



**UV Işın Yayan Diyotların (UV-LEDs) Taze Sıkılmış Elma
Suyunun Pastörizasyonunda Alternatif Bir Teknoloji Olarak
Kullanılabilirliğinin Araştırılması**

Program Kodu: 1002

Proje No: 113O200

Proje Yürütücüsü:
Doç. Dr. Sevcan ÜNLÜTÜRK

Bursiyer:

Merve Pelvan AKGÜN

OCAK 2014
ANKARA



ÖNSÖZ

Meyve suları, taze, olgun ve sağlıklı meyvelerden elde edilen fermente olmamış ancak fermente olabilen ürünlerdir. Ayrıca çok iyi bir vitamin ve mineral kaynağı oldukları bilinmektedir. Meyve sularının işlenmesinde en iyi bilinen muhafaza tekniği ısı pastörizasyondur. Ancak bu yöntemin, meyve suyu kalitesi üzerine olumsuz etkileri olduğu da bilinmektedir. Bu nedenle meyve suyunun duyu özelliklerini bozmayan ve taze sıkılmış özelliğini koruyabilen, ısı olmayan alternatif işleme teknikleri araştırılmaktadır. Bunlardan biri de UV-C ışınlama yöntemidir. UV-C ışınlama işlemi FDA tarafından 2000 yılında taze sıkılmış meyve suyu pastörizasyonu için uygulanabilecek alternatif bir yöntem olarak kabul edilmiştir (Koutchma, 2009). Bu yöntemde UV-C ışın kaynağı olarak düşük basınçlı civa buharlı lambalar kullanılmaktadır. Ancak bu lambaların sahip olduğu bazı dezavantajlar vardır. Bu dezavantajlar; lambaların büyük ve kırılabilir olması, toksik bir madde olan ve en önemli çevre bulaşanlarından biri olan civa içermesi, çalışmak için yüksek enerji gerektirmeleri, kısa ömürlü olmaları (4000-10000 saat) olarak sayılabilir. Ayrıca yaydıkları 254 nm dalga boyundaki ışığın enzimler üzerinde etkisinin çok az olduğu beyan edilmiştir (Tran ve Farid, 2004; Noci vd., 2008). Son yıllarda, UV-C ışık yayan düşük basınçlı civa buharlı lambaların sahip olduğu bu dezavantajların üstesinden gelmek üzere UV ışın yayan diyotlar (UV-LED lambalar) geliştirilmiştir.

Bu projede, UV-LED lambaların kullanıldığı ışınlama teknolojisinin, taze sıkılmış elma suyuna uygulanması, mikrobiyal etkinliğinin, enzim inaktivasyonu ve bazı kalite parametreleri üzerine olan etkisinin incelenmesi dolayısıyla ile soğuk pastörizasyon olarak meyve sularına uygulanabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda UV-LED lambaların taze sıkılmış elma suyunda ve kombine edilen dalga boylarında mikrobiyal güvenliği sağlayıp sağlamadığı tespit edilmiş, ürün kalitesi açısından sorunlara neden olan enzimlerin ısı olmayan bu yeni teknikle ne oranda inaktive edilebildiği ortaya konmuş, kullanılan teknolojinin elma suyunun bazı kalite kriterlerine (renk, askorbik asit içeriği) ve raf ömrü üzerine olan etkisi incelenmiştir.

Bu araştırma projesi Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Konseyi (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiş ve İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir (Proje No: TOVAG-113O200).



İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. Meyve Suyu.....	4
2.1.1. Meyve Suyu Kompozisyonu.....	4
2.1.2. Meyve Suyu Tüketiminin Önemi.....	5
2.2. Meyve Suyu Üretimi.....	5
2.3. Meyve Suyunun Bozulma Nedenleri.....	9
2.3.1. Meyve Suyunda Önemli Enzimler.....	9
2.3.2. Meyve Suyu Kalitesine Etki Eden Mikroorganizmalar.....	10
2.4. Meyve Suyu Pastörizasyonu.....	11
2.4.1. Termal (Isıl) Pastörizasyon.....	11
2.4.2. Isıl Olmayan Alternatif Teknikler.....	12
2.4.3. UV-C Işınlama İşlemi ve UV Işın Yayan Diyotlar (UV-LEDs).....	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Elma Suyu Eldesi.....	16
3.2. Taze Sıkılmış Bulanık Elma Suyunun Fiziksel, Kimyasal ve Optik Özellikleri.....	16
3.3. Mikrobiyolojik Analizler.....	17
3.4. Enzimatik Analizler.....	18
3.5. UV-LED İşlemi.....	18
3.5.1. UV-LED Sistem Tasarımı.....	18
3.5.2. UV Dozun Belirlenmesi.....	19
3.5.3. Termal Pastörizasyon Parametrelerinin Belirlenmesi.....	20
3.5.4. Mikrobiyal İnaktivasyon Çalışmaları için Deney Tasarımı.....	20
3.5.5. Re-aktivasyon Denemeleri.....	21
3.6. Depolama Çalışmaları.....	21
3.7. İstatistiksel Analizler.....	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	22
4.1. Taze sıkılmış Bulanık Elma Suyunun Fiziksel, Kimyasal ve Optik Özellikleri.....	22
4.2. UV-LED Işınlmasının Mikrobiyal İnaktivasyon Etkinliği.....	24
4.3. UV-LED Işınlmasının Enzim İnaktivasyon Etkinliği.....	29
4.4. Depolama Sırasında Elma Suyunda Meydana Gelen Değişimler.....	31



5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	34
TEŞEKKÜR.....	35
KAYNAKLAR.....	36



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Berrak elma suyu üretim şeması.....	8
Şekil 2. UV radyasyon bölgesi grupları.....	12
Şekil 3. UV-LED ünitesi.....	18
Şekil 4. Termal pastörizasyon sistemi.....	20
Şekil 5. 254 nm dalga boyunda kullanılan UV-LED lambaların (4 lamba) <i>E. coli</i> K12 üzerine etkisi.....	25
Şekil 6. UV-LED işlemleri uygulanmış (280 m, 40 dk.) elma suyu örneklerinde bulunan <i>E. coli</i> K12 hücrelerinin reaktivasyon grafiği.....	29



TABLolar LİSTESİ

Tablo	Sayfa
Table 1. Meyve suyunun bozulma nedenleri.....	9
Tablo 2. Taze sıkılmış bulanık elma suyu örneklerinin fiziksel, kimyasal ve optik özellikleri.....	23
Tablo 3. Pastörize elma suyu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri.....	23
Tablo 4. UV intensite ve UV doz değerleri.....	26
Tablo 5. Farklı UV-LED ışınlarının bulanık elma suyuna inoküle edilen <i>E. coli</i> K12 sayısında meydana getirdiği logaritmik azalma (kob/mL) değerleri.....	27
Tablo 6. 280 nm ve 280-365 nm UV-LED ışınlarının bulanık elma suyuna inoküle edilen <i>E. coli</i> K12 sayısında meydana getirdiği logaritmik azalma (kob/mL) değerleri.....	28
Tablo 7. Termal pastörizasyon ve UV-LED ışınlama işlemlerinin PPO enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	30
Tablo 8. Depolama sırasında renk, askorbik asit ve PPO enzim aktivitesindeki değişim.....	32
Tablo 9. Depolanan elma suyu örneklerinin mikrobiyal stabilitesi.....	33

