Parlaklık değerindeki bu artışın düşük enzim aktivitesinden ve etkili homojenizasyondan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Knorr ve ark. 2004; Valero ve ark. 2007).

Romero ve ark. (2006) elma sırasında *E. coli* inaktivasyonu için ultrasonikasyon tekniğini kullanmışlardır. İnaktivasyon testleri, ultrasonikasyonun *E. coli* hücre yıkımını artırdığını göstermiştir. Ultrasonikasyonun briksi, pH'yı ve titrasyon asitliğini etkilemediği; renk ve bulanıklıkta ise çok az değişikliğe neden olduğunu bildirmektedir.

Taze portakal suyunun kullanıldığı bir çalışmada uygulanan ultrases işlemi pH, briks ve toplam asitlikte önemli bir değişikliğe neden olmazken; bulanıklık değeri, esmerleşme indeksi ve renk parametrelerinin (*L*, *a* ve *b*) ultrases şiddeti ve süresinin artırılmasıyla önemli seviyede etkilendiği belirtilmiştir (Tiwari ve ark. 2008).

Bermudez-Aguire ve ark. (2009), termosonikasyon (24 kHz, 400 W, % 0, 30, 60, 90 ve 100 dalga genlik değerlerinde, 63°C sıcaklıkta ve 30 dk) ve ısıl işlem (63°C-30 dk) uygulanması ile sütün protein, asitlik, yağ, renk ve mikrobiyolojik özelliklerini incelemişlerdir ve işlem görmüş sütleri 16 gün 4°C'de depolamışlardır. Termosonikasyon uygulanan örneklerin protein içeriğinin ve pH'sının azaldığı, yağ içeriğinin ve asitliğinin arttığını bildirmişlerdir. Proteindeki azalma, denatüre olan serum 22 proteinleri ve kazeinin üçüncül ve dördüncül yapısında meydana gelen kısmi modifikasyon ile açıklanırken; yağ içeriğinin artması kavitasyonun yağ globüllerini kırması ve triaçilgliserolün serbest kalması şeklinde açıklanmaktadır. pH değerindeki azalma, kavitasyon sonucunda meydana gelen enzimatik faaliyetlere; asitlikteki artış ise lipolize ve sonikasyon sonrasında oluşan nitrit, nitrat ve hidrojen peroksit oluşumuna dayandırılmaktadır.

Sonuç olarak; ultrasonikasyon sırasında kavitasyon ile açığa çıkan yüksek enerji ve radikaller; antosiyanin, fenolik maddeler gibi antioksidan aktivite gösteren gıda

bileşenleri üzerine olumsuz etki etmektedir. Fakat bu olumsuz etki pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısı işlemleriyle kıyaslandığında düşük düzeyde kalmaktadır. Bu durum, ultrasonikasyonun endüstride kabul edilebilir bir uygulama olabileceğini göstermektedir (Pingret ve ark. 2013; Valero ve ark. 2007).

2.1.4 Ultrasonikasyonun Farklı Yöntemlerle Kombinasyonu

Ultrasonikasyon, çoğu zaman tek başına yeterli olmamaktadır. Bazı fiziksel veya kimyasal parametreler ile beraber kullanıldığında sinerjistik etki oluşturmaktadır. Tek başına ultrasonikasyon kullanımı hem zaman hem de enerji açısından bir dezavantajdır. Bu nedenle genellikle sıcaklık, basınç, pH ve kimyasallar gibi parametrelerle kombine edilerek kullanılmaktadır (Chemat ve ark. 2011; Earnshaw ve ark. 1995). Ultrasonikasyonun sıcaklık ile birlikte uygulanması işlemine termosonikasyon (TS) adı verilmektedir. Sıcaklığın uygulanması ultrasonikasyonun verimini artırırken uygulama süresini azaltmaktadır (Villamiel ve ark. 1999; Mason ve ark. 1996).

Ordenez ve ark. (1984); *Streptococcus faecium* ve *S. durans*'ın inaktive edilmesi için 5-62°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında ultrasonikasyon uygulamışlardır. Ultrasonikasyonun sıcaklık ile birlikte kullanılmasının her iki yöntemin ayrı ayrı kullanılmasına kıyasla daha etkili olduğunu açıklamışlardır. Sadece sıcaklık uygulamasıyla karşılaştırıldığında termosonikasyonun uygulamasında mikrobiyel inaktivasyonda 1 logaritmik birim daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Lopez-Malo ve ark. (2001)'nin yaptıkları çalışmada da, termosonikasyonun *Penicillium digitatum*'u etkili bir şekilde inaktive ettiği belirtilmiştir. Termosonikasyonun,

inaktivasyon süresini sadece sıcaklık ya da ultrasonikasyon uygulamalarına kıyasla daha fazla kısalttığını göstermişlerdir.

Ultrasonikasyonun düşük sıcaklıkta yüksek basınç (100-600 kPa) ile uygulanması işlemine ise manosonikasyon (MS) adı verilmektedir. Basınç uygulaması da ultrasonikasyonun etkinliğini artırmaktadır (Piyasena ve ark. 2003; O'Donnel ve ark. 2010). Pagan ve ark. (1999) da ultrasonikasyonun sıcaklık ve basınç ile uygulandığında *L. monocytogenes*'in inaktivasyon süresini kısalttığını belirtmişlerdir. *L. monocytogenes*' in inaktivasyon süresinin sabit sıcaklık uygulamasında 4.3 dakika olduğu, 200 kPa' lık bir manosonikasyon uygulamasıyla 1.5 dakikaya, 400 kPa' lık bir manosonikasyon uygulaması ile de 1.0 dakikaya düştüğünü belirtmişlerdir. Aynı çalışmada 200 kPa' lık basınç ve 64°C sıcaklık denemesinde ise inaktivasyon süresinin 0.34 dakikaya düştüğü belirtilmiştir.

Ultrasonikasyon işleminin yüksek sıcaklık ve yüksek basınç ile kombine edildiği uygulamaya monotermsosonikasyon (MTS) adı verilmektedir. MTS uygulamasının aynı sıcaklıktaki termosonikasyona göre 6-30 kat arasında daha etkin olduğu saptanmıştır (Knorr ve ark. 2004; Piyasena ve ark. 2003). MTS uygulaması, bakteri sporları ve vejetatif hücreleri ile mayalar üzerinde etkili bir uygulamadır. MTS uygulaması sonucunda oluşan etki sinerjistik özellik göstermektedir. Yani meydana gelen toplam etki, bu etkiyi oluşturan her bir bileşenin (ultrasonikasyon, sıcaklık ve basınç) tek başına kullanıldıklarında oluşturdıkları etkinin toplamından çok daha fazladır (Earnshaw ve ark. 1995).

Lipoksigenaz, peroksidaz, polifenoloksidaz ve *Pseudomonas fluorescens*' tan elde edilen sıcaklığa dayanıklı lipaz gibi enzimlerin inaktivasyonu için 110-140°C

aralığındaki MTS uygulamaları, sadece sıcaklık uygulamasından daha etkilidir. MTS uygulamasının özellikle süt gibi sıvı gıdalar açısından alternatif bir muhafaza yöntemi olabileceği, böylece sıcaklığın gıda kalitesinde oluşturduğu olumsuzlukların azaltılabileceği; renk, görünüş ve tat açısından daha iyi ürünler elde edilebileceği savunulmaktadır. Ayrıca enerji ve zamandan tasarruf sağlanarak maliyeti düşük ürünler elde edilebileceği belirtilmektedir (Başlar, 2011).

Hua ve Thompson (2000); klor dioksit ve ultrasonikasyonun birlikte kullanımının elma ve marul gibi gıdalarda raf ömrü üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada *E. coli* ve *Salmonella*, indikatör bakteriler olarak kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlardan; ultrasonikasyonun ve klor dioksidin aynı anda kullanılmasının bakteri inaktivasyon hızlarını artırdığı belirtilmiştir. Bu durumun, ultrasonikasyon işleminin fiziksel etkisi ile ultrasonik dalgaların klor dioksidin elma ve marul yüzeylerine nüfuzunu hızlandırmasından ve böylece ortamda bulunan mikroorganizmaların daha etkin bir şekilde inaktive edilmesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir.

Yukarıda değinilen çalışmalar, ultrasonikasyonun, mikroorganizmaları inaktive etmesi nedeniyle gıdaların muhafazasında oldukça etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir. Bununla beraber ultrasonikasyonun diğer muhafaza teknikleri ile kombine edilerek uygulanması etkinliğini daha da artırmaktadır. Bu durum, ultrasonikasyonun bir gıda muhafaza yöntemi olarak endüstride kullanılabilmesi için daha ileri düzeyde araştırmalar yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, ultrasonikasyon teknolojisi gıdaların muhafazası açısından, gelecek için bir potansiyel oluşturmaktadır (Hoover, 2000; Awad ve ark. 2012).

2.1.5 Ultrasonikasyonun Gıda Endüstrisindeki Kullanım Alanları

Gıda işleme süreçlerinde düşük güç, yüksek frekans ($< 1\text{W/cm}^2$; $> 100\text{ kHz}$) ve yüksek güç, düşük frekans ($10\text{-}1000\text{ W/cm}^2$; $20\text{-}100\text{ kHz}$) ultrasonikasyon işlemleri kullanılmaktadır (Chemat ve ark. 2011; Knorr ve ark. 2004). Düşük güç, yüksek frekans ultrasonikasyon uygulaması genel olarak gıda ürünlerini ve işleme koşullarını izleme amaçlı kullanılmaktadır. Gıdanın bileşimi, faz değişikliği, partikül boyutu ve dağılımı gibi birçok parametreyi ölçmede kullanılmaktadır. Endüstride; canlı hücrelerin aktivitesini arttırmak, gıdaların yüzey temizliğini sağlamak, enzimlere etki etmek ve ultrasonik destekli ekstraksiyon, kristalizasyon, emülsifikasyon, filtrasyon, kurutma ve dondurma işlemleri için kullanılmaktadır (Knorr ve ark. 2004; Chemat ve ark. 2011; Patist & Bates, 2008; Demirdöven & Baysal, 2009). Yüksek güç, düşük frekans ultrasonikasyon kullanımı genellikle materyalin özelliklerini değiştirmede ya da gıda işlemede ara uygulama olarak yer almaktadır. Endüstride fiziksel, kimyasal ve mekanik olarak kullanımları bulunmaktadır. Uygulamada genellikle diğer proseslerle birlikte kullanılmaktadır. Yüksek güçlü ultrasonikasyon endüstride; mikrobiyal ve enzimatik inaktivasyonun yanında, kurutma, sıvılardan gaz uzaklaştırılmasında, ekstraksiyon, köpük giderme, dondurma, polimerizasyon, kesme ve protein denatürasyonu gibi birçok gıda işleme prosesinde kullanılmaktadır (Knorr ve ark. 2004; Patist & Bates, 2008; Mason ve ark. 1996; Vilku ve ark. 2008; Salleh-Mack & Roberts, 2007). Genel olarak ultrasonikasyon işleminin kullanıldığı, kullanılan proseslerdeki etki mekanizması, avantajları ve bu işlemin kullanıldığı gıda ürünleri Çizelge 2.1’de verilmiştir (Chemat ve ark. 2011; Demirdöven & Baysal, 2009; Patist & Bates, 2008; Mason ve ark.1996).

Çizelge 2.1. Ultrasonikasyonun kullanıldığı gıda prosesleri, etki mekanizması, avantajları ve uygulanan gıdalar (Chemat ve ark. 2011)

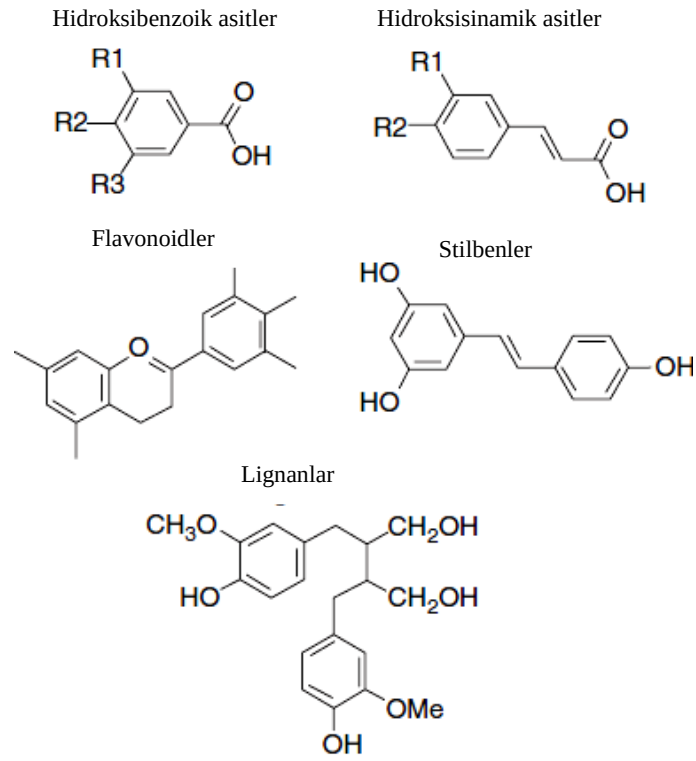
Yöntem	Etki Mekanizması	Yöntemin Avantajları	Endüstride Uygulanan Ürünler
Enzimatik/ Mikrobiyal İnaktivasyon	Kavitasyon oluşumu	Zaman ve enerji tasarrufu, düşük sıcaklık uygulamalarında yüksek inaktivasyon oranı, homojenliğin artırılması	Pektinmetilesteraz, lipoksigenaz, peroksidaz ve polifenoloksidaz gibi gıda kalitesini etkileyen enzimlerinin inaktivasyonu; <i>E.coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> ve <i>Pseudomonas fluorescens</i> gibi bakterilerin inaktivasyonu
Kristalizasyon/ Dondurma	Akustik akış ve kavitasyon sonucu ısı transferi gerçekleştirme	Zamandan tasarruf, gıdanın organoleptik kalitesinin geliştirilmesi, daha küçük ve stabil kristal oluşumu	Et ürünleri, meyve-sebzeler (patates, elma vb.), süt ürünleri, balık, peynir
Filtrasyon	Bağlı tabakanın kavitasyon ile dağıtılarak süspansiyon oluşturulması	Zaman tasarrufu, meyve sularında ekstraksiyon veriminin artırılması	Meyve suları, alkollü içecekler, yemeklik yağlar
Kurutma	Akustik akış ve kavitasyon sonucu kütle transferi gerçekleştirme	Zaman tasarrufu, son ürünün nem oranının minimize edilmesi, gıdanın organoleptik kalitesinin geliştirilmesi	Meyve ve sebzelerin kurutulması
Ekstraksiyon	Kavitasyon oluşumu	Ekstraksiyonun verim ve etkinliğinin artırılması, düşük sıcaklıklarda çalışılabilme	Şeker pancarından şeker eldesi, soya fasülyesinden protein eldesi, biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu

Çizelge 2.1 (Devamı) Ultrasonikasyonun kullanıldığı gıda prosesleri, etki mekanizması, avantajları ve uygulanan gıdalar

Emülsifikasyon/ Homojenizasyon	Kavitasyon ve arayüzey oluşumu	Dayanıklı emülsiyon oluşumu, zamandan ve maliyetten tasarruf	Peynir aromasının iyileştirilmesi, sütün homojenizasyonu, yoğurdun fermantasyon süresinin kısaltılması, mayonez ve ketçapların emülsifikasyonu
Köpük Giderme/ Gaz Giderme	Kavitasyon oluşumu	Ürün veriminin artırılması, düşük enerji kullanımı, köpük gidermek için kullanılan kimyasalların kullanılmaması	Gazlı içecekler, süt, alkollü içecekler
Piştirme	Akustik akış ve kavitasyon sonucu ısı transferi gerçekleştirme	Zaman tasarrufu sağlama, gıdanın organoleptik kalitesinin geliştirilmesi	Et ürünleri ve sebzeler
Fermantasyon	Kavitasyon oluşumu	Fermantasyonun hızlandırılması, metabolit üretiminin artırılması	Fermente gıdalar (alkollü ürünler, süt ürünleri)
Kesme	Kavitasyon oluşumu	Zaman tasarrufu, ürün kayıplarının azaltılması, düzgün kesme sağlanabilmesi	Kek, peynir gibi yumuşak gıdalar, taze ve donmuş sebze-meyveler

2.2 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerde sekonder metabolit olarak bilinmektedir. Bitkilerin savunma mekanizmaları olarak görev yapan birçok nitelikte fenolik bileşik bulunmaktadır. Bitkilerde en yaygın bulunan organik bileşenlerdir. Günümüzde binlerce fenolik tanımlanmıştır ve her geçen gün yenileri eklenmektedir. Fenolik bileşikler bitkilerin meyve, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunmaktadır. Meyve ve sebzelerin kendilerine özgü buruk tadını verirler (Saldamlı, 2007; Gharras, 2009; Wu ve ark. 2006; Markakis, 1982). Gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; antioksidan özellikleri, tat, koku ve renk oluşumundaki etkileri, antimikrobiyal ve antioksidan etkileri gibi birçok açıdan önem taşımaktadır (Chaovanalikit & Wrolstad, 2003). Fenolik bileşikler, beslenme fizyolojisi açısından olumlu etki göstermektedir. Bu nedenle bunlara “biyoflavonoid” adı da verilmektedir. Ayrıca bazı kaynaklarda P faktörü (permeabilite faktörü) ya da P vitamini olarak da ifade edilmektedir (Markakis, 1982; Wu ve ark. 2006). Fenolik bileşikler yapılarındaki fenol halkalarına ve bu halkaların birbirlerine bağlanmalarına göre farklı sınıflara ayrılmaktadır. Yapısal olarak ayrılımları ise fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler ve lignanlar arasında olur (Şekil 2.2) (Gharras, 2009; Markakis, 1982).



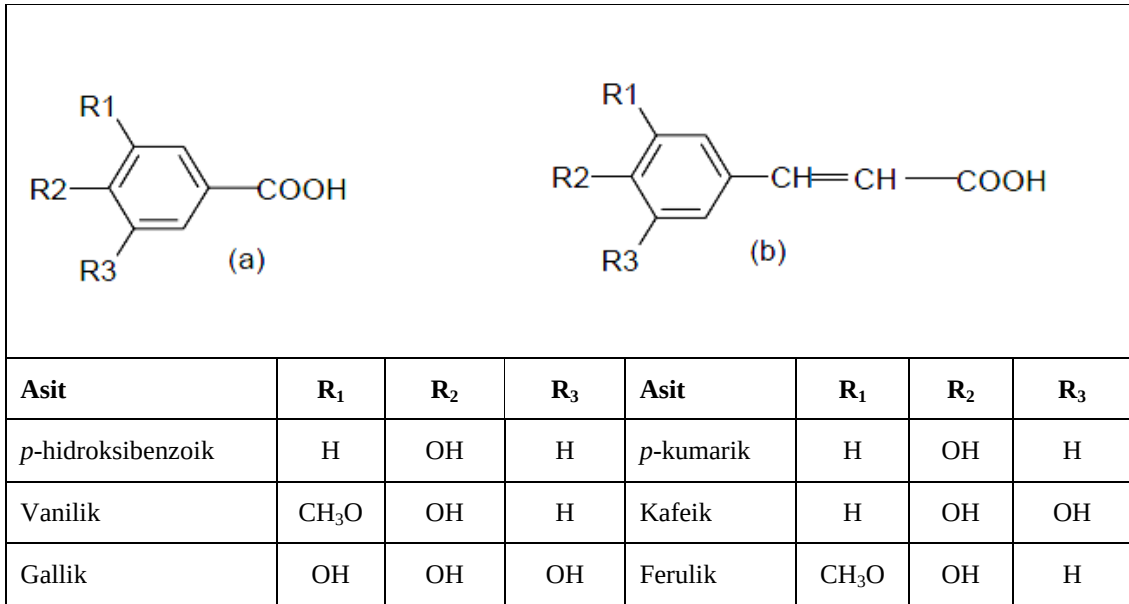
Şekil 2.2. Fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları (Gharras, 2009)

2.2.1 Fenolik Asitler

Fenolik asitler, hidroksisinamik asit türevleri ve hidroksibenzoik asit türevleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Şekil 2.3). Hidroksibenzoik asitler $C_6 - C_1$ fenilmetan yapısındadır ve bitkilerde çok az miktarda bulunurlar. Bunların bazıları; *m*-hidroksibenzoik asit, gallik asit ve vanilik asit gibi asitlerdir (Belitz & Grosch, 1995; Balasundram ve ark. 2006; Markakis, 1982). Ayrıca hidroksibenzoik asitler, hidroksisinamik asitlerden yağ asitlerinin β -oksidasyonu ile analog olan bir reaksiyon zinciri sonucunda oluşmaktadırlar (Belitz & Grosch, 1995). Hidroksisinamik asitler ise $C_6 - C_3$ fenilpropan yapısındadır. Bitkilerde hidroksibenzoik asitlere oranla daha fazla bulunurlar. Hidroksisinamik asitler, genellikle asit türevleri halinde bulundukları için serbest halde bulunmazlar. Ancak sterilizasyon, dondurma ya da fermentasyon sonrası gıdalarda serbest olarak bulunabilmektedir. Fenolik asitlerin esterleri de yaygın olarak bulunmaktadır. Örneğin; *o*-kuinik asitin kafeik asit esteri klorojenik asittir ve elma, armut, ayva ve

erik gibi meyvelerde bulunur. Yaygın bulunan bazı hidroksisinamik asitler; kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik asit gibi asitlerdir (Belitz & Grosch, 1995; Markakis, 1982; Oviasogie ve ark. 2009).

Klorojenik asit, neoklorojenik asit, izoklorojenik asit, kriptoklorojenik asit ve, *p*-kumarik asit gibi fenolik asitlerin vişnede bulunduğu tespit edilmiştir (Belitz & Grosch, 1995; Markakis, 1982; Filimon ve ark. 2011; Kırca & Özkalp, 2003).



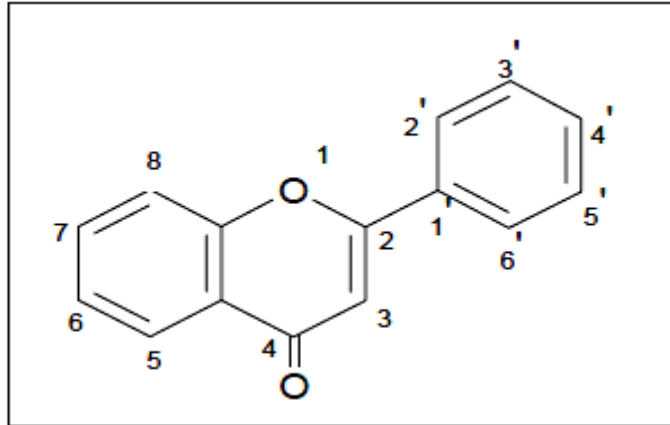
Şekil 2.3. Fenolik asitlerin genel yapısı a)Hidroksibenzoik asit türevleri, b)Hidroksisinamik asit türevleri (Shahidi & Naczki, 1995)

2.2.2 Flavonoidler

Flavonoidler; karbon iskeleti, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan, 15 karbon atomu içeren difenilpropan (C₆-C₃-C₆) yapısındadır. Bu genel yapı şekil 2.4’de verilmiştir. Flavonoidler, yapılarındaki OH grupları ve reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenmektedir (Bilaloğlu & Harmandar, 1999;

Markakis, 1982). Gıdalarda oldukça yaygın bulunan flavonoidler, yapısal farklılıklarından dolayı doğada yaklaşık 6500 civarında bulunmaktadır (Belitz & Grosch, 1995; Saldamlı, 2007). Flavonoidler, 6 alt grupta incelenmektedir;

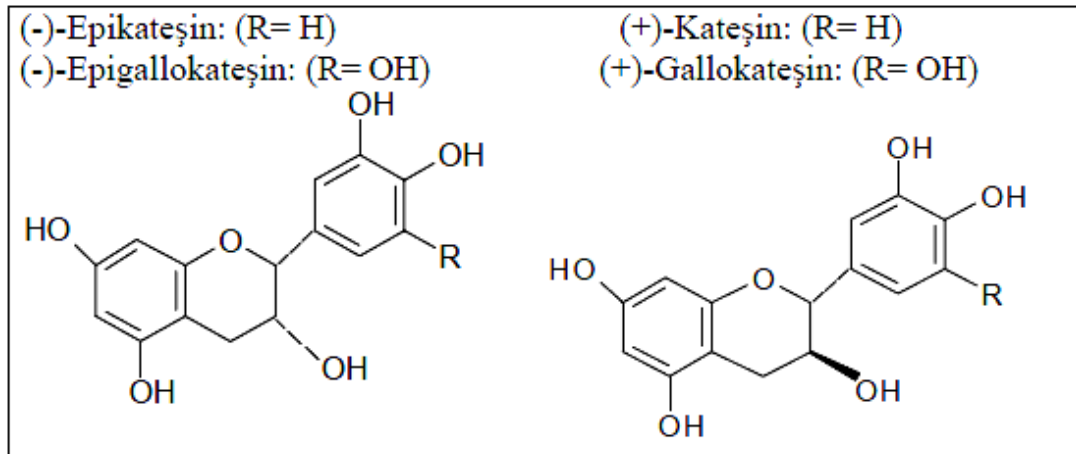
- Flavanoller (Kateşinler) (buruk lezzetli bileşikler)
- Flavonlar (açık sarı renkli pigmentler)
- Flavanonlar (bitter lezzetli bileşikler)
- İzoflavonoidler (İzoflavonlar) (fitoöstrojen bileşikler)
- Flavonoller (açık sarı renkli pigmentler)
- Antosiyanidinler (kırmızı – mavi renkli pigmentler)



Şekil 2.4. Flavonoidlerin genel yapısı (Shahidi & Nacz, 1995)

Flavanoller (Kateşinler)

Flavanoller (kateşinler) üçüncü karbon atomunda bir OH grubu içeren ve sistematik olarak flavon-3-ol olarak adlandırılan, meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Kimyasal ya da enzimatik olarak oksijen ile kondense olduklarında proantosiyanidinleri oluştururlar. Lökoantosiyanidinler de C₃ ve C₄ atomlarında OH grubu içerdiklerinden bu gruba dahil edilirler ve flavon-3,4-diol olarak adlandırılırlar. Bazı bilinen en temel kateşinler; (+)-kateşin, (-)- epikateşin, (+)-gallokateşin ve (-)- epigallokateşindir (Şekil 2.5) (Saldamlı, 2007; Belitz & Grosch, 1995). Manach ve ark.(2005) yaptıkları çalışmada en zengin flavanol kaynağı olarak kayısıyı (250 mg/kg) belirtmiştir. Ayrıca Jung ve Ellis (2001) yaptıkları çalışmada yeşil çayda 250 mg/L' nin üzerinde flavanol bulunduğunu belirtmiştir.

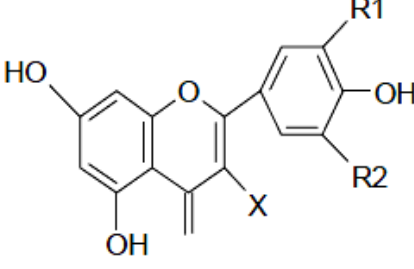


Şekil 2.5. Yaygın bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları (Shahidi & Naczki, 1995)

Flavonlar ve Flavanoller

Açık sarı renkli pigmentlerdir. Temel flavonoid molekülünde orta halkanın üçüncü karbonuna H atomu bağlanırsa flavon, OH atomu bağlanırsa flavanol oluşur.

Gıdalarda yaygın olarak glikozit halde bulunurlar. Flavonollerin başlıcaları; kamferol, kuersetin, mirisetin ve izoramnetindir (Belitz & Grosch, 1995; Balasundram ve ark. 2006). Manach ve ark. (2004) en zengin flavonol kaynağının soğan olduğunu (1.2 g/kg) ve bunu brokoli, marul, pırasa ve yaban mersininin izlediğini belirtmiştir. Flavonların bazıları ise; luteolin ve epigenindir. Bu bileşikler; buğday ve darıda ayrıca maydanoz ve kerevizde bulunmaktadır (Gharraş, 2009). Şekil 2.6’da flavonlar ve flavonollerin kimyasal yapıları ile en yaygın bulunanları verilmektedir.

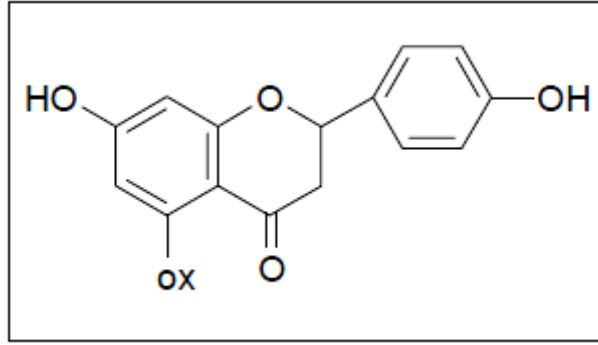
					
Flavonoller (X=OH)	R ₁	R ₂	Flavonlar (X=H)	R ₁	R ₂
Kamferol	H	H	Epigenin	H	H
Kuersetin	OH	H	Luteolin	OH	H
Mirisetin	OH	OH	Krisoeriol	OCH ₃	H
İzoramnetin	OCH ₃	H	Trisin	OCH ₃	OCH ₃

Şekil 2.6. Flavonoller ve flavonların kimyasal yapısı (Shahidi & Nacz, 1995)

Flavanonlar

Flavon ve flavonollerden farklı olarak temel flavonoid halkasının ortasındaki yapıda çift bağ içermezler (Şekil 2.7). Doğada genelde glikozit halde bulunurlar. Flavanon glikozitleri turunçgillerde yaygın olarak bulunur. Turunçgil sularındaki acımsı tattan sorumludurlar. En önemlileri; naringenin (greyfurt), hesperidin (portakal) ve

eriodisitol (limon) dur. Özellikle elma ve armutlarda bulunan dihidrokalkon yapısındaki bileşiklerden floretin ve floridzin gıda endüstrisinde tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır (Belitz & Grosch, 1995; Bilaloğlu & Harmandar, 1999; Saldamlı, 2007). Bir bardak portakal suyunda yaklaşık 40 – 140 mg flavanon glikozitlerinin bulunduğu ifade edilmektedir (Gharas, 2009).



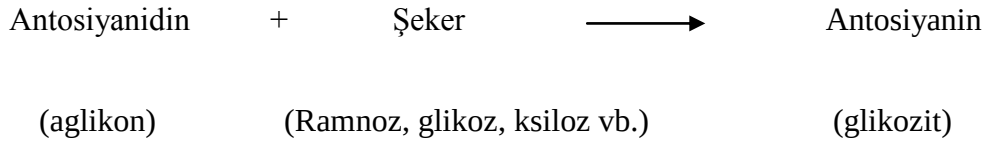
Şekil 2.7. Flavanonların kimyasal yapısı (Shahidi & Naczki, 1995)

İzoflavonoidler (İzoflavonlar)

İzoflavonoidler (İzoflavonlar) bazı meyve ve sebzelerde başta soya fasülyesinde yaygın olarak bulunmaktadır. Fitoöstrojen bileşiklerdir. Fitoöstrojenler bitkisel kaynaklı olup insan östrodiol hormonuna yapısal olarak benzerler ve östrojenik özelliklere sahiptirler. İzoflavonoidler, diğer flavonoidlerden, fenil halkası içermesinden ve kromoforun 3-fenilkromon türevi olarak bağlantı pozisyonunun farklı olmasından dolayı ayrılmaktadır. Genistin, daidzin ve glisitin soya fasülyesinde bulunan üç temel izoflavonoidin aglikon formudur (Belitz & Grosch, 1995; Saldamlı, 2007; Markakis, 1982).

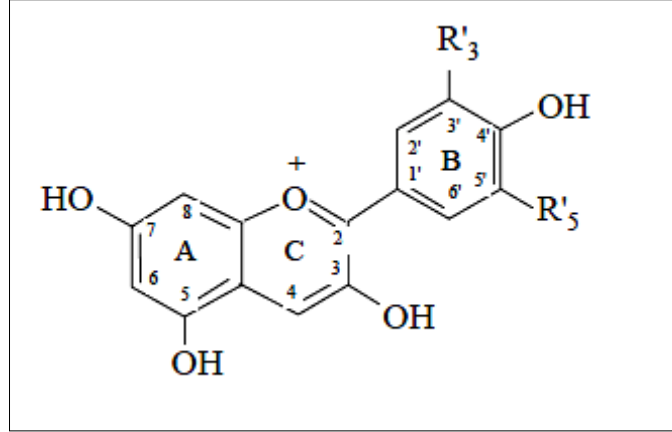
Antosiyanidinler

Antosiyanidinler, çeşitli bitkilerin yapısında genellikle antosiyanin adı verilen glikozit formunda bulunmaktadır. Ramnoz, glikoz, galaktoz, ksiloz ve arabinoz gibi bazı şekerler ile glikozit bağı yaparlar. Ayrıca, *p*-kumarik, kafeik ve ferrulik asit gibi asitlerle açillenebilirler (Castañeda-Ovando ve ark. 2009; Belitz & Grosch, 1995; Shipp & Abdel-Aal, 2010). Glikozit yapıdaki antosiyanin aglikon (antosiyanidin) yapıdakine kıyasla daha stabildir (Harborne & Williams, 2001).



Antosiyanin, Yunancada çiçek (anthos) ve mavi (kianos) kelimelerinin birleşmesiyle oluşmuş bir kavramdır. Bitkilerin meyve, çiçek, yaprak, kök gibi organlarında bulunur. Bitkilerin kendine özgü pembe, kırmızı, mor ve maviye kadar geniş bir aralıktaki rengini veren ve suda çözünen doğal pigmentlerdir (Castañeda-Ovando ve ark. 2009; Mazza & Miniati, 1993; Blando ve ark. 2004). Antosiyanin molekülündeki hidroksil grubu (-OH) sayısı arttıkça renk maviye, metoksil grubu (-OCH₃) sayısı arttıkça ise renk kırmızıya doğru dönmektedir. Bu nedenle renkteki kırmızılık siyanidinden peonidine doğru artmaktadır (Wrolstad ve ark. 2005; Belitz & Grosch, 1995).

Antosiyanidinlerin, dolayısıyla da antosiyaninlerin temel yapı yaşı flavilium (2-fenilbenzopirillium) katyonudur. Şekil 2.8’ de flavilium katyonunun kimyasal yapısı verilmiştir.

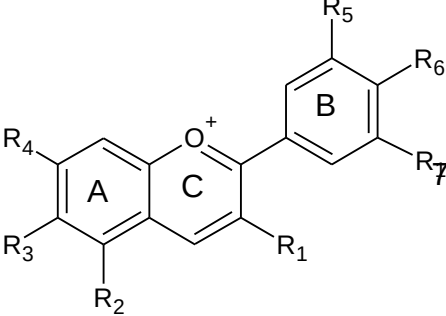


Şekil 2.8. Flavilium katyonunun kimyasal yapısı (Belitz & Grosch, 1995)

Flavilium katyonunun $C_6-C_3-C_6$ karbon iskeleti flavonoidler ile aynı olmasından dolayı, temel yapı taşı flavilium katyonu olan antosiyanidinler de flavonoid grubuna dâhil edilmiş fenolik bileşiklerdendir (Mazza & Miniati, 1993).

Doğada, 23 adet antosiyanidin bulunmasına karşılık; moleküldeki hidroksil grubu sayısına, hidroksil gruplarının metilasyon derecesine, moleküle bağlanan şeker sayısına ve şekerin bağlanma pozisyonuna, ayrıca moleküldeki şekerle bağlanan alifatik ve aromatik asitlerin yapısına ve sayısına bağlı olarak birbirinden farklı 500’ den fazla antosiyanin oluşmaktadır (Castañeda-Ovando ve ark. 2009). Genel olarak bitkilerde yaygın olarak rastlanılan 6 antosiyanidin; pelargodin (Pg), siyanidin (Cy), peonidin (Pn), delfinidin (Dp), petunidin (Pt) ve malvidin (Mv)’ dir. Meyve ve sebzelerde en yaygın bulunan antosiyanidin %50 oranı ile Cy’dir. Dp, Pg ve Pn %12, Pt ve Mv ise %7 oranında bulunmaktadır (Clifford, 2000). Bu antosiyanidinlerin

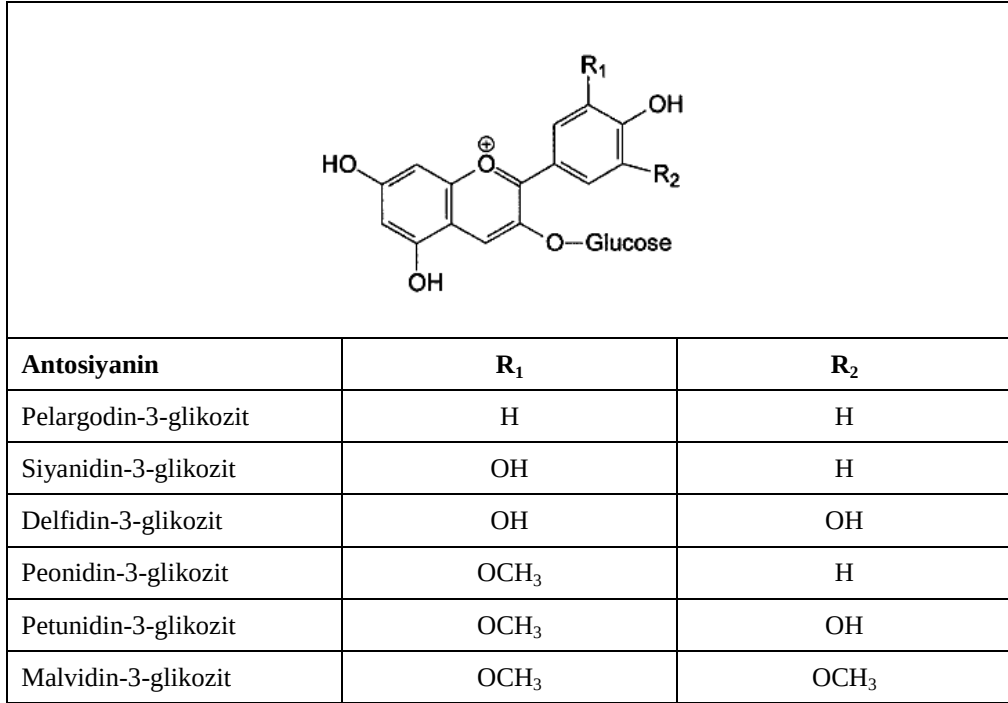
kimyasal yapısı ve yapıya bağlı grupları Şekil 2.9’da verilmiştir (Castañeda-Ovando ve ark. 2009).

								
Antosiyanidin	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Renk
Siyanidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Turuncu-kırmızı
Delfidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Mavi-kırmızı
Malvidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Mavi-kırmızı
Pelargodin	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Turuncu-somon
Peonidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	H	Turuncu-kırmızı
Petunidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Mavi-kırmızı

Şekil 2.9 Antosiyanidinlerin kimyasal yapıları (Castañeda-Ovando ve ark. 2009)

Antosiyaninler, içerdikleri şeker molekülü sayısına göre de sınıflandırılmaktadır. Tek şekerli antosiyaninler yalnızca 3. pozisyonunda tek bir şeker molekülü içerirken, çift şekerli antosiyaninler 3. veya 5., bazen de 3. veya 7. pozisyonlarında iki şeker molekülü içerirler. Üç şekerli antosiyaninler ise 3 adet şeker içerirler. Genellikle bunlardan iki tanesi 3. pozisyonunda, bir tanesi de 5. pozisyonundadır. Bazen 3 şeker doğrusal olarak 3. pozisyonunda olabildiği gibi, iki tanesi 3. pozisyonunda, bir tanesi ise 7. pozisyonunda da olabilmektedir (Belitz & Grosch, 1995; Clifford, 2000). Antosiyanidinlere en yaygın olarak bağlanan şeker glikozdur ve doğada en yaygın bulunan antosiyanin siyanidin-3-glikozittir. Glikozun bağlı olduğu bir antosiyaninin

molekülünden oluşan ve doğada yaygın olarak bulunan bazı antosiyanin türleri şekil 2.10’ da verilmiştir (Clifford, 2000).

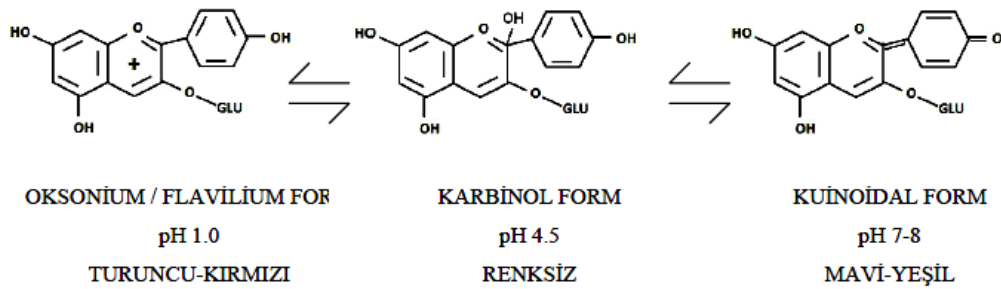


Şekil 2.10. Glikoz bağlı bir antosiyanin yapısı (Clifford, 2000)

Doğada yaygın olarak bulunan antosiyanin pigmentlerinin yapısı stabil değildir. Bunun nedeni, antosiyaninlerin yapı taşı olan flavylium katyonunun orta halkasının doymamış yapıda olmasıdır. Çeşitli prosesler ve ticari depolama koşullarında bazı dış etkiler nedeni ile antosiyaninler parçalanarak kendilerine özgü kırmızı-mavi renklerini kaybederler. Antosiyaninlerin stabilitesi üzerine birçok faktör etki etmektedir. Bunlar; sıcaklık, oksijeni pH, askorbik asit, hidrojen peroksit, enzimler, şeker ve parçalanma ürünleri, metal iyonları ve ışıktır (Castañeda-Ovando ve ark. 2009; Chaovanalikit & Wrolstad, 2003).

Antosiyaninlerin degradasyonuna neden olan en önemli faktör sıcaklıktır. Gıdaların (özellikle meyve suyu ve şarap gibi) işlenmesi sırasında uygulanan yüksek sıcaklık antosiyaninlerde parçalanmaya neden olmaktadır. Yapılan araştırmalar, sıcaklık artışı ile parçalanma hızı arasında doğrusal bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Antosiyaninlerin degradasyonuna neden olan diğer önemli bir etken ise ortamda bulunan oksijendir. Oksijen doğrudan parçalanmaya neden olabilir ya da diğer minör gıda bileşenlerini okside ederek oluşan oksidasyon ürünleri antosiyaninlerin parçalanmasına neden olabilir. Bu nedenle proses sırasında ortamdaki oksijen mümkün olduğunca uzaklaştırılmalıdır (Castañeda-Ovando ve ark. 2009).

Sulu ortamlarda antosiyaninlerin renk stabilitesi üzerinde pH önemli rol oynar. pH'nın antosiyaninlerin rengi üzerine etkisi şekil 2.11'de verilmiştir. Buradan da görüleceği gibi, düşük pH (< 2) değerlerinde ortamda turuncu-kırmızı renkli oksonyum iyonu baskınken, pH arttıkça (4-5) renksiz hemiketal form oluşmaktadır. Ortamın pH'ı 5'in üzerine çıktığında ise mavi-yeşil renkli kuinoidal form oluşur. pH'nın tekrar 8'in üzerine çıkması ile de ortamda renksiz hemiketal form oluşmaktadır (Cemeroğlu, 1982; Mazza & Miniati, 1993).



Şekil 2.11. Antosiyaninlerin pH'ya bağlı kimyasal yapıları ve renkleri (Mazza & Miniati, 1993)

Askorbik asit ve hidrojen peroksitin de antosiyaninlerin degradasyonuna neden olduğu birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir. Marti ve ark. (2001) yaptıkları bir çalışmada; nar sularına askorbik asit ilave edilmesi sonucu antosiyaninlerin degradasyonunun hızlandığını belirtmişlerdir. Zenginleştirme amacı ile ilave edilen askorbik asit 4 gün depolama sonunda hızla parçalanmış ve antosiyanin degradasyonuna neden olmuştur. Nikkhah ve ark. (2010) çilekten ekstrakte edilen antosiyanin pigmentlerine üç farklı konsantrasyonda askorbik asit ve hidrojen peroksit (H_2O_2) ilave ederek parçalanmaya olan etkilerini gözlemişlerdir. Sonuç olarak, H_2O_2 konsantrasyonunun artması ile antosiyanin degradasyonunun arttığı belirlenmiştir.