ÖZET

Bu proje kapsamında, UV-LED lamba ışınlarının taze sıkılmış bulanık elma suyunun (ES) pastörizasyonunda alternatif bir teknoloji olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Projenin ilk aşamasında UV-LED lambaların kullanıldığı masa üstü statik bir ünite tasarlanıp yaptırılmıştır. “Starking Delectious çeşidi” elmalardan elde edilen elma suyu örneklerinin fiziksel, kimyasal ve optik özellikleri (pH, suda çözünür kuru madde (°Brix), bulanıklık (NTU), renk (L^* , a^* , b^*), absorbans katsayısı (cm^{-1}), toplam asitlik, ve askorbik asit içeriği belirlenmiştir. $24,712_{280\text{nm}}$ ($19,184_{254\text{nm}}$) absorbans katsayısına ve 908,5 NTU bulanıklık değerine sahip bulanık elma suyu, 280 nm ve 254 nm dalga boylarına sahip 4 adet UV LED lamba kullanılarak 40 dakika boyunca UV ışınlarına maruz bırakılmıştır. 280 nm dalga boyuna sahip lambalar kullanıldığında, pastörize edilmiş bulanık elma suyuna inoküle edilen *E. coli* K12 suşunda maximum 2,0 log azalma ($771,6 \text{ mJ/cm}^2$ UV dozda) sağlandığı, 254 nm dalga boyunda lambalar kullanıldığı durumda ise maximum 1,64 log azalma (708 mJ/cm^2 UV dozda) sağlanmıştır. 280/365 nm kombine dalga boyunda uygulanan UV işlemi, elma suyundaki polifenoloksidaz enziminin %66,19`ını inaktive edebilmişken, 254 nm ve 280 nm`de uygulanan UV işlemi %29,53 ve %43,65 oranında bir inaktivasyon sağlamıştır. Reaktivasyon denemeleri sonucunda, oda sıcaklığında ve gün ışığına maruz kalan elma suyunda, proses sonrası (280/365 nm, 40 dak.) zarar gören *E. coli* hücrelerinin sayısı, 4 saat sonunda sadece % 15,68 artmıştır. UV işlemine tabii tutulan elma sularının mikrobiyal raf ömrü maximum 14 gün iken kontrol örnekleri 7 gün içinde bozulmuştur. Pastörize edilen örneklerde ise mikrobiyal gelişme olmamıştır. Kontrol, UV işlemine tabii tutulmuş ve pastörize edilmiş örneklerin renk değerleri arasında önemli farklılık olduğu görülmüş ancak depolama süresi boyunca (14 gün) örneklerin renk değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir ($p<0,05$). Aynı şekilde örneklerin polifenoloksidaz enzim aktivitesinde depolama süresince önemli bir farklılık tespit edilmemiştir ($p<0,05$).

Kullanılan az sayıdaki lamba ve seçilen işlem parametreleri ile önerilen UV-LED teknolojisinin 254 nm de yapılan UV-C ışınlama işleminden farklı olarak enzimler üzerinde etkin olduğu ortaya konmuştur. Bulanık meyve suyu pastörizasyonu için 5 log azalmanın sağlanacağı ve aynı zamanda besin kalitesinin en fazla oranda korunacağı bir UV-LED sistem tasarımına gidilmesi ve/veya ılımlı ısı işlem ile kombine edilmesi, berrak meyve suyunda benzer denemelerin tekrar edilmesi bir sonraki çalışma konuları olarak önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: UV-LED, meyve suyu, mikrobiyal inaktivasyon, enzim inaktivasyonu, renk, askorbik asit, raf ömrü

ABSTRACT

Under this project, the UV-LED lamp rays has been researched as an alternative technology to pasteurization of freshly squeezed apple juice (ES).

In the first phase of the project, a static table-top unit which uses UV-LED lamps was designed and built. Physical, chemical and optical properties (pH, soluble solids ($^{\circ}$ Brix), turbidity (NTU), color (L^* , a^* , b^*), the absorbance coefficient (cm^{-1}), total acidity, and ascorbic acid content) of apple juice samples obtained from "Starking Delectious variety" apples were determined.

The cloudy apple juice having 24,712_{280nm} (19.184_{254nm}) absorbance coefficient and 908.5 NTU turbidity was exposed to UV rays for 40 min by using UV-LED lamps having wavelengths of 280 nm and 254 nm. When 280 nm lamps used, maximum 2.0 log reduction (at 708 mJ/cm^2 UV dose) was achieved in pasteurized cloudy apple juice inoculated with *E. coli* K12, in the case where 4 lamps at 254 nm wave length were used, the maximum 1.64 log reduction (at 708 mJ/cm^2 UV dose) was achieved. Polyphenoloxidase enzyme in apple juice was inactivated by 66.19% after a UV process performed at a 280/365 nm wavelength. On the other hand 29.53% and 43.65% inactivation rates were provided following a UV process carried out at 254 nm and 280 nm. As a result of reactivation experiments performed at room temperature and daylight, the number of *E. coli* cells damaged during processing (280/365 nm, 40 min.) increased to 15.68% after 4 hours. The microbial shelf life of UV-treated apple juice was extended up to 14 days, while control samples were degraded within 7 days. No microbial growth was observed in the pasteurized samples. The significant change was found between the color values of control, UV-treated, and pasteurized samples but no differences were obtained between these values during storage period (14 days) ($p < 0.05$). Likewise, polyphenol oxidase activity of the samples during the storage period was not differ significantly ($p < 0.05$).