Antosiyaninlerin degradasyonuna neden olan başka bir etken de enzimlerdir. Glikozidaz, antosiyaninlerde bulunan glikozit bağlarına etki ederek antosiyaninleri şeker ve antosiyanidine parçalamaktadır. Antosiyanidinlerin stabilitesi antosiyaninlere göre daha düşüktür. Bu nedenle kısa sürede renksiz bileşiklere dönüşürler. Ayrıca, enzimatik esmerleşmeye neden olan polifenoloksidaz (PPO) ve peroksidaz enzimlerinin de dolaylı olarak antosiyaninlerin degradasyonuna neden olduğu belirtilmiştir (Castañeda-Ovando ve ark. 2009; Shipp & Abdel-Aal, 2010).

Ortamda bulunan metal iyonları ile antosiyaninler kompleks oluştururlar. Böylece daha stabil bir mavi-viole renk kazanırlar (Cemeroğlu ve ark. 1994). Bazı metal iyonları ise antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır. Bu özellikle kalay içeren konserve kutularında görülmektedir. Antosiyaninlerin parçalanması ile renksiz bileşikler oluşur (Shipp & Abdel-Aal, 2010; Wrolstad ve ark. 2005).

2.3 Antioksidanlar ve Antioksidan Aktivitenin Sağlık Açısından Önemi

Antioksidanlar; “oksidasyonu geciktiren ya da engelleyen bileşikler” olarak tanımlanırlar. Vitaminler (C ve E), karotenoidler ve fenolik bileşikler antioksidatif etkiye sahip en önemli gıda bileşenleridir. Yapılan birçok araştırmaya göre de meyve ve sebzelerin antioksidan aktiviteleri içerdikleri toplam antosiyanin ve fenolik madde miktarı ile doğrudan ilişkilidir (Karadeniz ve ark. 2005; Miller & Rice-Evans, 1997; Wang ve ark. 1996). Canlı metabolizmalarda oksidasyon gibi doğal kimyasal süreçler sonucu oluşan reaktif maddelere *serbest radikal* adı verilmektedir. Serbest radikaller lipid, protein ve nükleik asit gibi yapısal önem taşıyan moleküller üzerinde oksidatif etki gösterir. Bu etki sonucu hücresel yapı bozulmaları ve DNA yapısındaki biyokimyasal bileşiklerde bozulmalar meydana gelir. Bunun sonucu olarak da; kanser, kalp hastalıkları, eklem hastalıkları, katarakt, akciğer hastalıkları gibi birçok hastalık görülmektedir (Yıldız & Baysal, 2007; Rice-Evans ve ark. 1997; Velioglu ve ark. 1998). Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonları durdurarak, oksijeni ve metalleri bağlayarak oksidasyonun neden olduğu zararları önleyebilirler. Bitkisel kaynaklı antioksidanlar, serbest radikal gidericisi, peroksit parçalayıcısı, enzim inhibitörleri ve sinerjistler olarak görev yaparlar. Antioksidanlar serbest radikallerin neden olduğu zararlı etkileri, düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) ve lipoprotein oksidasyonunu önleyerek sağlık üzerinde olumlu etkiler oluştururlar. Fenolik bileşiklerin antialerjik, antienflamatuar, antidiyabetik, antimikrobiyal, antipatojenik, antiviral ve antirombotik etkiye sahip olduğu pek çok araştırma ile kanıtlanmıştır (Shipp & Abdel-Aal, 2010; Wrolstad ve ark. 2005; MacDougall, 2002).

Vişne fenoliklerinden özellikle antosiyaninlerin antioksidan aktivite göstermeleri nedeniyle, insan sinir hücrelerinin oksidatif stres sonucunda hasar görmesini engellediği kanıtlanmıştır (Kim ve ark. 2005). Aynı şekilde meyve ve sebze tüketiminin bireylerde mide kanserine yakalanma riskini azalttığı belirtilmiştir (Serafini ve ark. 2002; Velioglu ve ark. 1998).

Wang ve ark. (1996) yaptıkları bir çalışmada, oksijen radikali tutma kapasiteleri bakımından 12 meyve ve 5 ticari meyve suyunu incelemişlerdir. Bulgular, oksijen radikali tutma kapasitesi en yüksek meyvelerin çilek ve erik olduğunu ve bunları portakal ve siyah üzümün izlediğini göstermiştir. Meyve suları arasında ise en yüksek değerin üzüm suyuna ait olduğu belirtilmiştir. Yapılan bu çalışmada gözlenen etkinin meyve ve meyve sularının içerdiği flavonoidlerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Üzümsü meyvelerde bulunan fenolik bileşiklerden antosiyanin, kuersetin, kamferol, mirisetin ve ellagik asit antikanserojenik, antibakteriyal, antiviral ve antioksidan aktiviteye sahiptirler (Pehluvan & Güleriyüz, 2004; Shipp & Abdel-Aal, 2010). Genel olarak dut, çilek, böğürtlen, ahududu, frenk üzümü, bektaşi üzümü, yaban mersini, mürver meyvesi gibi türleri içeren meyvelerin antioksidan kapasiteleri oldukça yüksektir (Blando ve ark. 2004). Prottgente ve ark (2002) çilek, kırmızı erik ve ahududu ekstraktlarının yüksek antioksidan aktivitelerini yüksek düzeydeki fenolik bileşik içerikleri ile açıklamışlardır.

Nar suyunun delfinidin, siyanidin, pelargonidin gibi antosiyaninlerden ve pinikalin, ellagatinler ve ellagik asitten dolayı yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu bilinir. Bu antioksidan bileşiklerin; damar üzerindeki hasarı engelleme, prostat kanseri ve kireçlemeyi önleme, ishali durdurma, otooksidasyon zararlarına karşı hücreleri koruma, kandaki glikoz seviyesini koruma, hücrelerin birbirleriyle iletişimini sağlayan protein ve peptidlerin bir grubu olan stokinlerin oluşumunu destekleme, doğal tümörleri inhibe eden hücre kapasitelerinin artırma gibi önemli görevler yerine getirdiği bilinmektedir. Aynı zamanda AIDS ve iltihaplanmaya karşı etkili olduğu belirtilmektedir (Ekşi & Özhamamcı, 2009).

Antioksidan bileşiklerin özellikle de fenoliklerin kalp sağlığı üzerinde olumlu etki gösterdikleri belirtilmiştir. Örneğin; siyah çay, soğan ve elmadaki flavonoidlerin yüksek miktarlarda alınmasının yaşlılarda kalp hastalıklarına bağlı ölümleri azalttığı bildirilmiştir (Langseth, 1995). Biyo flavonoid olarak bilinen bu bileşiklerin kılcal damarları besleyici etkileri vardır. Bundan dolayı antioksidan içeriği zengin bir diyetle beslenen kişilerde kronik kalp hastalıklarının daha az görüldüğü belirtilmektedir.

Karadeniz ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada, farklı meyve (elma, ayva, üzüm, armut ve nar) ve sebzelerin (patates, soğan, taze soğan, kırmızı turp ve kırmızı lahana) antioksidan aktivitesini, toplam fenolik ve flavonoid içeriklerini belirlemişlerdir. Meyvelerden nar (% 62.7), en yüksek antioksidan aktiviteye sahip meyve olarak belirtilmiştir. Sebzelerden ise kırmızı lahananın (% 40.8) en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Meyvelerin fenolik madde içeriği 326- 4306 mg kateşin/kg, flavonoid içeriği ise 282-2115 mg kateşin /kg arasında değişmektedir.

Sebzelerde ise fenolik madde içeriği 536-2166 mg kateşin/kg, flavonoid içeriği 153-842 mg kateşin/kg olarak değişmektedir. Meyve ve sebzelerde toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivite arasında önemli bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir.

Vişne antosiyaninlerinin ve siyanidinlerinin tümör oluşumunu ve kolon kanseri hücrelerinin gelişmesini engelleme potansiyelinin belirlenmesi için Kang ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, Apc^{min} farelerin günlük diyetine vişneden izole edilen 3-siyanidin-2-O- β -Dglukopiranozil-6-O- α -L-, ramnopiranozil- β -D-glukopiranozit ve 3-siyanidin-6-O- α -Lramnopiranozil-, β -D-glukopiranozit antosiyaninleri ve siyanidin aglikonu eklemiştir. Araştırma sonunda, antosiyaninler ve antosiyanidinlerin insan kolon kanseri hücrelerinin büyümesini engellediği görülmüş ve buna dayanılarak günlük diyetle tüketilen vişnenin kolon kanseri riskini azaltabileceği bildirilmiştir.

Diğer bir araştırmada ise vişne suyu antosiyaninlerinin tip 2 diyabet hastalarının beslenmesine yönelik etkileri incelenmiştir. Antaie-Jafari ve ark. (2008), yaptıkları araştırmada; 19 diyabet hastası kadına 6 hafta boyunca günde 40 g vişne suyu konsantresi vermişlerdir. Hastaların kan basınçlarının, vücut ağırlıklarının, hemoglobin A1C' nin (HbA1cv) ve toplam kolesterol değerlerinin önemli oranda azaldığı belirlenmiştir. Bunun sonucunda ise, vişne suyunun diyabet hastalarının diyeti için uygun olduğu belirtilmiştir.

Yukarıdaki çalışmalarda da belirtildiği gibi antioksidan bileşikler özellikle de fenolik bileşikler doğal antioksidan olarak sağlık üzerinde birçok olumlu etki göstermektedir. Sağlık açısından olumlu etkilerinin yanı sıra, meyve ve sebzelerde

tat, görünüş ve renk üzerine de önemli etkileri bulunmaktadır. Tüm bu olumlu etkiler göz önüne alındığında bu doğal bileşenler insan yaşamının önemli bileşenleri olarak değerlendirilmektedir. Bu önemli bileşenlerin doğal yollarla karşılanması ve bu doğal yolların geliştirilmesi için de yeni teknolojilere gereksinim duyulmaktadır.

2.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli ilk kez, pediatrist ve bakteriyolog olan Theodore Escherich tarafından 1885 yılında, bebek dışkıсында keşfedilmiştir. İlk adı *Bacterium coli commune* olmasına rağmen, daha sonra *Escherichia coli* adını almıştır. Günümüzde üzerinde sıkça çalışılan ve genetik yapısı iyi bilinen bir mikroorganizmadır. *E. coli* normal olarak bağırsak florasına ait, koliform bakteriler grubunda yer alır. Spor oluşturmayan, 35°C’ de ve 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturabilen Gram negatif bir bakteridir. Biyolojik sınıflandırmada ise bağırsaklarda yaşayan bakterilerden oluşan enterik bakteriler familyasında yer alır. Çubuk şeklinde olan bakteri 1-2 µm uzunluğunda ve 0.1-0.5 µm çapındadır. *E. coli*’nin doğada bulunduğu tek yer sıcakkanlı hayvanlar olarak bilinen memeli ve kanatlı hayvanların bağırsak sistemleri ve dolayısıyla bunların dışkılarıdır. *E. coli*’nin bağırsak florasından dışkı yoluyla atılması ile gıdalara ve sulara bulaşması fekal kontaminasyon göstergesidir. Bu olay; çeşitli diyareler, yara enfeksiyonları, menenjit, sepsis, hemolitik üremik sendromu (HUS) ve çeşitli immünolojik hastalıklara neden olmaktadır. Bu nedenle gıdalarda ve içme sularında bulunması istenmez ve analizi yapılır.

1950’li yılların sonunda *E. coli*’ye olan bakış önemli ölçüde değişmiştir. Bunun nedeni ise ölüme kadar giden çeşitli vakalar ile karşılaşılmasıdır. *E. coli* türü içinde farklı özelliklere sahip olan “serotip” olarak adlandırılan çeşitli tipler vardır. Bu çeşitlilik, genelde bakterilerin yaşadıkları ortamlarda geçirdikleri mutasyonlardan kaynaklı olsa bile, büyük kısmının başka bakterilerin genlerinin karışmasından meydana geldiği savunulur. Günümüzde en tehlikeli serotipi O157:H7 olarak bilinmektedir. Bu suşun taşıdığı Şiga toksini geni, *E. coli*’ye *Shigella*’dan geçmiştir. *E. coli* O157:H7 serotipi bilinen en önemli gıda kaynaklı patojenler arasında yer almaktadır (Halkman ve ark. 1996; Tarr, 1995; Noveir ve ark. 2002; Anonymous, 2005). Bakterinin 7-10°C’lerden 50°C’lere kadar geniş bir aralıkta gelişebildiği ve optimum üreme sıcaklığının 37°C olduğu bilinmektedir. Ayrıca pH 4.4’ün altındaki gıdalarda ve 0.95’in altındaki su aktivitesi değerinde canlılığını sürdürdüğü belirlenmiştir (Guraya ve ark. 1998).

E.coli O157:H7 ilk olarak 1982 yılında ABD’de 47 vakada kanlı ishal şeklindeki salgın ile görülmüştür. Bu salgında yeterli ısıtma işlem görmemiş köfteli sandviçlerin yenilmesi ile hastalığın olduğu belirlenmiştir. Buna benzer vakalara Kanada, İngiltere, Meksika, Çin, Arjantin ve Belçika gibi ülkelerde de rastlanılmıştır. 1996 yılında Japonya’da 17 kişinin salgından ölmesi ile dikkatler bu patojen üzerinde yoğunlaşmıştır (Noveir ve ark. 2002; Halkman ve ark. 1996).

Patojen bakteri normal yaşama alanında yani bağırsak florasında hastalık oluşturmamaktadır. Ancak dışkı ile atılması sonucunda ortam değiştirmesi bazı hastalıklara yol açar. Bu hastalıkların başlıcaları; ishal, idrar yolu enfeksiyonları ve menenjit olarak sayılabilir. *E.coli* serolojik olarak içinde barındırdığı üç yüzey

antijeni (O, H, K) ile belirlenmektedir. Toplam 167 O, 53 H ve 74 K antijeni içerir. İshale yol aşan *E.coli* serotipinin belirlenmesi için O ve H antijenlerine bakılır. İshale yol açan *E.coli* serotipleri virülans özellikleri, patojenik mekanizmaları, klinik sendromları ve farklı O:H antijenlerine göre farklı gruplara ayrılmaktadır. Bunlar;

- Enteropatojenik *E.coli* (EPEC)
- Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC)
- Enteroinvazif *E.coli* (EIEC)
- Diffuse-adhering *E.coli* (DAEC)
- Enteroagregatif *E.coli* (EAEC)
- Enterohemorajik *E.coli* (EHEC) dir.

Uropatojenik *E.coli* (UPEC) ise idrar yolu enfeksiyonlarının % 90'ını oluşturan türdür. Bu *E.coli* tipleri idrar yolu epitelyum hücrelerine özellikle bağlanabilen fimbriumlara sahiptirler. Dışkıdan gelen bakteriler üretrayı tırmanarak mesaneye ulaşırlarsa mesane enfeksiyonuna neden olurlar. Buna sistit adı verilir. Tedavi edilmezse böbrek yangısına dönüşür (Tarr, 1995).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Analizler için vişne suları, preslendikten sonra pastörizasyon öncesi aşamada Dimes A.Ş.'den aseptik ambalajlarda temin edilmiş ve ultrasonikasyon işlemine kadar -18 °C'de depolanmıştır.

3.2 Deney Tasarımının Oluşturulması

Ultrasonikasyon sırasında kullanılan parametrelerin vişne suyunun bazı kalite özelliklerine etkilerini belirleyebilmek için yanıt yüzey yönteminden yararlanılarak Merkezi Karma Tasarım (Central Composite Design) yöntemine göre deney tasarımı oluşturulmuştur. Bu amaçla; Design Expert 9 (Statease In., Minneapolis, ABD) programı kullanılmıştır. Deney tasarımı, -1, 0, +1 olarak 3 düzeyde ve merkez noktasında 2 tekrar olacak şekilde yapılmıştır. Deney sayısı aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Sıcaklık (20°C, 30°C, 40°C), dalga genliği (% 50, % 75, % 100) ve süre (2, 6, 10 dakika); ultrasonikasyon parametreleri olarak seçilmiştir. Tasarımdaki deney sayısı ile deney koşulları Çizelge 1'de verilmiştir.

$$\text{Deney sayısı: } 2^k + 2k + 2$$

k: bağımsız değişken sayısı

2: merkezdeki tekrar sayısı

Çizelge 3.1 Yanıt yüzey metodu ultrasonikasyon uygulaması sıcaklık, genlik ve süre değerleri

	Sıcaklık (°C)	Genlik (%)	Süre (dk)
---	20	50	2
--+	20	50	10
-+-	20	100	2
+++	20	100	10
+--	40	50	2
+ - +	40	50	10
++-	40	100	2
+++	40	100	10
a00	20	75	6
A00	40	75	6
0a0	30	50	6
0A0	30	100	6
00a	30	75	2
00A	30	75	10
0	30	75	6
0	30	75	6

Bu araştırmada; vişne suyunun ultrasonikasyonu, ultrasonik homojenizatör (Bandelin–GM 3200, Berlin, Germany) kullanılarak yürütülmüştür. Deney tasarımında belirlenen sürelerde alınan ve çeşme suyu altında soğutulan örneklerde, suda çözünür kuru madde ($^{\circ}\text{Bx}$), pH değeri, titrasyon asitliği, görsel renk değerleri, toplam monomerik antosiyanin, polimerik renk, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde gibi fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır. Ayrıca, ultrasonikasyonun

vişne suyu mikrobiyal yüküne etkisinin belirlenmesi için de *Escherichia coli* O157:H7 sayımı yapılmıştır.

3.3 Yöntem

3.3.1 Suda Çözünür Kuru Madde (°Bx) Tayini

Örneklerin °Bx değerleri, el tipi dijital (Atago, PAL-3, Tokyo, Japan) refraktometre kullanılarak 20°C’ de ölçülmüştür (Anonymous, 1991).

3.3.2 pH Değeri Tayini

Örneklerin pH değerleri, pH-metre (Schott Instruments Lab870, Belgium) ile 20°C’de ölçülmüştür.

3.3.3 Titrasyon Asitliği Tayini

Örneklerde titrasyon asitliği, pH metre ile potansiyometrik olarak saptanmıştır (IFU, 1968). Bu amaçla 5 mL vişne suyu örneği, üzerine 15 mL saf su ilave edilerek 0.1 N NaOH çözeltisi ile pH 8.1’e kadar titre edilmiştir. Titrasyon asitliği, malik asit cinsinden “g malik asit/100 mL” olarak hesaplanmıştır.

3.3.4 Görsel Renk Değerleri Tayini

Örneklerin renk değerleri (L*, a*, b*, C ve h), CIE (International Commission on Illumination) renk ölçüm sistemine göre Minolta CR-400 (Osaka, Japan) reflektans

kolorimetresi kullanılarak doğrudan ölçülmüştür. Ölçümden önce cihaz beyaz plakaya karşı kalibre edilmiştir. L*:aydınlık, a*: + ise kırmızı, - ise yeşil, b*: + ise sarı, - ise mavi koordinatlarını göstermektedir. C (chroma) renk yoğunluğunu, h (hue) ise renk tonunu ifade etmektedir (Ekşi & Özhamamcı, 2009; Belitz & Grosch, 1995).

3.3.5 Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini

Toplam monomerik antosiyanin tayini için, Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından önerilen pH-diferansiyel yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemin ilkesi, monomerik antosiyaninlerin pH'ya bağlı olarak renk değiştirmesine dayanmaktadır. Bu pigmentler, pH 1.0' da renkli oksonium formunda, pH 4.5' da ise renksiz hemiketal formunda bulunmaktadırlar. Bu amaçla; pH 1.0 ve pH 4.5 tampon çözeltileri ile seyreltilen örneklerin absorbens ölçümleri, 514 nm ve 700 nm dalga boylarında okunmuştur. 514 nm dalga boyu, spektrum taramasında maksimum absorbensin gözlemlendiği dalga boyudur. 700 nm ise örnekteki bulanıklığın ölçümü için kullanılmaktadır. pH 1.0 ve pH 4.5'a seyreltilmiş örneklerin spektrofotometrede ölçülen absorbens değerleri arasındaki fark, örneğin içerdiği monomerik antosiyanin miktarı ile doğru orantılı olarak değişmektedir. 0.1 mL alınarak tampon çözeltiler ile 10 mL'ye seyreltilen örneklerin absorbens ölçümleri, UV-1800 model spektrofotometre (Shimadzu, Japonya) kullanılarak saf suya karşı yapılmıştır.

Örneklerdeki toplam monomerik antosiyanin miktarı vişnedeki başlıca antosiyanin olan siyanidin – 3 – rutinozit cinsinden aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam monomerik antosiyanin (mg/L)} = \frac{\Delta A \cdot MW \cdot S_f}{\epsilon \cdot L} \times 1000$$

$$\Delta A (\text{absorbans}) = (A_{514\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{514\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}$$

A_{514} : 514 nm dalga boyundaki maksimum absorbans değeri

A_{700} : 700 nm dalga boyundaki absorbans değeri

MW : Siyanidin-3- rutinozitin molekül ağırlığı (595.2 g/mol)

ϵ : Molar absorbans katsayısı (28800 L /mol.cm)

S_f : Dilisyon faktörü

l : Spektrofotometre küvetinin ışık yolu (1 cm)

3.3.6 Polimer Renk, Renk Yoğunluğu ve Polimer Renk Yüzdesi Değerlerinin Hesaplanması

Ultrasonikasyon uygulanan vişne suyunda polimer renk, renk yoğunluğu ve renk yüzdesi değerlerinin belirlenmesinde Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Polimer rengin ölçülmesinde, vişne suyu gibi koyu renkli meyve sularındaki işlem sıcaklığı ve depolama süresi gibi faktörlerin etkisi ile polimerize olan antosiyaninlerin bisülfid çözeltisi ile renksiz bileşik oluşturması esas alınmaktadır. Renk yoğunluğu; bisülfid uygulanmamış, yalnızca saf su eklenerek hazırlanmış örneğin absorbans ölçümünü göstermektedir. Renk yüzdesi ise polimerik rengin renk yoğunluğuna oranlanması ile hesaplanmaktadır. Bu parametrelere ilişkin hesaplamalar aşağıda görülmektedir. Bu amaçla; seyreltilen vişne suyundan 2.8' er mL alınarak iki deney tüpüne aktarılmaktadır. Birinci deney tüpü üzerine 0.2 mL bisülfid çözeltisi, diğerinin üzerine ise 0.2 mL saf su ilave edilmektedir. Hazırlanan örneklerin absorbans ölçümleri, 15 dakikadan sonra fakat

45 dakikayı geçmeyecek süre içerisinde sırasıyla 420 nm, $\lambda_{vis-max}$ (514 nm) ve 700 nm dalga boylarında saf suya karşı yapılmaktadır. Örneklerin seyreltilmesinde toplam monomerik antosiyanin tayininde belirlenen seyreltme oranı dikkate alınmıştır.

Renk Yoğunluğu: Bisülfite uygulanmamış küvetteki örneğin, $\lambda_{vis-max}$ (514 nm) ve 420 nm dalga boylarındaki absorbanlarının toplamıdır ve aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmaktadır.

$$\text{Renk Yoğunluğu} = [(A_{514} - A_{700}) + (A_{420} - A_{700})] (Sf)$$

Polimerik Renk: Bisülfite uygulanmış küvetteki örneğin, $\lambda_{vis-max}$ (514 nm) ve 420 nm dalga boylarındaki absorbanlarının toplamıdır ve aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır.

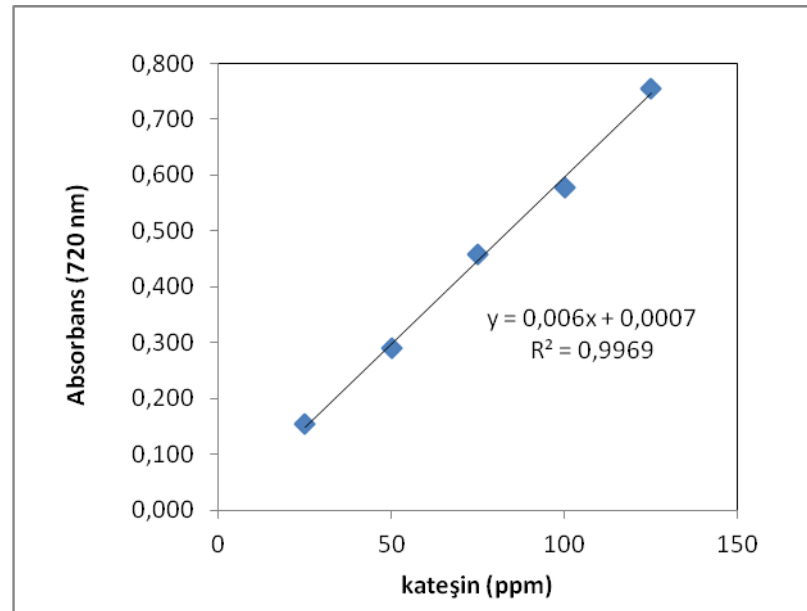
$$\text{Polimerik Renk} = [(A_{514} - A_{700}) + (A_{420} - A_{700})] (Sf)$$

Polimerik Renk Yüzdesi: Ürünün renginin % kaçının polimerize olmuş bileşiklerden kaynaklandığını gösteren polimer renk yüzdesi, aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır.

$$\text{Polimerik Renk Yüzdesi} = \frac{\text{Polimerik Renk}}{\text{Renk Yoğunluğu}} \times 100$$

3.3.7 Toplam Fenolik Madde Tayini

Örneklerde toplam fenolik madde miktarı, Singleton and Rossi (1965) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Folin-Ciocalteu yönteminin ilkesi; fenolik bileşiklerin bazik ortamda folin-ciocalteu çözeltisini indirgemesine dayanmaktadır. Bu amaçla, 500 µL seyreltilen vişne suyu, 7 mL saf su ve 500 µL folin-ciocalteu çözeltisi ile karıştırılıp 3 dakika bekletilmektedir. Süre sonunda üzerine 2 mL doymuş sodyum karbonat (%20) ilave edildikten sonra 25°C’ de 1 saat inkübatörde bekletilmektedir. Reaksiyon sonunda indirgenen folin-ciocalteu çözeltisinin oluşturduğu mavi renk, spektrofotometrede 720 nm dalga boyunda havaya karşı okunmaktadır. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı, mg kateşin eşdeğeri/mL olarak hesaplanmaktadır. Kateşin standart eğrisi Şekil 3.1’de verilmiştir.

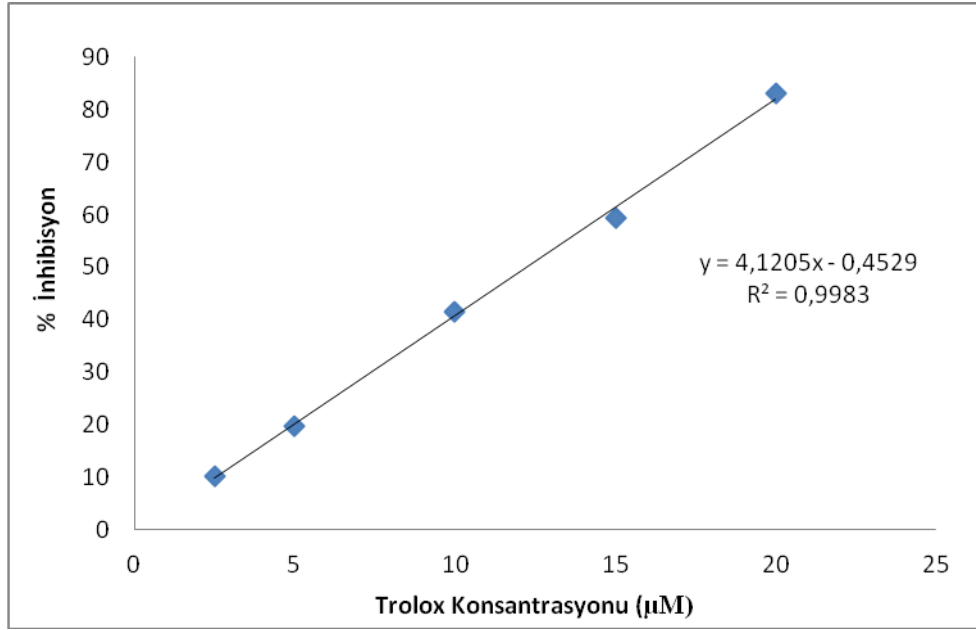


Şekil 3.1. Kateşin standart eğrisi

3.3.8 Antioksidan Aktivite Tayini

Antioksidan aktivite tayininde, Miller ve Rice-Evens (1977) ile Arts ve ark. (2001) tarafından önerilen TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) dekolizasyon (renksizleşme) yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde; ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ve potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) arasında gerçekleşen reaksiyon sonucu mavi-yeşil renkli $ABTS^{\cdot+}$ radikal katyonu oluşturulmaktadır. Bu radikal çözelti üzerine antioksidan içeren bir örnek eklendiğinde indirgenen radikalın mavi-yeşil rengi kaybolmaktadır. Renkteki değişim, 734 nm dalga boyunda absorban ölçümü ile belirlenmektedir. Bu amaçla; örnek (30 μ L) ve troloks (10 μ L), 1 mL $ABTS^{\cdot+}$ radikal çözeltisi ile karıştırıldıktan sonra 6 dakika boyunca radikalın absorban değerindeki azalma ölçülmektedir. Şahit olarak etil alkol kullanılmaktadır. Örneğin antioksidan aktivitesi, troloksun (6-hidroksi-2,5,7,8,-tetrametil kroman-2-karboksilik asit) $ABTS^{\cdot+}$ radikalini indirgeme özelliğine göre hesaplanmaktadır. Troloksa ilişkin % inhibisyon grafiği Şekil 3.2’te görülmektedir. % inhibisyon değeri, aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır.

$$\text{İnhibisyon oranı (\%)} = \frac{\text{Başlangıç absorban değeri} - \text{Son absorban değeri}}{\text{Başlangıç absorban değeri}} \times 100$$



Şekil 3.2. Troloks standart eğrisi

Örneklerin antioksidan aktivitesi, “mmol troloks/L” cinsinden hesaplanmaktadır.

3.3.9 *Escherichia coli* O157:H7 sayımı

Ultrasonikasyonun, vişne suyuna inokülasyonu yapılan *E. coli* O157:H7 üzerine etkisini belirlemek için Sorbitol Mac Conkey (SMAC) Agar besiyeri, CT (Sefiksim–Tellürit) katkısı ile desteklenerek kullanılmıştır. Dehidre besiyeri, 51.5 g/L konsantrasyonda damıtık su içinde eritilip otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrasında CT katkısı ilave edilen besiyeri, petri kutularına 12.5 mL/petri olacak şekilde dökülmüştür. Hazırlanan besiyeri berrak ve kırmızı renklidir. Ultrasonikasyon uygulandıktan sonra, FTS kullanılarak örneklerin seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 100’er µL alınarak CT–SMAC besiyeri bulunan petri kaplarına yayma kültür yöntemine göre aktarılmıştır. Ekimi tamamlanan petri kapları, ters çevrilerek 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Süre sonunda koloniler sayılarak *E. coli* O157:H7 miktarı, kob/mL olarak aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Bakteri Sayısı } \left(\frac{\text{kob}}{\text{mL}} \right) = \frac{A \times S_f}{V}$$

A: koloni sayısı, S_f : seyreltme faktörü, V: pipetlenen hacim

***Escherichia coli* O157:H7 Stok Kültürünün Hazırlanması**

Bakterinin aktif hale getirilmesi için bir gün öncesinden stok olarak hazırlanmış buzdolabındaki yatık agarlardaki kültürler, CASO (Tryptic Soy) Broth'a ekilerek 35°C'de 18–24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Aktifleştirilen kültür, ultrasonikasyon öncesinde vişne suyuna $10^7 - 10^8$ oranında inoküle edilmiştir.

3.3.10 İstatistiksel Analiz

Yanıt yüzey yöntemine (Response Surface Methodology) göre, merkezi karma tasarım (Central Composite Design) modeli esas alınarak deneme, iki tekerrürlü yürütülmüştür. Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresi olmak üzere üç faktörün etkisi incelenmiştir. Her faktörün 3 seviyesinin dikkate alındığı bu tasarımda, iki merkez nokta ile birlikte 16 deneme noktası oluşturulmuştur (Çizelge 3.1). İki tekerrür şeklinde yürütülmüştür. Oluşturulan bu tasarıma ait sonuçlar Design Expert 9 paket programı kullanılarak modellenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Deneylerde kullanılan pastörize edilmemiş meyve suyu örneklerine ultrasonikasyon işlemi uygulanmadan önce; suda çözünür kuru madde ($^{\circ}\text{Bx}$), pH değeri, titrasyon asitliği, görsel renk değerleri, toplam monomerik antosiyanin, polimerik renk, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde gibi fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır. Bu analizlere ilişkin değerler Çizelge 4.1 'de verilmektedir.

Çizelge 4.1 Deneylerde kullanılan vişne suyunun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Suda çözünür kuru madde ($^{\circ}\text{Bx}$)	17.4
pH	3.106
Titrasyon asitliği (g/100mL)	8.473
L*	19.66
a*	7.79
b*	2.90
C	8.41
h	20.84
Toplam monomerik antosiyanin (mg/L)	972
Polimerik renk (%)	36
Toplam fenolik madde (mg/100 mL)	435
Antioksidan aktivite (mmol Troloks/L)	39.1

Ayrıca deneylerde kullanılan vişne suyu örneklerinde *E.coli* O157:H7 olmadığı belirlenmiştir.

4.1 Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyunda suda çözünür kuru madde (°Bx), pH değeri ve toplam asitlik miktarına etkisi

Vişne suyuna uygulanan ultrasonikasyon işleminin °Bx, pH ve titrasyon asitliğine önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda da ultrasonikasyonun pH ve °Bx değeri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı rapor edilmektedir (Kuldiloke, 2002; Tiwari et al., 2008; Alighourchi et al., 2013). Farklı sıcaklık, dalga genliği ve sürede ultrasonikasyon uygulanan vişne suyu örneklerinin °Bx, pH ve titrasyon asitliği değerleri Çizelge 4.2’de verilmektedir.

Çizelge 4.2 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasoniksasyon sonrasında vişne suyunda °Bx, pH ve titrasyon asitliği değerleri

	Sıcaklık (°C)	Genlik (%)	Süre (dk.)	°Bx	pH	Titraston Asitliği (g/100 mL)
1	40	100	10	17.3	3.104	8.410
2	30	75	6	17.2	3.100	8.598
3	40	75	6	17.2	3.102	8.410
4	20	100	10	17.2	3.058	8.567
5	30	75	10	17.3	3.105	8.598
6	40	100	2	17.1	3.104	8.535
7	30	75	6	17.1	3.103	8.473
8	20	75	6	16.9	3.081	8.473
9	40	50	2	17	3.104	8.567
10	30	100	6	17.3	3.097	8.284
11	30	50	6	17.3	3.097	8.598
12	20	50	2	17.1	3.078	8.786
13	40	50	10	17	3.105	8.661
14	20	100	2	17.3	3.060	8.786
15	20	50	10	17.3	3.069	8.567
16	30	75	2	17.1	3.078	8.630

4.2 Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyunda görsel renk değerlerine (L^* , a^* , b^* , C ve h) etkisi

Farklı sıcaklık, genlik ve sürede uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunun görsel renk değerleri (L^* , a^* , b^* , C, h) Çizelge 4.3’de verilmektedir. Bulgulara göre; L^* değeri 18.74–19.62 arasında, a^* değeri 7.34–8.42 arasında, b^* değeri 2.20–3.04 arasında, C değeri 7.75–8.96 arasında ve h değeri ise 19.92–20.91 arasında değişmektedir.

Çizelge 4.3 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasoniksasyon sonrasında vişne suyunda görsel renk değerleri

	Sıcaklık ($^{\circ}$ C)	Genlik (%)	Süre (dk.)	L^*	a^*	b^*	C	h
1	40	100	2	19.33	7.50	2.80	8.01	20.91
2	20	100	10	18.74	8.27	2.89	8.77	19.92
3	20	50	2	19.46	7.85	2.73	8.31	19.97
4	30	75	6	19.54	8.17	2.98	8.70	20.66
5	30	75	6	19.62	8.17	2.97	8.70	20.61
6	40	50	2	19.4	7.73	2.81	8.23	20.55
7	40	100	10	19.54	8.10	2.93	8.62	20.30
8	40	50	10	18.86	7.67	2.83	8.18	20.88
9	20	75	6	19.44	7.52	2.64	7.97	19.94
10	20	100	2	19.36	7.85	2.78	8.33	19.95
11	30	75	10	18.88	8.42	3.04	8.96	20.42
12	30	50	6	19.47	8.09	2.93	8.61	20.63
13	30	75	2	19.45	8.08	2.92	8.60	20.45
14	40	75	6	19.45	7.58	2.79	8.11	20.86
15	30	100	6	19.5	7.96	2.88	8.47	20.75
16	20	50	10	18.98	7.34	2.20	7.75	20.46

Sıcaklık, ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresi gibi parametrelerin vişne suyunda L, a*, b*, C ve h değerlerine etkisi yanıt yüzey yöntemi ile modellenmiştir. Vişne suyundaki L* değerinin değişiminin karesel modele uygunluk gösterdiği ve bu modelin istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05; Çizelge 4.4). Determinasyon katsayısı (R²) 0.873 olan karesel modele ilişkin eşitlik aşağıda görülmektedir. Modele ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.4’de görülmektedir.

$$L = 19.50 + 0.060X + 0.030Y - 0.020Z + 0.12XY + 0.096XZ + 0.076YZ - 0.022X^2 + 0.018Y^2 - 0.30Z^2$$

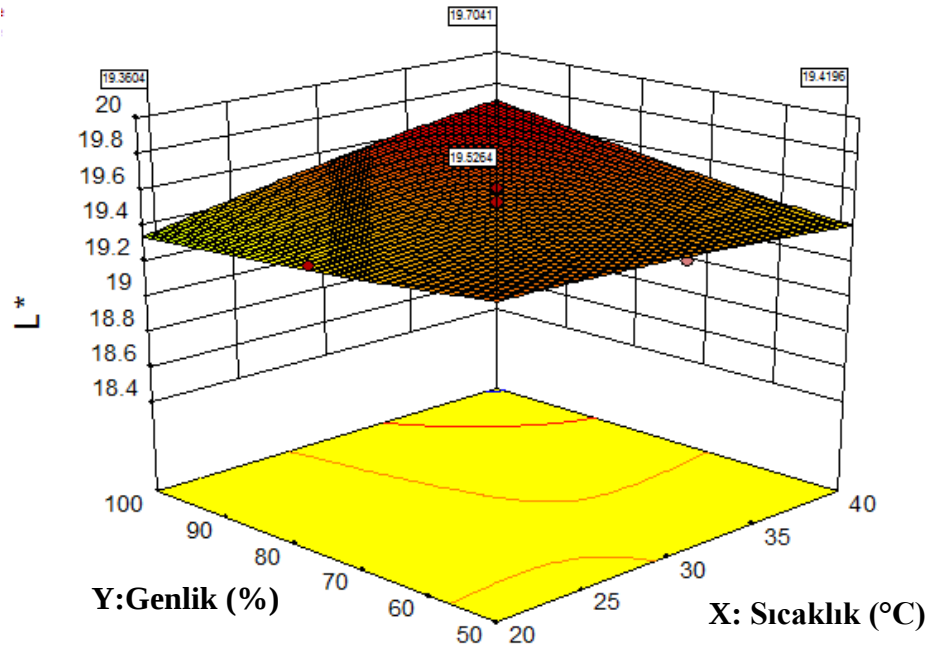
Çizelge 4.4 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyu L* değerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynağı	S.D.	K.O.	F	R ²
Model	9	0.11	4.58*	0.873
X-Sıcaklık	1	0.036	1.45	
Y-Genlik	1	0.009	0.36	
Z-Süre	1	0.40	16.10**	
XY	1	0.11	4.54	
XZ	1	0.074	2.98	
YZ	1	0.047	1.87	
X ²	1	0.00124	0.050	
Y ²	1	0.000881	0.035	
Z ²	1	0.24	9.66	
Uyum eksikliği	5	0.029	9.12	
Hata	1	0.0032		
Genel	15			

*P<0.05, **P<0.01

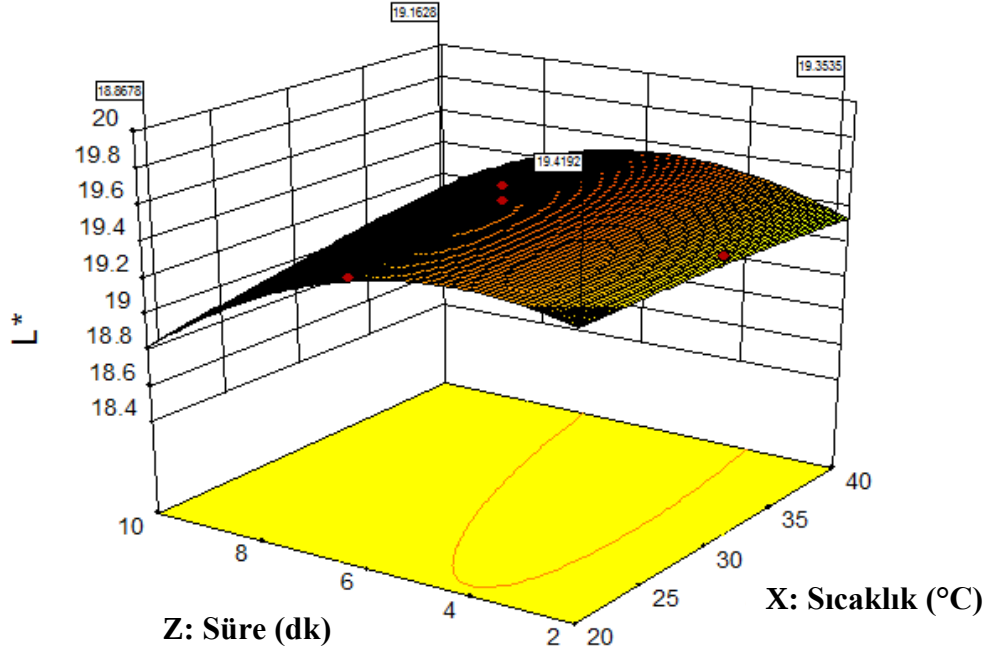
Ultrasonikasyon uygulama süresinin vişne suyunda L^* değerine önemli düzeyde etki ettiği ($P<0.01$) Çizelge 4.4'den görülmektedir. Buna karşın; ortam sıcaklığı ve ultrasonik dalga genliğinin L^* değeri üzerine lineer etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$) (Şekil 4.1). Knorr ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada termosonikasyonun portakal suyunda a^* ve b^* değerlerine etki etmediğini, L^* değerinde ise artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu artışın ultrasonikasyonun PPO enzim aktivitesini düşürerek enzimatik esmerleşmeyi engellemesi ve homojenizasyonu sağlamış olmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmektedirler.

Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığı etkileşiminin sabit sürede vişne suyunda L^* değerine etkisi Şekil 4.1'de gösterilmektedir. Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığı etkileşiminin vişne suyunda L^* değerine lineer etkisinin önemli olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$; Çizelge 4.4).



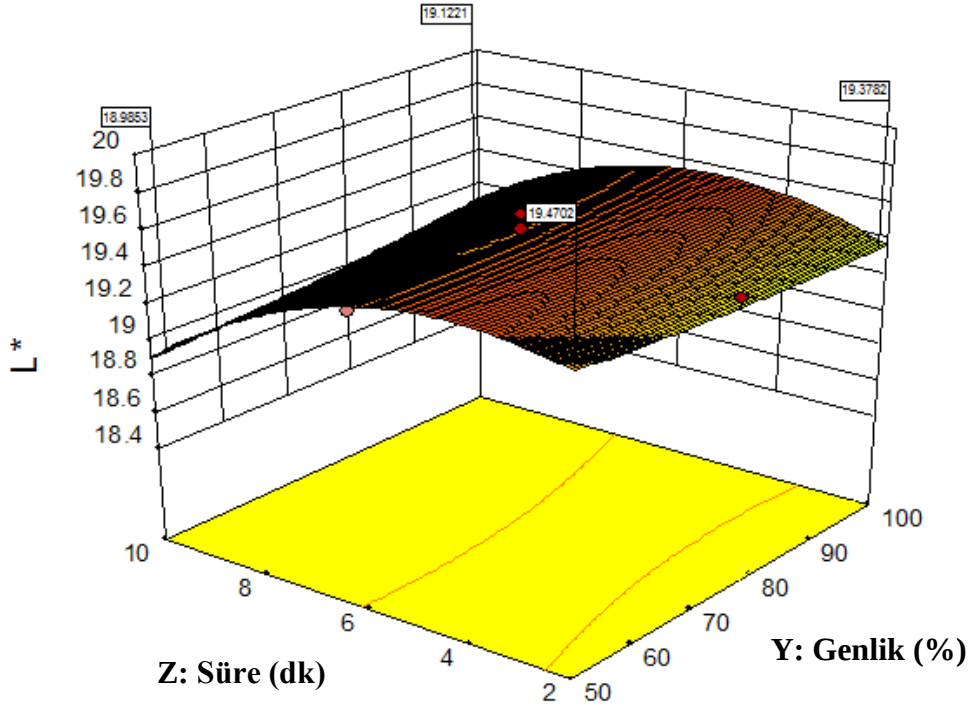
Şekil 4.1 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığının vişne suyunda L^* değerine etkisi

Ultrasonikasyon süresi ve sıcaklığı etkileşiminin vişne suyunda L^* değerine etkisi Şekil 4.2’de verilmektedir. Ancak, ultrasonikasyon süresi ve sıcaklığı etkileşiminin vişne suyunda L^* değerine lineer etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunmuştur ($P>0.05$; Çizelge 4.4).



Şekil 4.2 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresinin vişne suyunda L^* değerine etkisi

Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda L^* değerine etkisi Şekil 4.3’de verilmektedir. Buna göre genliğin L^* değerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı ancak artan süre ile birlikte L^* değerinde önce bir artış sonrada azalma gözlenmiştir. Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliği etkileşiminin de vişne suyunda L^* değerine lineer etkisi, istatistiksel olarak önemli belirlenmemiştir ($P>0.05$; Çizelge 4.4).



Şekil 4.3 Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda L* değerine etkisi

Elma ve portakal gibi açık renkli meyve sularında yapılan çalışmalarda renk açılması gözlemlendiği belirtilmiştir (Kuldiloke, 2002). Bu renk açılması, ultrasonikasyonun polifenoloksidaz (PPO) enzimini inaktif hale getirmesi ve bu nedenle de esmerleşmeyi engellemesi şeklinde açıklanmaktadır.

Vişne suyundaki a* ve b* değerlerindeki değişimin karesel modele uygunluk gösterdiği ve bu modelin istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$; Çizelge 4.5). Determinasyon katsayıları (R^2) sırasıyla 0.911 ve 0.861 olan karesel modele ilişkin eşitlikler aşağıda görülmektedir. Modele ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.5’de görülmektedir.

$$a^* = 8.09 - 0.025X + 0.100Y + 0.079Z - 0.091XY + 0.079XZ + 0.20YZ - 0.49X^2 - 0.019Y^2 + 0.21Z^2$$

$$b^* = 2.95 + 0.092X + 0.078Y - 0.015Z - 0.081XY + 0.071XZ + 0.094YZ - 0.22X^2 - 0.030Y^2 + 0.045Z^2$$

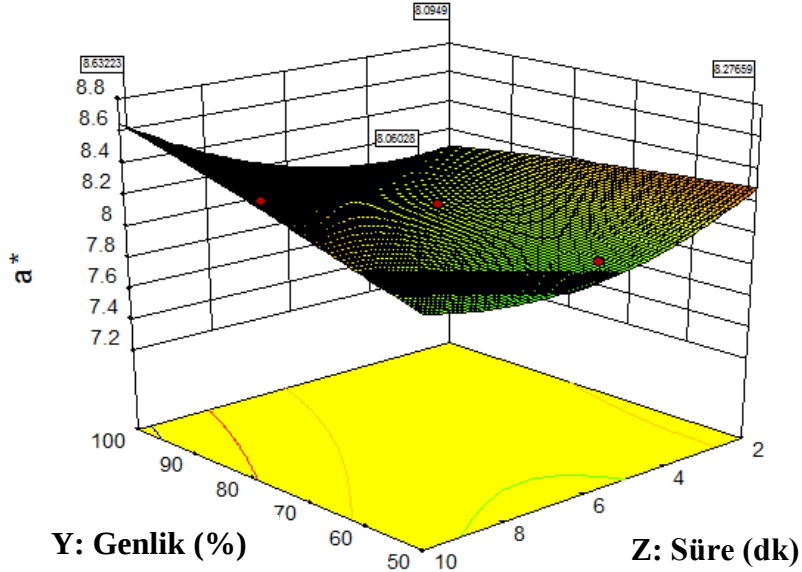
Çizelge 4.5 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyunda a* ve b* değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynağı	a*				b*		
	S.D.	K.O.	F	R ²	K.O.	F	R ²
Model	9	0.15	6.83*	0.911	0.054	4.12*	0.861
X-Sıcaklık	1	0.00625	0.29		0.085	6.43*	
Y-Genlik	1	0.100	5.58		0.061	4.62	
Z-Süre	1	0.062	2.86		0.00225	0.17	
XY	1	0.067	3.05		0.053	4.01	
XZ	1	0.050	2.27		0.041	3.08	
YZ	1	0.32	14.49**		0.070	5.34	
X ²	1	0.64	29.53		0.13	9.70*	
Y ²	1	0.000983	0.045		0.00240	0.18	
Z ²	1	0.11	5.11		0.00530	0.40	
Uyum eksikliği	5	0.026			0.013	315.9	
Hata	1	0.000			0.016		
Genel	15				0.00005		

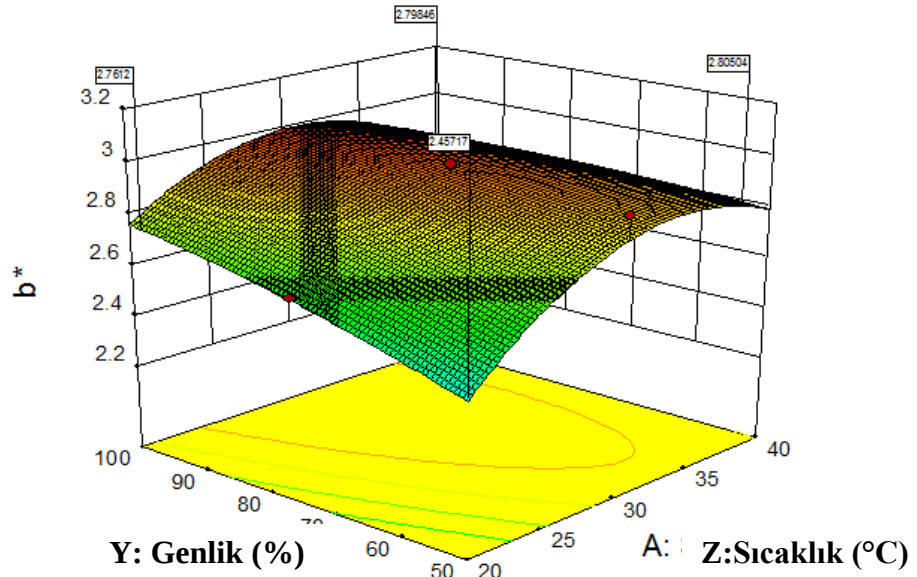
*P<0.05, **P<0.01

Ultrasonikasyon süresi ve dalga genliğinin birlikte etkilerinin a* değerine (P<0.01); ultrasonikasyon sıcaklığının ise b* değerine (P<0.05) önemli düzeyde etki ettiği Çizelge 4.5’den görülmektedir. Knorr ve ark. (2003) ve Romero ve ark.(2006) portakal suyunda yaptıkları çalışmalarda, ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon uygulama süresinin a* ve b* değerlerinde önemli etki göstermediğini bildirmişlerdir.

Şekil 4.4'te vişne suyunda a^* değerinin düşük genlik değerinde uygulama süresi arttıkça azaldığı ancak uzun uygulama süresinde ultrasonik dalga genliğine bağlı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Şekil 4.5'te b^* değerinin sıcaklıkla arttığı ve 35°C' de maksimum değere ulaştığı ve sonrasında azalma görülmektedir.



Şekil 4.4 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyunda a^* değerine etkisi



Şekil 4.5 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda b^* değerine etkisi

Renk doygunluğu (C) ve renk tonu (h) değerlerinin ultrasonikasyon sonrasında arttığı belirlenmiştir. Vişne suyunda C ve h değerlerindeki değişimin karesel modele uygunluk gösterdiği ve bu modelin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$, $P < 0.01$; Çizelge 4.6). Determinasyon katsayıları (R^2) sırasıyla, 0.905 ve 0.937 olan karesel modele ilişkin eşitlikler aşağıda görülmektedir. Modele ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.6’te görülmektedir.

$$C = 8.61 - 0.002X + 0.11Y + 0.080Z - 0.10XY + 0.085XZ + 0.21YZ - 0.53X^2 - 0.030Y^2 + 0.21Z^2$$

$$h = 20.60 + 0.33X - 0.066Y + 0.015Z + 0.042XY - 0.093XZ - 0.18YZ - 0.19X^2 + 0.10Y^2 - 0.15Z^2$$

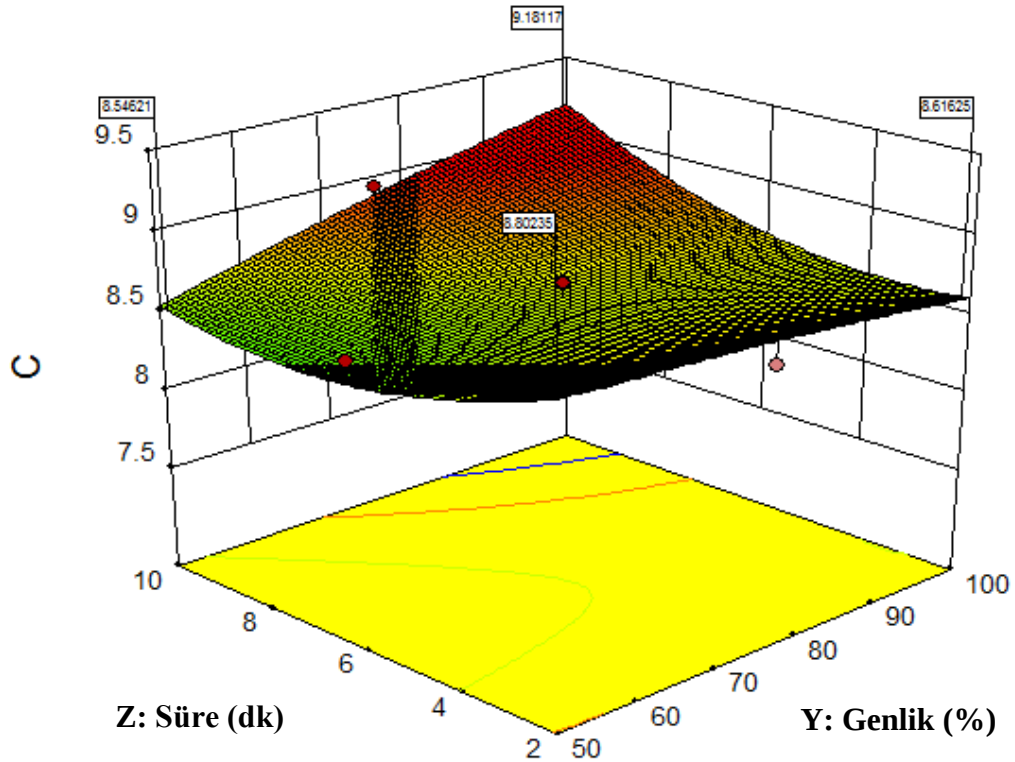
Çizelge 4.6 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyu C ve h değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynağı	C				h		
	S.D.	K.O.	F	R^2	K.O.	F	R^2
Model	9	0.017	6.37*	0.905	0.19	9.96**	0.937
X-Sıcaklık	1	0.00004	0.00149		1.06	56.12**	
Y-Genlik	1	0.13	4.67		0.044	2.30	
Z-Süre	1	0.064	2.38		0.00225	0.12	
XY	1	0.084	3.13		0.014	0.76	
XZ	1	0.058	2.15		0.068	3.61	
YZ	1	0.34	12.82*		0.027	14.07**	
X^2	1	0.74	27.53		0.094	4.94	
Y^2	1	0.00232	0.086		0.027	1.44	
Z^2	1	0.12	4.34		0.00530	3.28	
Uyum eksikliği	5	0.032			0.062	17.98	
Hata	1	0.000			0.022		
Genel	15				0.00125		

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

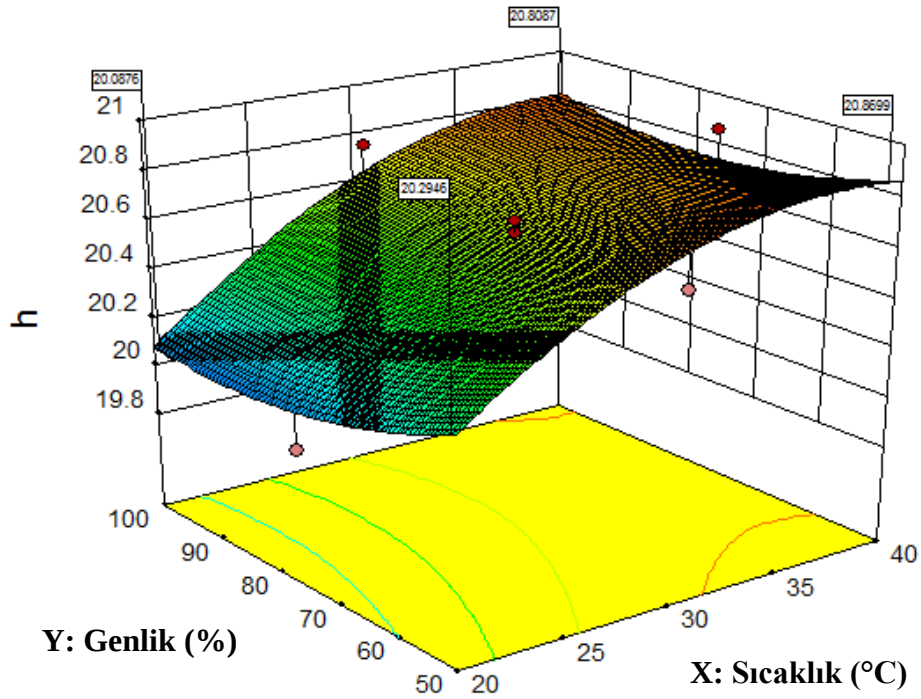
Ultrasonikasyon uygulama süresi ve ultrasonik dalga genliğinin birlikte etkilerinin renk doygunluğu (C) üzerine önemli düzeyde etki ettiği Çizelge 4.6'ten görülmektedir ($P<0.05$). Ultrasonikasyon süresi ve dalga genliği etkileşiminin vişne suyunda renk doygunluğu (C) üzerine etkisi Şekil 4.6'da verilmektedir. Artan ultrasonikasyon süresi ve dalga genliklerinde C değerindeki artışın önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.6).

Ortam sıcaklığının, renk tonu (h) üzerindeki lineer etkisi önemli bulunurken ($P<0.01$; Çizelge 4.6); ultrasonikasyon süresi ve dalga genliğinin lineer etkileri önemli saptanmamıştır ($P>0.05$).



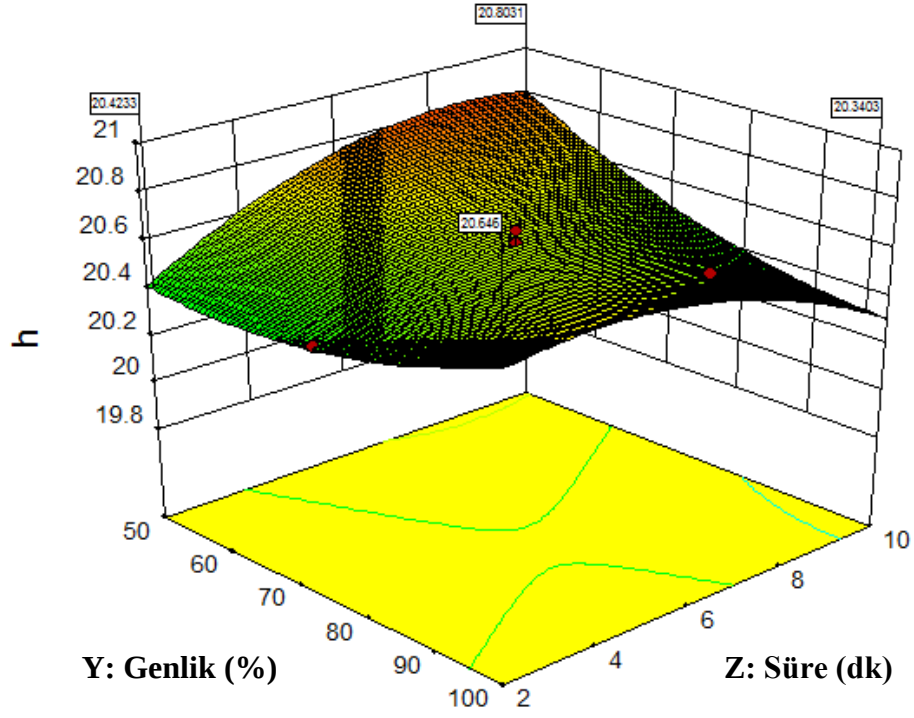
Şekil 4.6 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyunda C değerine etkisi

Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığının h değerı üzerinde gösterdikleri etki Şekil 4.7’de verilmektedir. Artan sıcaklık ile birlikte h değerinin de artış gösterdiği görülmektedir. Ancak; ultrasonikasyon sıcaklık ve genlik değerı etkileşimi h değerı üzerideki linner etkisi önemli bulunmamıştır ($P>0.05$; izelge 4.6).



Şekil 4.7 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığının vişne suyunda h değerine etkisi

Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliğinin h değerı üzerine gösterdikleri etki Şekil 4.8’de verilmektedir. Ultrasonikasyon genlik değerı ve süresi etkileşimi h değerini önemli ölçüde deđiŐtirmemiŐtir ancak istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$; izelge 4.6).



Şekil 4.8 Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda h değerine etkisi

4.3 Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyu toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi

Farklı sıcaklık, genlik ve sürede uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyu toplam monomerik antosiyanin miktarı değerleri Çizelge 4.7’de verilmektedir. Bulgulara göre; vişne suyu örneklerinde bulunan toplam monomerik antosiyanin miktarının 781–970 mg/L arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.7 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda toplam monomerik antosiyanin miktarı

	Sıcaklık (°C)	Genlik (%)	Süre (dk.)	Toplam Monomerik Antosiyanin (mg/L)
1	30	50	6	905
2	30	75	2	944
3	40	50	2	781
4	40	100	2	843
5	30	75	10	889
6	40	50	10	835
7	20	75	6	918
8	30	75	6	907
9	30	100	6	947
10	20	100	2	970
11	30	75	6	913
12	20	50	10	856
13	40	75	6	847
14	40	100	10	812
15	20	100	10	969
16	20	50	2	810

Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi yanıt yüzey yöntemi ile modellenmiştir. Vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişimin karesel modele uygunluk gösterdiği ve bu modelin istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$; Çizelge 4.8). Determinasyon katsayısı (R^2), 0.935 olan karesel modele ilişkin eşitlik aşağıda görülmektedir. Modele ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.8’de görülmektedir.

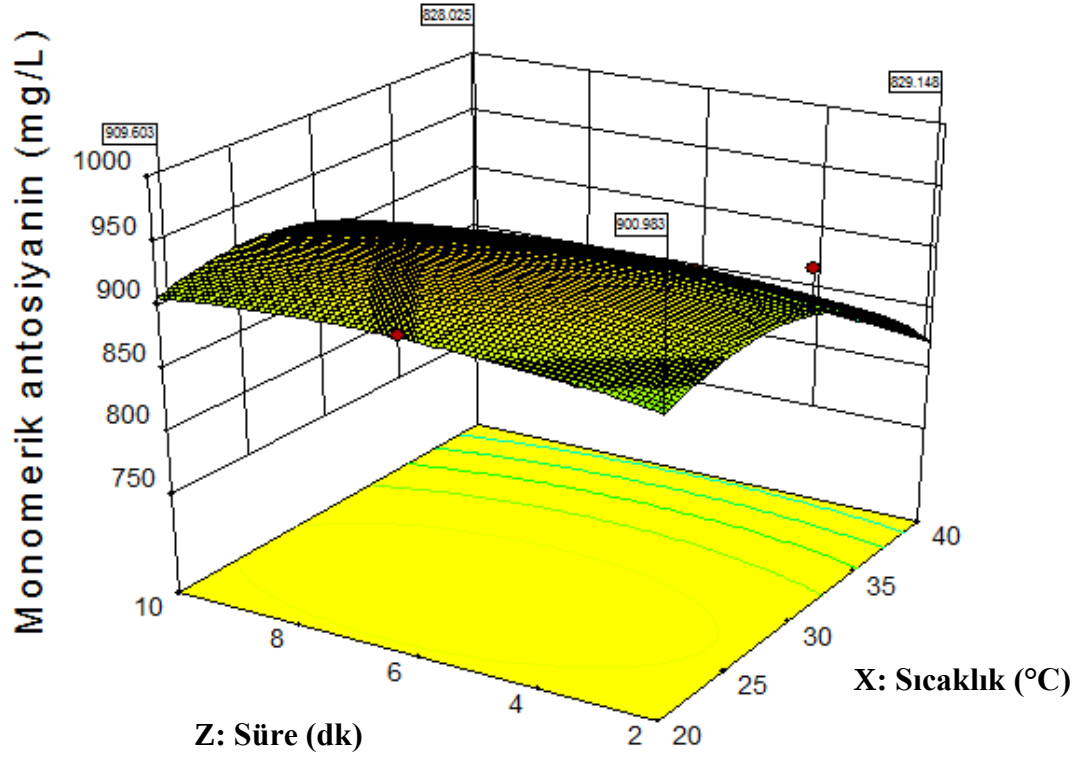
$$\text{Monomerik antosiyanin} = 922.55 - 40.50X + 35.40Y + 1.30Z - 29.25XY - 2.75XZ - 16.50YZ - 46.33 X^2 - 2.83Y^2 - 12.33Z^2$$

Çizelge 4.8 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynağı	S.D.	K.O.	F	R ²
Model	9	5473.52	9.59**	0.935
X-Sıcaklık	1	16402.50	28.74**	
Y-Genlik	1	12531.60	21.96**	
Z-Süre	1	16.90	0.030	
XY	1	6844.50	11.99*	
XZ	1	60.50	0.11	
YZ	1	2178.00	3.82	
X ²	1	5658.28	9.91*	
Y ²	1	21.08	0.037	
Z ²	1	400.65	0.70	
Uyum eksikliği	5	681.22	37.85	
Hata	1	18.00		
Genel	15			

*P<0.05, **P<0.01

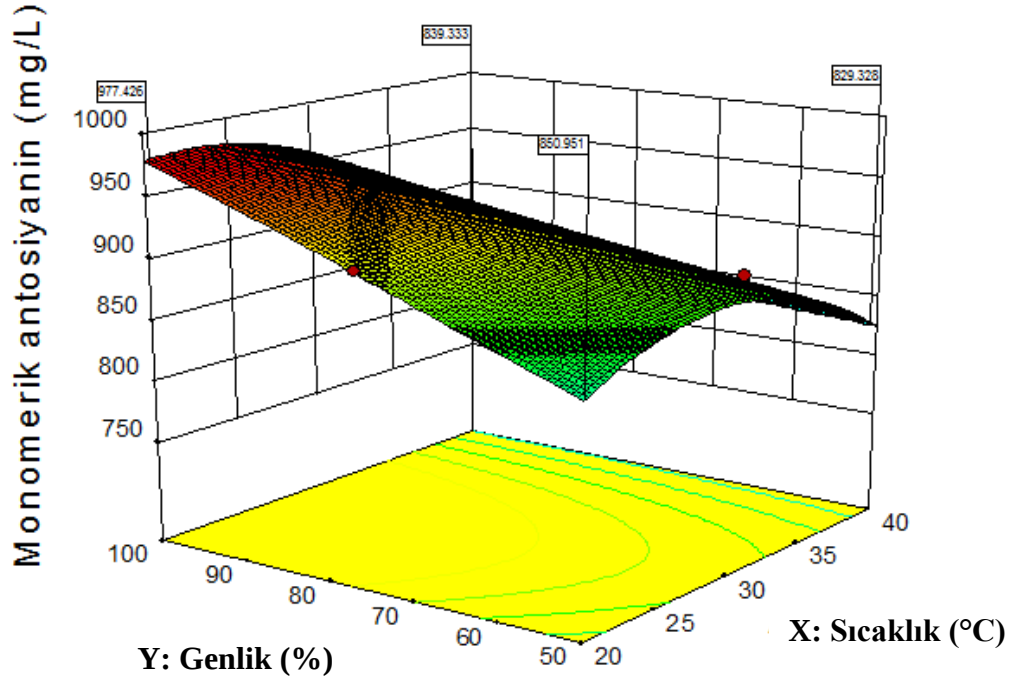
Ultrasonikasyon sıcaklığının ve ultrasonik dalga genliğinin lineer etkilerinin vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarı üzerinde önemli olduğu (P<0.01), Çizelge 4.8'ten görülmektedir. Buna karşın; uygulanan ultrasonikasyon süresinin vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 Ultrasonikasyon süresinin ve sıcaklığının vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi

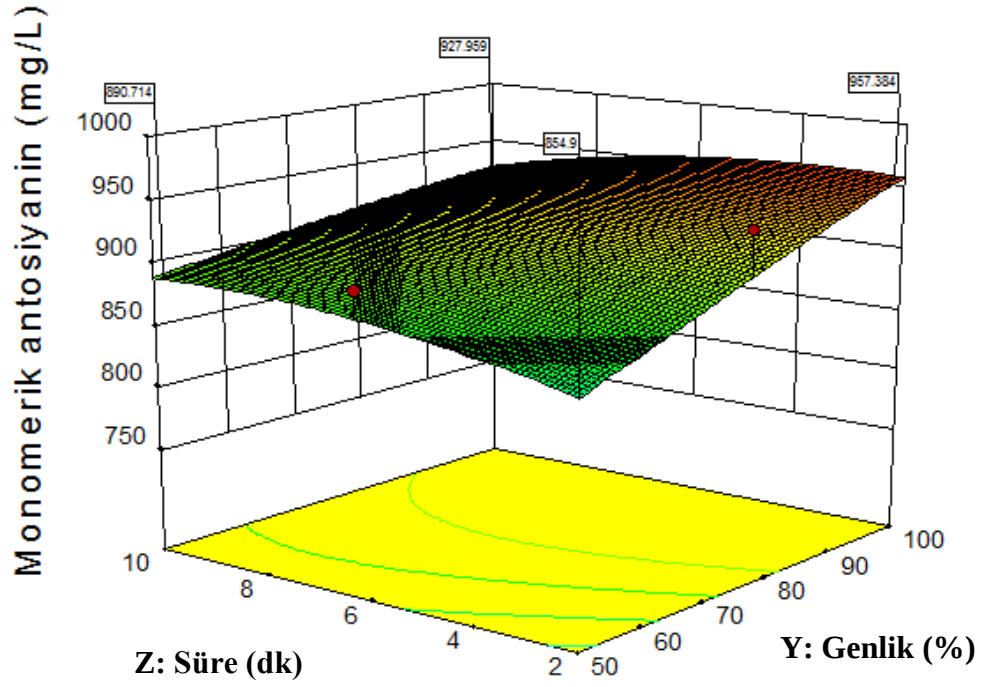
Şekil 4.10’da vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarının ultrasonikasyon genlik değerine bağlı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Örneğin; vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarı 20 °C sıcaklıkta % 50 genlik değerinde 2 dakika süreyle uygulanan ultrasonikasyon sonrasında 810 mg L⁻¹, aynı sıcaklıkta % 100 genlik değerinde aynı süre ile uygulanan ultrasonikasyon sonrasında 970 mg L⁻¹ olarak bulunmuştur. Ultrasonikasyon sıcaklığı ve genlik değeri etkileşiminin toplam monomerik antosiyanin miktarını önemli düzeyde artırdığı Şekil 4.10’da görülmektedir. Tiwari ve ark. (2008) da, ultrasonikasyonun çilek suyunda yaptıkları çalışmada. düşük ultrasonik dalga genliği ve uygulama sürelerinde pelargonidin-3 glikozidin artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu artışa, antosiyaninlerin süspanse halindeki meyve suyundan ultrasonikasyon yardımı ile

ekstrakte olmasının neden olduğunu ileri sürmektedirler (Tiwari, O'Donnell, & Cullen, 2009).



Şekil 4.10 Ultrasonik dalga genliği ile ultrasonikasyon sıcaklığının vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi

Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon uygulama süresinin vişne suyunda toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi Şekil 4.11’de verilmektedir. Buna göre; genlik değeri ve süre artışına paralel olarak toplam monomerik antosiyanin miktarının arttığı görülmektedir. Ancak, bu artış önemli bulunmamıştır ($P>0.05$; Çizelge 4.8)



Şekil 4.11 Ultrasonik dalga genliği ile ultrasonikasyon süresinin vişne suyundaki toplam monomerik antosiyanin miktarına etkisi

4.4 Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyu polimerik renk (%) üzerine etkisi

Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyu örneklerinin polimerik renk değerlerinde meydana gelen değişim Çizelge 4.9’da verilmektedir. Vişne suyu polimerik renginin % 35–44 arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.9 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda polimerik renk (%) miktarı

	Sıcaklık (°C)	Genlik (%)	Süre (dk.)	Polimerik Renk (%)
1	30	50	6	36
2	30	75	2	39
3	40	50	2	40
4	40	100	2	35
5	30	75	10	42
6	40	50	10	40
7	20	75	6	38
8	30	75	6	39
9	30	100	6	39
10	20	100	2	42
11	30	75	6	40
12	20	50	10	35
13	40	75	6	39
14	40	100	10	44
15	20	100	10	41
16	20	50	2	38

Ultrasonikasyon uygulanan vişne suyunda polimerik renk üzerine ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin etkisi yanıt yüzey yöntemi ile değerlendirilmiştir. Buna göre; vişne suyundaki polimerik renk değişiminin karesel modele uygun olduğu ve bu modelin istatistik olarak önemli bulunduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$; Çizelge 4.10). Determinasyon katsayısı (R^2), 0.902 olan karesel modele ilişkin eşitlik aşağıda görülmektedir. Modele ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.10'da görülmektedir.

$$\text{Polimerik renk (\%)} = 38.98 + 0.40X + 1.20Y + 0.80Z - 1.37 XY + 1.63XZ + 1.38YZ - 0.22X^2 - 1.22Y^2 + 1.78Z^2$$

Çizelge 4.10 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyundaki polimerik renk üzerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

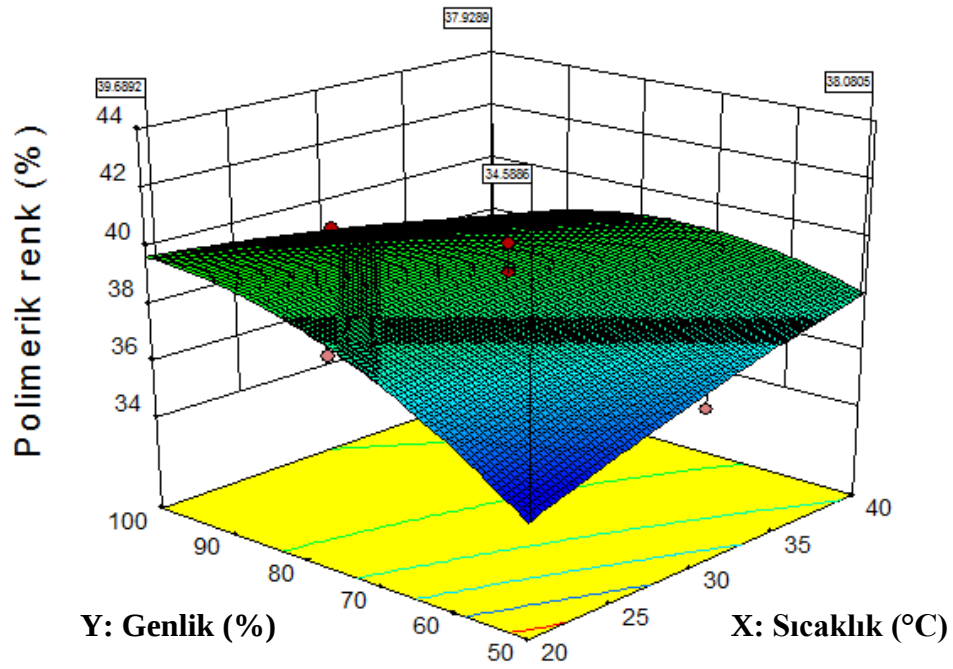
Varyasyon kaynağı	S.D.	K.O.	F	R ²
Model	9	9.26	6.13*	0.902
X-Sıcaklık	1	1.60	1.06	
Y-Genlik	1	14.40	9.53*	
Z-Süre	1	6.40	4.23	
XY	1	15.12	10.01*	
XZ	1	21.13	13.97**	
YZ	1	15.13	10.01*	
X ²	1	0.13	0.088	
Y ²	1	3.95	2.61	
Z ²	1	8.31	5.50	
Uyum eksikliği	5	1.71	3.43	
Hata	1	0.50		
Genel	15			

*P<0.05, **P<0.01

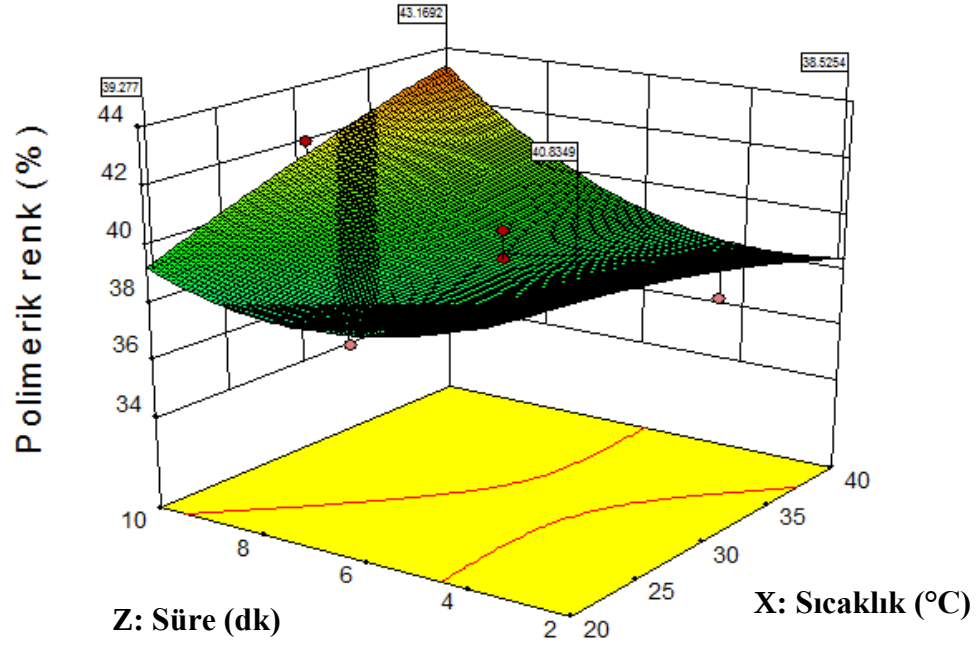
Çizelge 4.10’da ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresinin vişne suyunda polimerik renk (%) üzerine lineer etkisinin önemli olmadığı (P>0.05); ultrasonik dalga genliğinin lineer etkisinin ise önemli olduğu görülmektedir (P<0.05). Ultrasonikasyon sıcaklığı-ultrasonik dalga genliği (P<0.05); ultrasonikasyon sıcaklığı-ultrasonikasyon süresi (P<0.01) ve ultrasonik dalga genliği-ultrasonikasyon süresi (P<0.05) etkileşimlerinin vişne suyunda polimerik renk (%) üzerindeki lineer etkileri de önemli bulunmuştur. Ultrasonikasyon sıcaklığı ile ultrasonikasyon genlik değerinin polimerik renk üzerine

etkisi Şekil 4.12'den görülmektedir. Sıcaklık ve genlik değerlerinin artması, vişne suyunun polimer renk değerlerini önemli düzeyde artırmıştır.

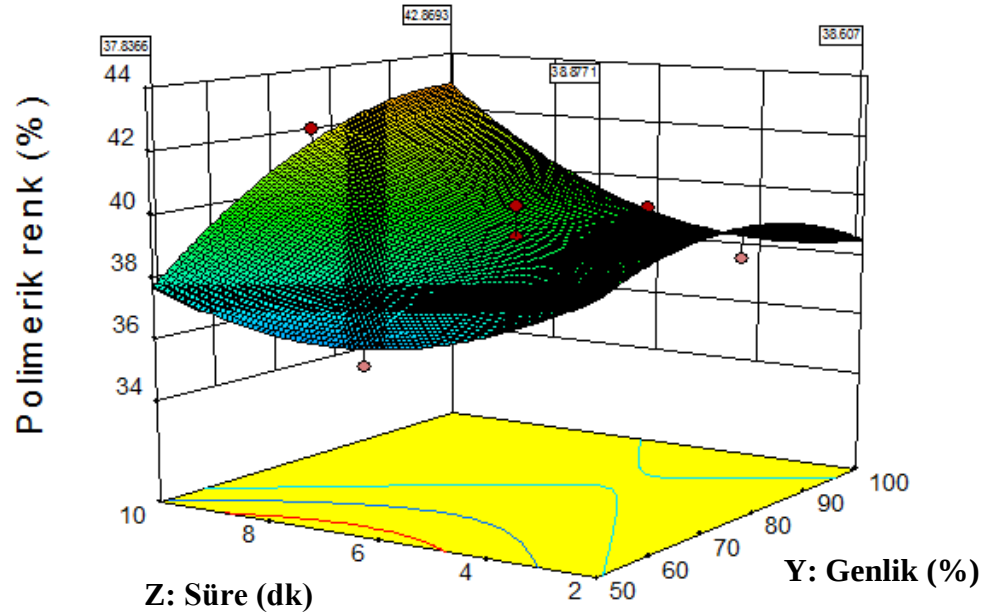
Ultrasonikasyon sıcaklığı – ultrasonikasyon süresi etkileşimi ve ultrasonikasyon süresi – ultrasonikasyon genlik değeri etkileşiminin vişne suyunda polimerize olan antosiyaninler üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'den görülmektedir.



Şekil 4.12. Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonik dalga genlik değerinin vişne suyundaki polimerik renk (%) üzerine etkisi



Şekil 4.13 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresinin vişne suyunda polimerik renk (%) üzerine etkisi



Şekil 4.14 Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonikasyon genlik değerinin vişne suyunda polimerik renk (%) üzerine etkisi

4.5 Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyu toplam fenolik madde miktarına etkisi

Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon işlemi sonrasında vişne suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarları Çizelge 4.11’de görülmektedir. Buna göre; vişne suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarları 377–424 mg 100 mL⁻¹ arasında değişmektedir.

Çizelge 4.11 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda toplam fenolik madde miktarı

	Sıcaklık (°C)	Genlik (%)	Süre (dk.)	Toplam Fenolik Madde (mg/100 mL)
1	30	50	6	405
2	30	75	2	424
3	40	50	2	408
4	40	100	2	422
5	30	75	10	415
6	40	50	10	394
7	20	75	6	387
8	30	75	6	414
9	30	100	6	402
10	20	100	2	377
11	30	75	6	422
12	20	50	10	397
13	40	75	6	403
14	40	100	10	427
15	20	100	10	414
16	20	50	2	378

Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyundaki toplam fenolik madde miktarına etkisinde yanıt yüzey yöntemi kullanılmıştır. Vişne suyundaki toplam fenolik madde miktarındaki değişimin karesel modele uyduğu ve bu modelin istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$; Çizelge 4.12). Determinasyon katsayısı (R^2), 0.874 olan karesel modele ilişkin eşitlik aşağıda verilmektedir. Modele ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.12’de görülmektedir.

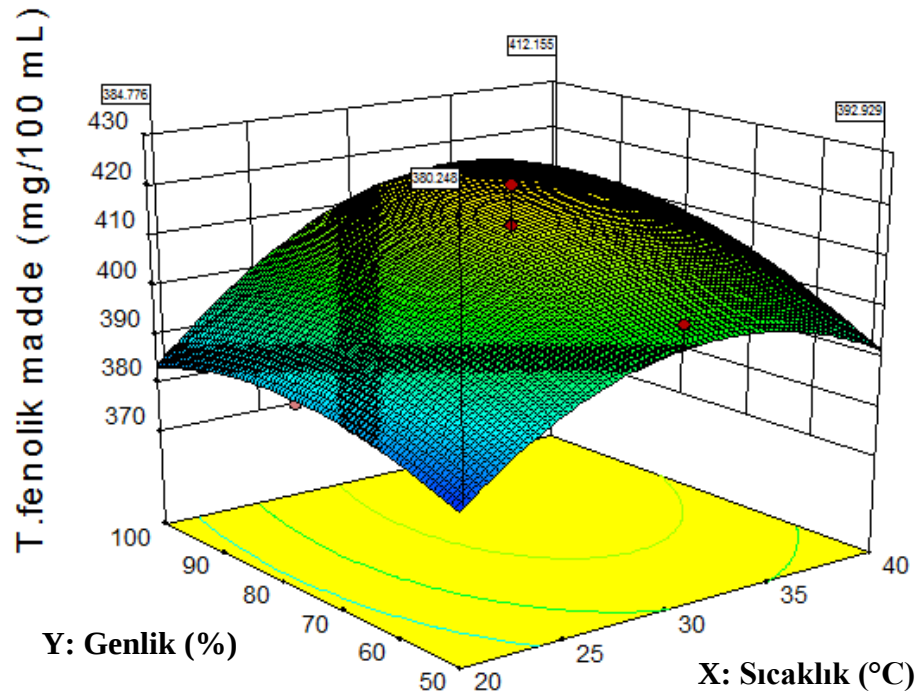
$$\text{Toplam fenolik madde miktarı} = 412.45 + 10.10X + 6.00Y + 3.80Z + 3.88XY - 8.12XZ + 4.63YZ - 14.67X^2 - 6.17Y^2 + 9.83Z^2$$

Çizelge 4.12 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyundaki toplam fenolik madde miktarına etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

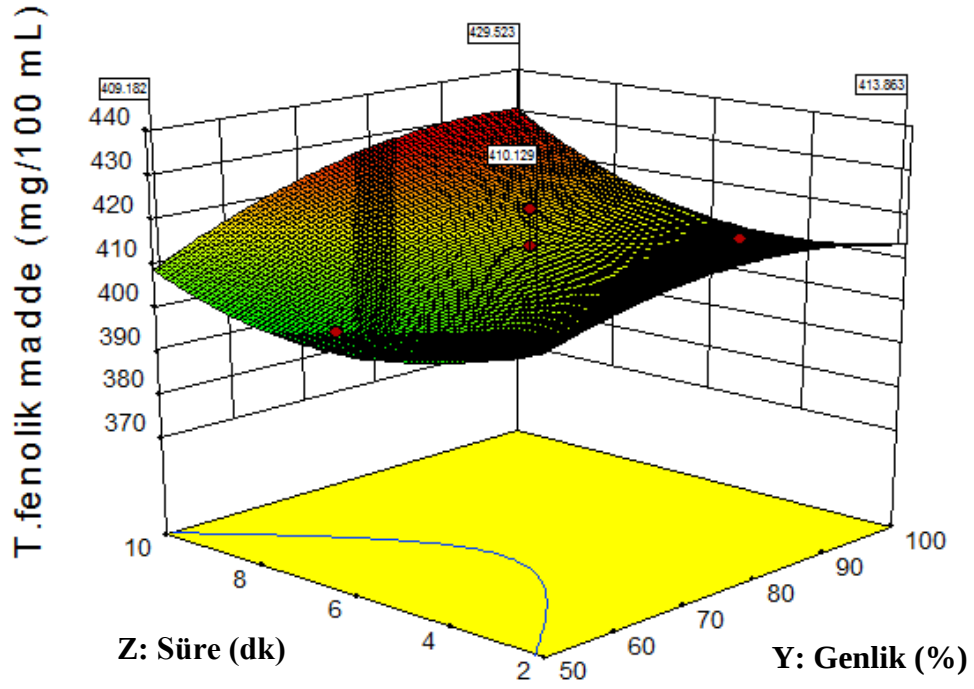
Varyasyon kaynağı	S.D.	K.O.	F	R^2
Model	9	361.80	4.64*	0.874
X-Sıcaklık	1	1020.10	13.09*	
Y-Genlik	1	360.00	4.62	
Z-Süre	1	144.40	1.85	
XY	1	120.13	1.54	
XZ	1	528.12	6.77*	
YZ	1	171.13	2.20	
X^2	1	567.56	7.28*	
Y^2	1	100.44	1.29	
Z^2	1	254.62	3.27	
Uyum eksikliği	5	87.15	2.72	
Hata	1	32		
Genel	15			

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Çizelge 4.12’de ultrasonik dalga genliği ve süresinin vişne suyundaki toplam fenolik madde miktarı üzerine lineer etkisinin önemli olmadığı ($P>0.05$) görülmektedir. Buna karşın, ultrasonikasyon sıcaklığının toplam fenolik madde üzerine lineer etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Ultrasonikasyon sıcaklığı-ultrasonik dalga genliğinin ($P>0.05$) ve ultrasonik dalga genliği-ultrasonikasyon süresinin ($P>0.05$) birlikte etkilerinin vişne suyunda toplam fenolik madde miktarı üzerinde önemli olmadığı belirlenmiştir. Sıcaklığın artması toplam fenolik madde miktarını başlangıçta artırırsa da yüksek sıcaklıklara ulaşıldığında düşüş görülmektedir (Şekil 4.15). Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresi etkileşimi ise toplam fenolik madde miktarı üzerinde önemli olmamasına karşın az da olsa bir artışa neden olmuştur (Şekil 4.16).

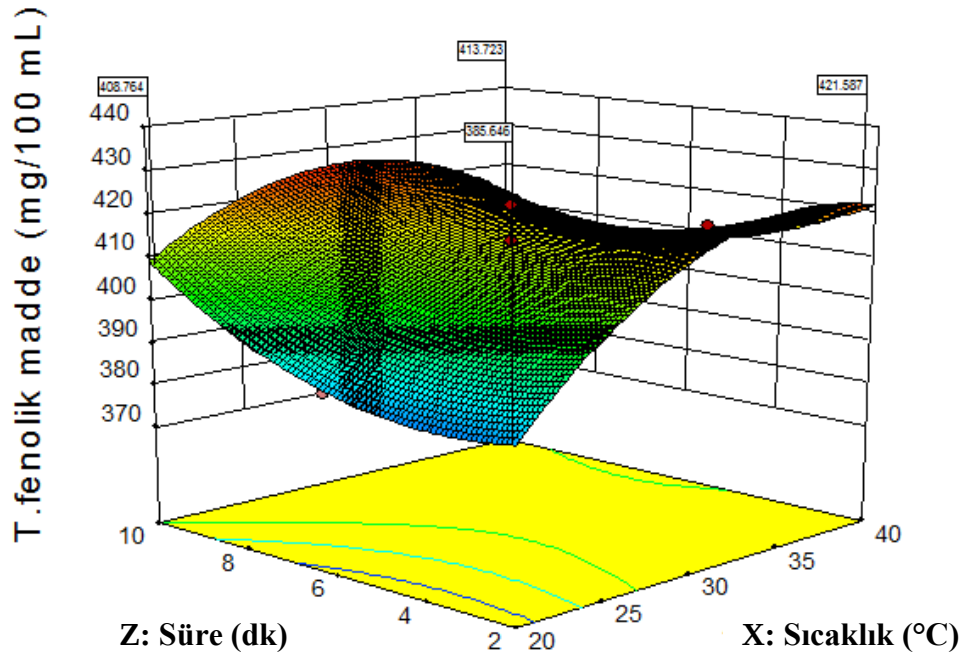


Şekil 4.15 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda toplam fenolik madde miktarının etkisi



Şekil 4.16 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyuunda toplam fenolik madde miktarına etkisi

Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyu toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi Şekil 4.17’de görülmektedir.



Şekil 4.17 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyuunda toplam fenolik madde miktarına etkisi

Şekil 4.17’de, vişne suyundaki toplam fenolik madde miktarının ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresindeki artışa bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Örneğin; 20 °C sıcaklıkta % 50 genlik değerinde 2 dakika süreyle uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyundaki toplam fenolik madde miktarı 378 mg/100 mL iken, aynı genlik ve sürede, 30°C sıcaklıkta uygulanan ultrasonikasyon sonrasında 408 mg/100 mL bulunmuştur. Aynı şekilde 20°C ve 40°C sıcaklıkta % 100 genlik değerinde 10 dakika süreyle uygulanan ultrasonikasyon sonrasında toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 414 mg/100 mL ve 427 mg/100 mL bulunmuştur. Kırmızı şarap (Masuzawa ve ark. 2000), çilek suyu (Tiwari ve ark. 2009), nar suyu (Alighourchi ve ark. 2013) ve limon suyunda (Bhat ve ark. 2011) ultrasonikasyon ile yapılan çalışmalarda da toplam fenolik madde miktarının arttığı bildirilmektedir. Bu artışa; sonikasyonda kavitasyon ile oluşan hidroksil radikallerinin büyük moleküllü fenolik bileşikler parçalaması ile daha küçük moleküldeki fenolik bileşiklerin oluşmasının neden olduğu ileri sürülmektedir (Ashokkumar ve ark. 2008).

4.6 Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisi

Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda meydana gelen antioksidan aktivite değişimi Çizelge 4.13’de verilmektedir. Bulgulara göre; vişne suyu örneklerinin antioksidan aktivite değerlerinin 37.4–41.8 mmol Trolox/L arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.13 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon sonrasında vişne suyunda antioksidan aktivite değerleri

	Sıcaklık (°C)	Genlik (%)	Süre (dk.)	Antioksidan Aktivite (mmol Troluks/L)
1	30	50	6	40.2
2	30	75	2	40.8
3	40	50	2	40.9
4	40	100	2	40.8
5	30	75	10	41.7
6	40	50	10	40.8
7	20	75	6	41.3
8	30	75	6	41.1
9	30	100	6	40.9
10	20	100	2	41.8
11	30	75	6	40.6
12	20	50	10	39.9
13	40	75	6	41.0
14	40	100	10	40.8
15	20	100	10	41.5
16	20	50	2	37.4

Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyunun antioksidan aktivitesi üzerine etkisi yanıt yüzey yöntemi ile modellenmiştir. Buna göre; vişne suyundaki antioksidan aktivite değişiminin karesel modele uygun olduğu ve bu modelin istatistik olarak önemli bulunduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$; Çizelge 4.14). Determinasyon katsayısı (R^2), 0.869 olan karesel modele ilişkin eşitlik aşağıda görülmektedir. Modele ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.14’de görülmektedir.

$$\text{Antioksidan aktivite} = 41.06 + 0.24X + 0.66Y + 0.30Z - 0.76XY - 0.29XZ - 0.34YZ - 0.016X^2 - 0.62Y^2 + 0.084Z^2$$

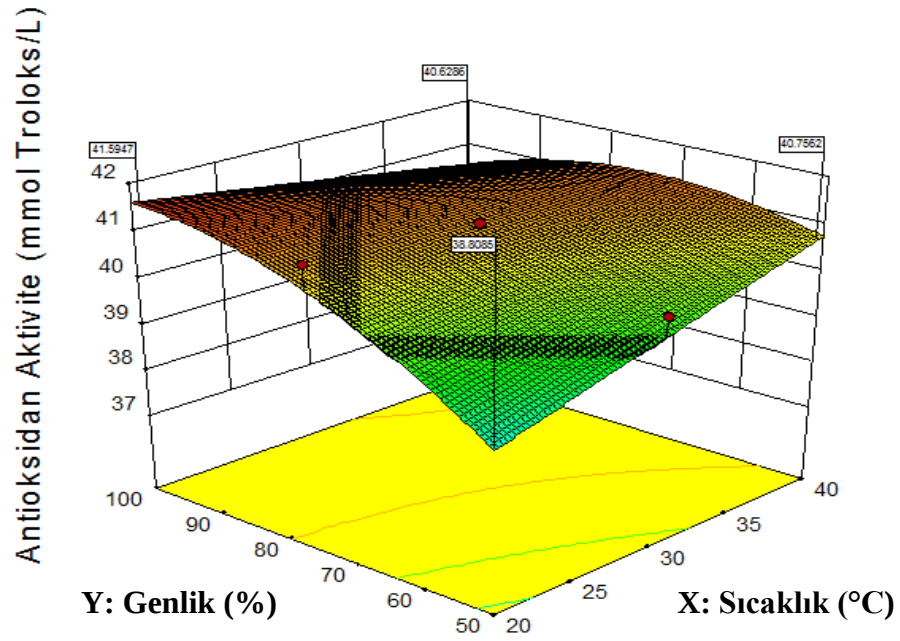
Çizelge 4.14 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynağı	S.D.	K.O.	F	R²
Model	9	1.48	4.42*	0.869
X-Sıcaklık	1	0.58	1.72	
Y-Genlik	1	4.36	12.98*	
Z-Süre	1	0.90	2.68	
XY	1	4.65	13.86**	
XZ	1	0.66	1.97	
YZ	1	0.91	2.72	
X ²	1	0.00063	0.00189	
Y ²	1	1.00	2.98	
Z ²	1	0.019	0.056	
Uyum eksikliği	5	0.38	3.02	
Hata	1	0.13		
Genel	15			

*P<0.05, **P<0.01

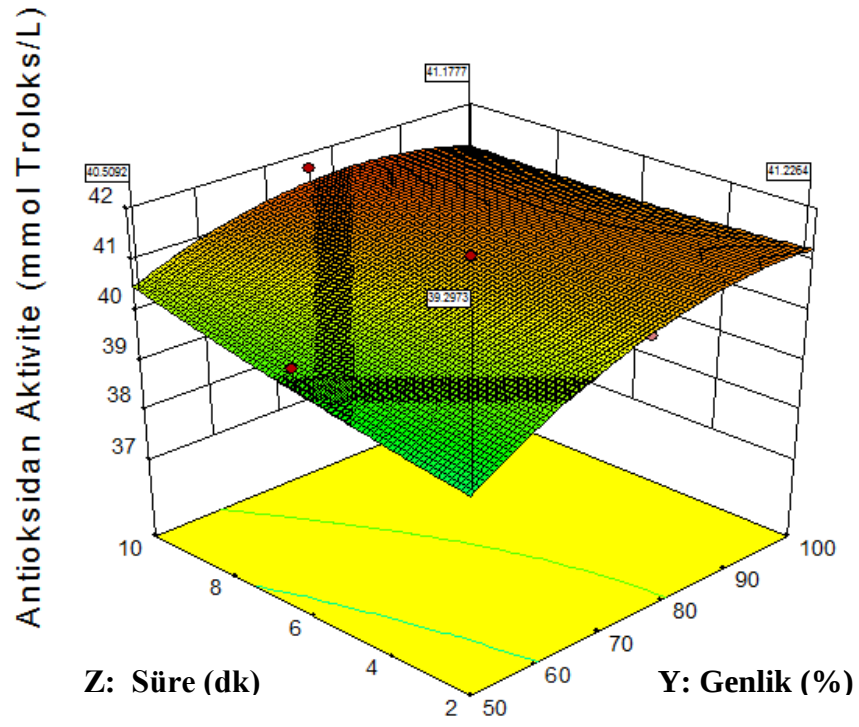
Çizelge 4.14’de, ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresinin vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine lineer etkisinin önemli olmadığı ($P>0.05$); ultrasonik dalga genliğinin lineer etkisinin ise önemli olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Ultrasonikasyon sıcaklığı-dalga genliği etkileşimi (Şekil 4.18) de vişne suyunda antioksidan aktivite üzerinde önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Antioksidan aktivite, ultrasonikasyon sıcaklığı ve dalga genliğine bağlı olarak artmıştır. Örneğin; 20°C sıcaklıkta, % 50 genlik değerinde 2 dakika ultrasonikasyon uygulanan vişne suyunda 37.4 mmol Troloks L⁻¹ ölçülen antioksidan aktivite, aynı sıcaklık ve sürede % 100 genlikte uygulanan ultrasonikasyondan sonra 41.8 mmol Troloks L⁻¹ bulunmuştur.

Bu artışın, toplam fenolik madde ve toplam monomerik antosiyanin miktarındaki artıştan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, kavitasyon sırasında oluşan hidroksil radikallerinin fenolik bileşiklerin bağlarında değişikliklere neden olarak antioksidan aktiviteyi artırabileceği ileri sürülmektedir (Ashokkumar ve ark. 2008; Wanasundara ve ark. 1997).



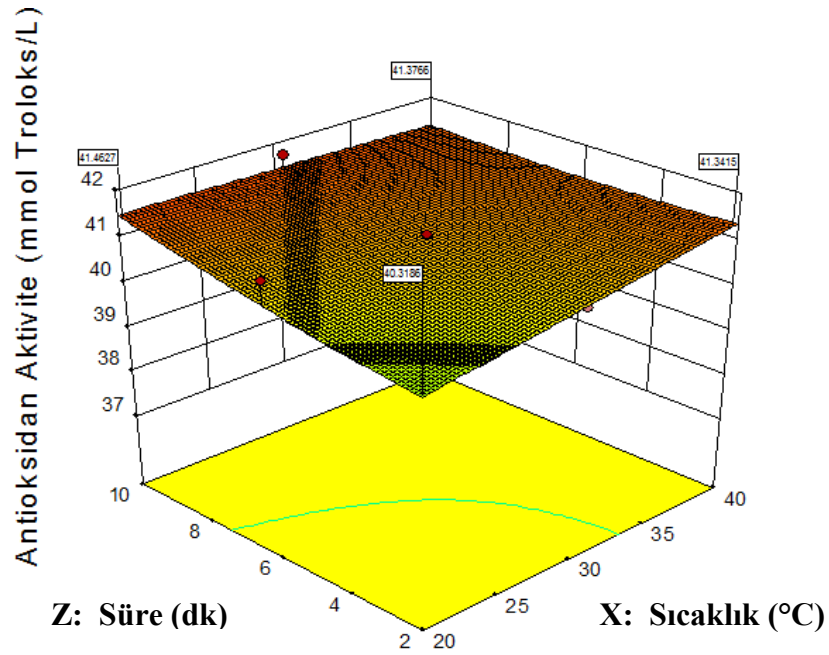
Şekil 4.18 Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisi

Ultrasonikasyon süresinin ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda antioksidan aktivite üzerindeki etkisi Şekil 4.19’da verilmektedir. Buna göre; ultrasonikasyon dalga genliğinin ultrasonikasyon süresindeki artışa bağlı olarak antioksidan aktiviteyi artırdığı görülmektedir. Ancak, bu artış önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).



Şekil 4.19 Ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisi

Ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresinin vişne suyu antioksidan aktivitesi üzerine etkisi Şekil 4.20’de görülmektedir. Ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresinin antioksidan aktivite üzerinde önemli bir değişim yaratmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.20 Ultrasonikasyon süresi ve sıcaklığının vişne suyunda antioksidan aktivite üzerine etkisi

4.7 Ultrasonikasyon koşullarının (sıcaklık, genlik ve süre) vişne suyunda *E.coli* O157:H7 inaktivasyonuna etkisi

Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasonikasyon işlemi sonrasında vişne suyuna inoküle edilen *E.coli* O157:H7 sayısında meydana gelen değişim Çizelge 4.15’de verilmektedir.

Çizelge 4.15 Farklı sıcaklık, genlik ve sürelerde uygulanan ultrasoniksasyon sonrasında vişne suyunda *E.coli* O157:H7 sayısı

	Sıcaklık (°C)	Genlik (%)	Süre (dk.)	<i>E.coli</i> (kob/mL)
1	30	75	6	0
2	30	50	6	5.32
3	20	50	2	6.79
4	20	100	10	0
5	40	75	6	0
6	40	50	2	0
7	40	50	10	0
8	40	100	2	0
9	30	75	2	5.11
10	20	50	10	5.31
11	30	75	10	0
12	40	100	10	0
13	30	75	6	0
14	20	75	6	5.22
15	20	100	2	6.28
16	30	100	6	0

Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyunda *E.coli* O157:H7 inaktivasyonuna etkisi yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmiştir. Vişne suyundaki mikrobiyal yükün değişimi etkileşimleri de içeren bir çeşit lineer model olan 2FI modeline uygunluk gösterdiği ve bu modelin istatistik olarak önemli olduğu

belirlenmiştir ($P<0.01$; Çizelge 4.16). Determinasyon katsayısı (R^2) 0.807 olan modele ilişkin eşitlik aşağıda verilmektedir. Modele ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.16’da görülmektedir.

$$E.coli \text{ Sayısı} = 2.13 - 2.36X - 1.11Y - 1.29 Z + 0.73XY + 0.97XZ - 0.60YZ$$

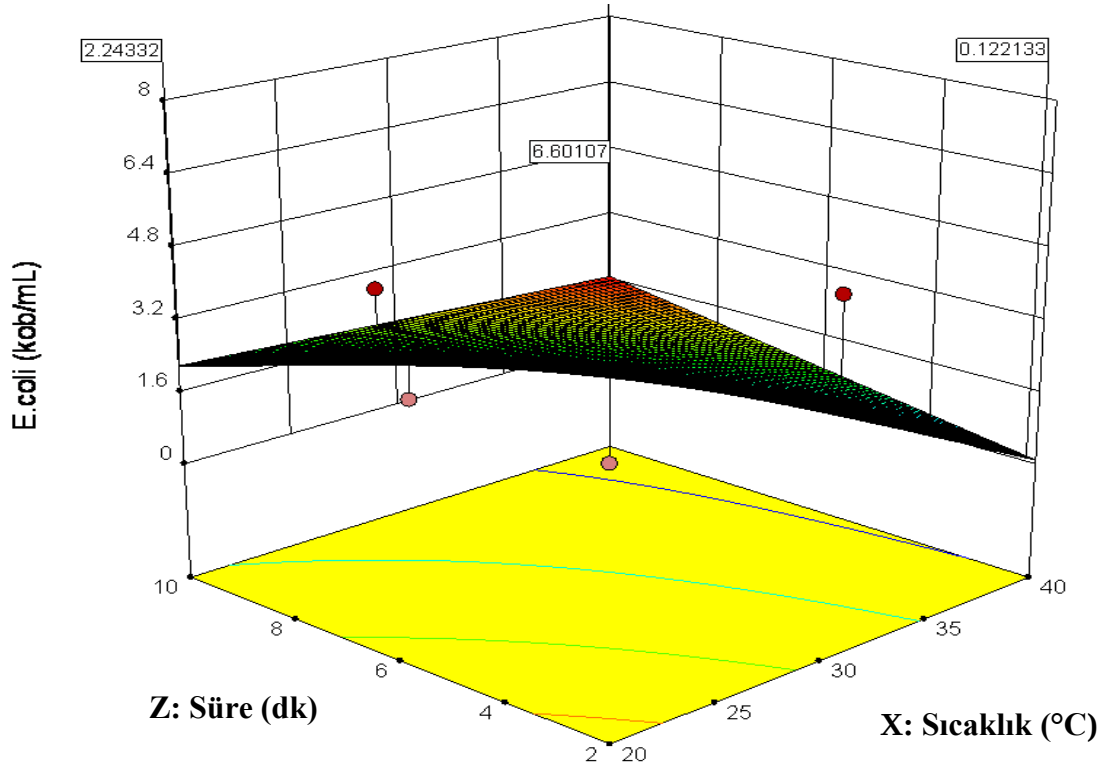
Çizelge 4.16 Ultrasonikasyon sıcaklığı, dalga genliği ve süresinin vişne suyunda *E.coli* O157:H7 inaktivasyonuna etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynağı	S.D.	K.O.	F	R^2
Model	6	16.55	6.28**	0.807
X-Sıcaklık	1	55.70	21.14**	
Y-Genlik	1	12.41	4.71	
Z-Süre	1	16.56	6.29*	
XY	1	4.23	1.61	
XZ	1	7.53	2.86	
YZ	1	2.88	1.09	
Uyum eksikliği	8	2.96		
Hata	1	0.00		
Genel	15			

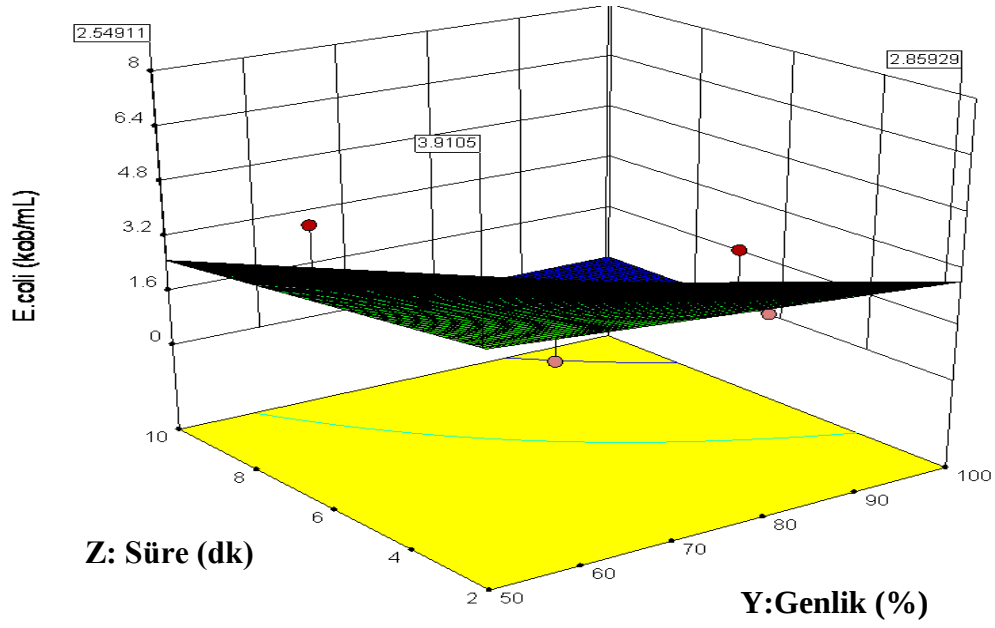
* $P<0.05$,** $P<0.01$

Çizelge 4.16’da ultrasonikasyon sıcaklığı ($P<0.01$) ve ultrasonikasyon süresinin ($P<0.05$) vişne suyunda *E.coli* O157:H7 inaktivasyonu üzerine lineer etkisinin önemli olduğu görülmektedir. Buna karşın; ultrasonik dalga genliğinin lineer etkisi önemli bulunmamıştır ($P>0.05$). Vişne suyunda *E.coli* O157:H7’nin ultrasonikasyon sıcaklığı ve süresine bağlı olarak azaldığı Şekil 4.21’den görülmektedir. Mikrobiyel inaktivasyonda etkili olduğu bilinen sıcaklığın, bu araştırmada da ultrasonikasyon ile

birlikte daha etkin rol oynadığı gözlenmiştir. Nitekim ultrasonikasyon ile sıcaklığın birlikte uygulanmasının sinerjist etki yarattığı belirtilmektedir (Romero ve ark. 2006; Furuta ve ark. 2004). Ultrasonikasyon süresi-dalga genliği etkileşiminin *E. coli* O157:H7 üzerindeki inaktivasyon düzeyi ise önemli bulunmamıştır (Şekil 4.22).

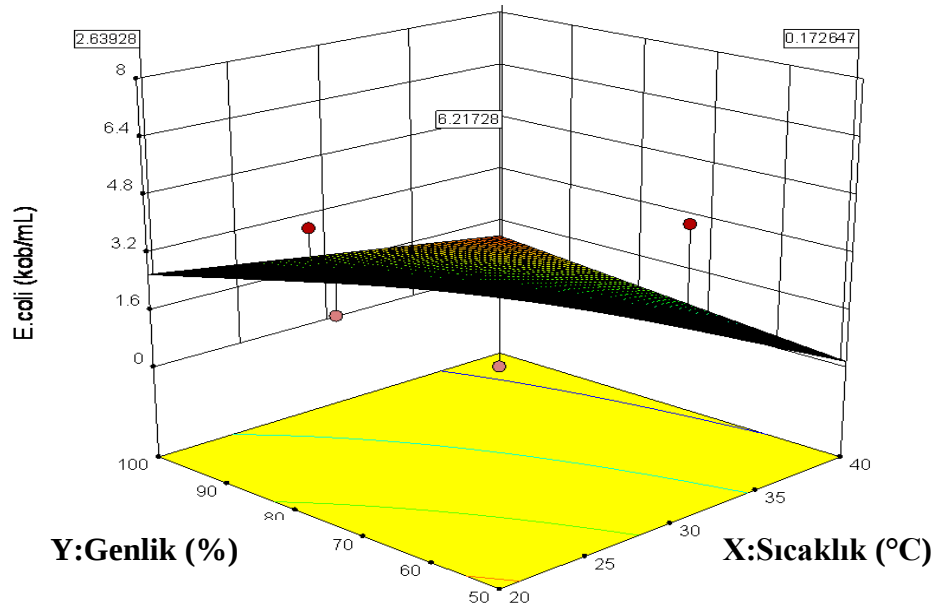


Şekil 4.21 Ultrasonikasyon uygulama süresi ve sıcaklığının vişne suyunda *E.coli* O157:H7 inaktivasyonu üzerine etkisi



Şekil 4.22 Ultrasonikasyon uygulama süresi ve ultrasonik dalga genliğinin vişne suyunda *E.coli* O157:H7 inaktivasyonu üzerine etkisi

Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığının vişne suyunda mikrobiyal inaktivasyonu üzerine etkisinin (Şekil 4.23) de önemli olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$; Çizelge 4.16)



Şekil 4.23 Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığının vişne suyunda *E.coli* O157:H7 inaktivasyonu üzerine etkisi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada; ultrasonikasyon sıcaklığı, ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresinin vişne suyunun çeşitli fiziksel-kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi Merkezi Bileşik Desen (Central Composite Design) kullanılarak Yanıt Yüzey Yöntemine göre tespit edilmiştir. Buna göre elde edilen sonuçlar aşağıda verilmektedir.

- Ultrasonikasyon koşullarının vişne suyunun pH, suda çözünür kuru madde ($^{\circ}\text{Bx}$) ve titrasyon asitliğine önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).
- Ultrasonikasyon uygulama süresinin vişne suyunda L^* değeri üzerine lineer etkisinin önemli olduğu ve zamanla L^* değerinde artış olduğu belirlenmiştir. Bu artışın ultrasonikasyonun polifenoloksidaz enzimini inaktive etmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.
- Ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon sıcaklığının lineer etkileri toplam monomerik antosiyanin miktarı üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.01$). sıcaklığın ve ultrasonik dalga genliğinin artması toplam monomerik antosiyanin miktarında artışa neden olmaktadır. Bu etkinin ultrasonikasyonun ekstraksiyon özelliğinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.
- Ultrasonik dalga genliğinin polimerik renk üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Ayrıca ultrasonikasyon sıcaklığı-ultrasonik dalga genliği, ultrasonikasyon sıcaklığı-ultrasonikasyon süresi ve ultrasonik dalga genliği-ultrasonikasyon süresinin birlikte etkilerinin de önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

- Toplam fenolik madde üzerine ultrasonik dalga genliği ve ultrasonikasyon süresinin etkisinin önemli olmadığı ancak, sıcaklığın etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Sıcaklık artışı toplam fenolik madde miktarında artışa neden olmaktadır. Bunun nedeni olarak ultrasonikasyonun ekstraksiyon etkisi gösterdiği düşünülmektedir.
- Vişne suyunda toplam antioksidan aktivite üzerine ultrasonik dalga genliğinin ve ultrasonik dalga genliği- ultrasonikasyon sıcaklığının birlikte etkilerinin önemli olduğu belirlenmiştir. Ultrasonik dalga genliğinin artırılması antioksidan aktivite değerinde artışa neden olduğu yapılan çalışmada görülmektedir. Bu artışın toplam fenolik madde ve monomerik antosiyanin miktarındaki artışla paralel olduğu görülmüştür.
- Araştırmada mikrobiyolojik olarak *E.coli* O157:H7 inaktivasyonuna bakılmıştır. Bu patojenin gıdalarda bulunması istenmemektedir. Bu nedenle ultrasonikasyonun etkisi incelenmiştir. Ultrasonikasyon sıcaklığının lineer etkisinin *E.coli* inaktivasyonu üzerine önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Ultrasonikasyon sıcaklığı ve ultrasonikasyon süresinin birlikte etkileri *E.coli* düzeyinde azalmaya neden olmuştur. Isıl işlemlerde de sıcaklığın etkisi önemlidir. Fakat, ultrasonikasyon ile kimyasal kalite özellikleri korunurken aynı zamanda mikrobiyel inaktivasyon gerçekleştirildiği gözlenmiştir.

Gelecekte yapılacak çalışmalarda, ultrasonikasyonun etkinliğini arttırmak için uygun engel tekniklerinin kombinasyonlarının bir arada uygulandığı sürekli sistemler geliştirmeli ve bu sistemlerin optimizasyonu konusunda çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKÇA

- Alighourchi, H., Barzegar, M., Sahari, M., & Abbasi, S. (2013). Effect of sonication on anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant capacity of pomegranate juices. *International Food Research Journal*, 20(4), 1703-1709.
- Anonymous. (1991). *Determination of soluble solids (indirect method by refractometry) IFU-Analysis(Nr.8)*. Paris: International Federation of Fruit Producers.
- Anonymous. (2005). *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. (A. Halkman, Dü.) Ankara: Başak Matbaacılık Ltd.Şti.
- Arts, M., Haenen, G., Voss, H., & Bast, A. (2001). Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food and Chemical Toxicology*, (39), 787-791.
- Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilkh, 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(2), 155-160.
- Ataie-Jafari, A., Hosseini, S., Karimi, F., & Pajouhi, M. (2008). Effects of sour cherry juice on blood glucose and some cardiovascular risk factors improvements in diabetic women. *Nutrition & Food Science*, 38(4), 355-360.

- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., & Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, (48), 410-427.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, (99), 191-203.
- Başlar, M. (2011). *Ultrases, Fotosonikasyon ve Vurgulu Elektriksel Alan İşlemlerinin Elma Suyunun Bazı Kalite Özelliklerine Etkisi*. Doktora Tezi, Erzurum Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.
- Bayraktaroğlu, G., & Obuz, E. (2006). Ultrasound Yönteminin İlkeleri ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, (s. 57-60). Bolu.
- Belitz, H., & Grosch, W. (1995). *Food Chemistry*. Heidelberg: Springer Verlag.
- Bermúdez-Aguirre, D., Mawson, R., Versteeg, K., & Barbosa-Cánovas, G. (2009). Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. *Journal of Food Quality*, (32), 283-302.

- Bhat, R., Kamaruddin, N. S., Min-Tze, L., & Karim, A. (2011). Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(6), 1295-1300.
- Bilaloğlu, G. V., & Harmandar, M. (1999). *Flavonoidler*. İstanbul: Aktif Yayınevi.
- Blando, F., Gerardi, C., & Nicoletti, I. (2004). Sour Cherry (*Prunus cerasus* L) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 253-258.
- Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International* , 35, 279-284.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M., Rodríguez, J., & Galán-Vidal, C. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113, 859-871.
- Cemeroğlu, B. (1982). *Meyve Suyu Üretim Teknolojisi*. Ankara: Teknik Basım Sanayii Matbaası.
- Cemeroğlu, B., Velioğlu, S., & Işık, S. (1994). Degradation Kinetics of Anthocyanins in Sour Cherry Juice and Concentrate. *Journal of Food Science*, 59(6), 1216-1219.

- Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing - Food quality assurance and food safety. *Trends in Food Science & Technology*, (26), 88-98.
- Chaovanalikit, A., & Wrolstad, R. E. (2003). Total Anthocyanins and Total Phenolics of Fresh and Processed Cherries and Their Antioxidant Properties. *Food Chemistry and Toxicology*, 1-6.
- Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, (18), 813-835.
- Clifford, M. N. (2000). Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1063-1072.
- Demirdöven, A., & Baysal, T. (2009). The Use of Ultrasound and Combined Technologies in Food Preservation. *Food Reviews International*, (25), 1-11.
- Earnshaw, R. G., Appleyard, J., & Hurst, R. M. (1995). Understanding physical inactivation processes: combined preservation opportunities using heat, ultrasound and pressure. *International Journal of Food Microbiology*, 28, 197-219.
- Ekşi, A., & Özhamamcı, İ. (2009). Chemical composition and guide values of pomegranate juice. *Gıda*, 34(5), 265-270.

- Elvira, L., Duran, C. M., Urréjola, J., & Montero de Espinosa, F. R. (2014). Detection of microbial contamination in fruit juices using non-invasive ultrasound. *Food Control*, 40, 145 – 150.
- Filimon, R. V., Beceanu, D., Niculaua, M., & Arion, C. (2011). Study On The Anthocyanin Content Of Some Sour Cherry Varieties Grown In Iași Area,Romania. *Cercatari Agronomice in Moldova*, 1(145), 81-91.
- Furuta, M., Yamaguchi, M., Tsukamoto, T., Yim, B., Stavarache, C. E., Hasiba, K., & Maeda, Y. (2004). Inactivation of *Escherichia coli* by ultrasonic irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, (11), 57-60.
- Gharas, H. (2009). Polyphenols: food sources, properties and applications - a review. *International Journal of Food Science & Technology*, (44), 2512-2518.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Unit F1.2. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. R. E. Wrolstad, & S. J. Schwartz (Dü) içinde, *In Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (s. 1-13). New York: John Wiley & Sons.
- Guraya, R., Frank, J., & Hassan, A. (1998). Effectiveness of Salt, pH, and Diacetyl as Inhibitors for *E.coli* O157:H7 in Dairy Foods Stored at Refrigeration Temperatures. *Journal Food Protection*, 61(9), 1098-1102.

- Halkman, A., Yılmaz, I., Novier, M., & Erdal, N. (1996). Koli Basili O157:H7. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi*, 290(10), 96-98.
- Harborne, J., & Williams, C. (2001). Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Product Reports*, 18, 310-333.
- Hoover, D. (2000). Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies: Ultrasound. *Journal of Food Science*, (suppl.), 93-95.
- Hua, I., & Thompson, J. (2000). Inactivation of *Escherichia Coli* by Sonication at Discrete Ultrasonic Frequencies. *Pergamon*, 34(15), 3888-3893.
- IFU. (1968). Analysen. *Determination of titratable acidity(Nr.3)*. Zurich, İsviçre: Internationale Fruchsaft Union.
- Jung, Y., & Ellis, L. (2001). Inhibition of tumour invasion and angiogenesis by epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea. *International Journal of Experimental Pathology*, 18(6), 309-316.
- Kang, S., Seeram, N., Nair, M., & Bourquin, L. (2003). Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in ApcMin mice and reduce proliferation of human colon cancer cells. *Cancer Letters*, 194, 13-19.

- Karadeniz, F., Burdurlu, H., Koca, N., & Soyer, Y. (2005). Antioxidant Activity of Selected Fruits and Vegetables Grown in Turkey. *Journal of Agriculture and Forestry*, 29, 297-303.
- Kim, D. O., Heo, H. J., Kim, Y. J., Yang, H. S., & Lee, C. Y. (2005). Sweet and Sour Cherry Phenolics and Their Protective Effects on Neuronal Cells. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 9921-9927.
- Kırca, A., & Özkalp, B. (2003). Piyasada Satılan Vişne Nektarlarının Antosiyanin İçeriği. *GIDA*, 28(1), 55-60.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., & Lee, D. U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*(15), 261-266.
- Koda, S., Miyamoto, M., Toma, M., Matsuoka, T., & Maebayashi, M. (2009). Inactivation of Escherichia coli and Streptococcus mutans by ultrasound at 500 kHz. *Ultrasonics Sonochemistry*(16), 655-659.
- Kuldiloke, J. (2002). Effect of Ultrasound, temperature and pressure treatments on enzyme activity and quality indicators of fruit and vegetable juices. *Doctorate thesis*. Berlin, Germany.: Technischen Universität Berlin.
- Langseth, L. (1995). *Oxidants, Antioxidants and Disease Prevention*. Belgium: ILSI Europe.

- Lee, H., Zhou, B., Liang, W., Feng, H., & Martin, S. E. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* cells with sonication, manosonication,thermosonication, and manothermosonication: Microbial responses and kinetics modeling. *Journal of Food Engineering*(93), 354-364.
- Leighton, T. G. (2007). What is ultrasound? *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, (93), 3-83.
- Leistner, L., & Gorris, L. (1995). Food preservation by hurdle technology. *Trends Food Science Technology*, (6), 41-46.
- Lopez-Malo, A., Jimenez-Fernandez, M., & Palou, E. (2001). Penicillium digitatum spores inactivation by combining thermoultrasonication treatments and antimicrobial agents. *IFT 2001 Annual Meeting Technical Program*, (s. 151).
- MacDougall, D. (2002). *Colour in Food Improving Quality*. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*(79), 727-747.

- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Remensy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans I. review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, (81(Suppl)), 230-242.
- Markakis, P. (1982). *Anthocyanins as Food Colors*. New York: Academic Press.
- Martí, N., Pe'rez-Vicente, A., & Garcí'a-Viguera, C. (2001). Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, (82), 217-221.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, (3), 253-260.
- Masuzawa, N., Ohdaira, E., & Ide, M. (2000). Effects of ultrasonic irradiation on phenolic compounds in wine. *Japanese Journal of Applied Physics*, (39), 2978.
- Mazza, G., & Miniati, E. (1993). *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*. London: CRC Press.
- McClement, D. J. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food ,Science & Technology*, 6, 293-299.

- Miller, N. J., & Rice-Evans, C. (1997). Factors influencing the antioxidant capacity determined by the ABTS' radical cation assay. *Free Radical Biology and Medicine*, (26), 195-199.
- Nikkhah, E., Khaiamy, M., Heidary, R., & Azar, A. (2010). The effect of ascorbic acid and H₂O₂ treatment on the stability of anthocyanin pigments in berries. *Turk J Biol*, (34), 47-53.
- Noveir, M., Doğan, H., & Halkman, A. (2002). Kıymalarda E.coli O157:H7 Aranmasında EZ coli Kiti Kullanımı Üzerine Araştırma. *GIDA*, 27(5), 361-367.
- O'Donnel, C. P., Tiwari, B. K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2010). Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in Food Science & Technology*, (21), 358-367.
- Ordenez, J. A., Aguilera, M. A., Garcia, M. L., & Sanz, B. (1987). Effect of combined ultrasonic and heat treatment (thermoultrasonication) on the survival of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Research*, 54, 61-67.
- Ordenez, J., Sanz, B., Hernandez, P., & Lopez-Lorenzo, P. (1984). A note on the effect of combined ultrasonic and heat treatments on the survival of thermotolerant streptococci. *Journal of Applied Bacteriology*, (54), 175-177.

- Oviasogie, P., Okoro, D., & Ndiokwere, C. (2009). Determination of total phenolic amount of some edible fruits and vegetables. *African Journal of Biotechnology*, 8(12), 2819-2820.
- Pagan, R., Manas, P., Alvarez, I., & Condon, S. (1999). Resistance of *Listeria monocytogenes* to ultrasonic waves under pressure at sublethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures. *Food Microbiology*, 16, 139-148.
- Patist, A., & Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 147-154.
- Pehlivan, M., & Güleriyüz, M. (2004). Ahududu ve Böğürtlenin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Bahçe*, 33(1-2), 51-57.
- Phull, S., Newman, A., Lorimer, J., Pollet, B., & Mason, T. (1997). The Development and Evaluation of Ultrasound in the Biocidal Treatment of Water. *Ultrasonics Sonochemistry*, (4), 157-164.
- Pingret, D., Fabiano-Tixie, A. S., & Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, (31), 593-606.

- Piyasena, P., Mohareb, E., & McKellar, R. C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review*, *International Journal of Food Microbiology*, (87), 207-216.
- Proteggente, A., Pannala, A., Paganga, G., Buren, L., Wagner, E., Wiseman, S. and Rice-Evans, C. (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radicals Research*, (36), 217-233.
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152-159.
- Romero, E., Feng, H., Martin, S., Cadwallader, K., & Robinson, S. (2006). Inactivation of *Escherichia coli* with Power Ultrasound in Apple Cider. *Journal of Food Science*, (71), 102-108.
- Saldamlı, İ. (2007). *Gıda Kimyası*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları.
- Salleh-Mack, S. Z., & Roberts, J. S. (2007). Ultrasound pasteurization: The effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922. *Ultrasonics Sonochemistry*, (14), 323-329.
- Sanz, P., Palacios, P., Lopez, P., & Ordinez, J. A. (1985). Effect of ultrasonic waves on the heat resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores. *Fundamental and Applied Aspects of Bacterial Spores*, 251-259.

- Serafini, M., Bellocco, R., Wolk, A., & Ekström, A. (2002). Total Antioxidant Potential of Fruit and Vegetables and Risk of Gastric Cancer. *Gastroenterology*, 123, 985-991.
- Shahidi, F., & Naczk, M. (1995). *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications*. Lanchester, USA: Technomic Publishing Company.
- Shipp, J., & Abdel-Aal, S. (2010). Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *The Open Food Science Journal*, (4), 7-22.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(1), 44-58.
- Soria, A. C., & Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science & Technology*, (21), 323-331.
- Tarr, P. (1995). Escherichia coli O157:H7: Clinical, Diagnostic, and Epidemiological Aspects of Human Infection. *Clinical Infectious Diseases*, 20(1), 1-8.
- Tiwari, B., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C., & Cullen, P. (2008). Effects of sonication on the kinetics of orange juice quality parameters. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56(7), 2423-2428.

- Tiwari, B., O'Donnell, C., Patras, A., Brunton, N., & Cullen, P. (2009). Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage. *European Food Research and Technology*, 228(5), 717-724.
- Tiwari, B., O'Donnell, C., & Cullen, P. (2009). Effect of non thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 137-145.
- Ulusoy, B. H., Çolak, H., & Hampikyan, H. (2007). The use of ultrasonic waves in food technology. *Research Journal of Biological Sciences*, 2(4), 491-497.
- Valero, M., Recrosio, N., Saura, D., Munoz, N., Martí, N., & Lizama, V. (2007). Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*, (80), 509-516.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables and Grain Products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, (46), 4113-4117.
- Villamiel, M., van Hamersveld, E., & de Jong, P. (1999). Review: effect of ultrasound processing on the quality of dairy products. *Milchwissenschafts*, (54), 69-73.
- Wanasundara, P., Shahidi, F., & Shukla, V. K. (1997). Endogenous antioxidants from oilseeds and edible oils. *Food Reviews International*, 13(2), 225-292.

- Wang, H., Cao, G., & Prior, R. (1996). Total Antioxidant Capacity of Fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 701-705.
- Wong, E., Perez, A. M., & Vaillant, F. (2008). Combined affect of osmotic pressure and sonication on the reduction of Salmonella Spp. in concentrated orange juice. *Journal of Food Safety*, (28), 499-513.
- Wrolstad, R., Durst, R., & Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*, (16), 423-428.
- Wu, X., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S., & Prior, R. (2006). Concentrations of Anthocyanins in Common Foods in the United States and Estimation of Normal Consumption. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, (54), 4069-4075.
- Yıldız, H., & Baysal, T. (2007). Bitkisel Fenoliklerin Kullanım Olanakları ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 29-35.

ÖZGEÇMİŞ

İsim, Soyisim : Tuğba TÜRKEN

Sürekli Adres : Şerefiye Mah. Süleyman Kuyumcu Cad. Yavuz Apt.
90/8, DÜZCE

Son aldığı derece ve yılı : Yüksek lisans, 2014

Doğum Yeri ve Yılı : DÜZCE, 07. 09. 1989

Orta Öğretimi : Arsal Anadolu Lisesi, DÜZCE, 2007

Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üniversite Öğrenimi

Yıllar

Yüksek lisans	2012-2014
Lisans	2007-2011

İŞ TECRÜBESİ

Onur Plastik Ltd. Sti (Stajyer)	Temmuz, 2009
Ferrolı A.Ş. (Stajyer)	Temmuz, 2010
Oyak Bolu Çimento A.Ş. (Stajyer)	Şubat, 2011