The proposed UV-LED technology used with a small number of lamp and selected process parameters has been shown to be effective on enzymes unlike UV-C irradiation applied at 254 nm. The new design of a UV-LED pasteurization system or a system combined with mild heat treatment providing a 5 log reduction and high nutritional quality in turbid fruit juices and the similar experiments that will be carried out with the clear juice are purposed as next study subjects.

Key Words: UV-LEDs, fruit juices, microbial inactivation, enzyme inactivation, color, ascorbic acid, shelf life



1. GİRİŞ

T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezinin 2007 verilerine göre Türkiye'deki meyve suyu tüketimi 1994 ve 2004 yılları arasında %90 artmıştır ve kişi başına tüketim miktarı 2006 yılı için 6,4 L olarak açıklanmıştır. 2010 yılında ise kişi başına düşen ortalama meyve suyu tüketimi 12 L civarına ulaşmıştır. Özellikle çok küçük, yaşlı ve hasta kişiler için meyve yemeğe alternatif olarak meyve suyu içmek daha kolaydır. Meyve suyu tüketiminin, içerdiği antioksidan maddelerden ötürü kronik hastalık riskini azalttığı, Alzheimer hastalığı oluşumunu geciktirdiği, LDL (düşük dansiteli lipoprotein) oksidasyonunu yavaşlattığı, damarlarda plak birikimini önlediği ve koroner damar hastalıklarının oluşumuna ve ilerlemesine engel olduğu bilinmektedir (Stein vd., 1999; Borenstein vd., 2005; Keevil vd., 2000). Bütün bu sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı taze sıkılmış meyve sularına olan ilgi son yıllarda artmıştır. Ancak bu da beraberinde pastörize olmamış meyve suyu tüketiminden kaynaklanan pek çok salgın hastalığın görülmesine neden olmuştur (Foley vd., 2002). Önceleri, meyve sularının yüksek asitliğinden ötürü mikrobiyal açıdan güvenli olduğuna inanılsa da son yıllarda yaşanan *Salmonella* ve *Escherichia coli* O157:H7 salgınları, asidik meyve sularının da patojenik mikroorganizma taşıyabilme potansiyelini göstermiştir (Cook vd., 1998). Bu patojenleri yok etmek ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların (örn. laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri, mayalar ve küfler) sayısını azaltmak, bununla birlikte meyve suyu kalitesine etki eden enzimlerin inaktivasyonunu sağlamak için en iyi bilinen teknik, termal pastörizasyondur. Ayrıca meyve sularında kaliteye olumsuz etki eden polifenoloksidaz (PPO), peroksidaz (POD) ve pektinmetilesteraz (PME) enzimlerinin de inaktive edilmesi gerekmektedir (Marselle's-Fontanet vd., 2009). Meyve suları için ısı pastörizasyon kriterleri 90-95°C'de 15-60 sn arasında değişmektedir (Cemeroğlu, 2004). Ancak bu derece yüksek sıcaklık uygulaması, ürünün kalite unsurlarında (renk, tat, aroma) sorunlara neden olmaktadır (Aguilar-Rosas vd., 2007, Choi ve Nielsen, 2004).

Tüketicilerin taze ürüne benzer nitelik gösteren ürünlere karşı artan eğilimi araştırmacıları alternatif işleme teknikleri geliştirmeye itmiştir (Tahiri vd., 2006; Basaran-Akgul vd., 2009). Termal pastörizasyona alternatif olarak uygulanan ısı olmayan teknolojilerden biri de UV-C ışınlama işlemidir. UV-C ışınlamanın inaktivasyon mekanizması, UV fotonlarının genetik materyal tarafından absorpsiyonuna ve sonuç olarak da hücrenin replikasyonunu ve transkripsiyonu inhibe eden dimerlerin oluşumuna dayanır (Oguma vd., 2002; Bolton vd., 2003; Koutchma 2009). UV-C ışığının antimikrobiyal etkisi çok iyi bilinmektedir ve bu yöntem hastanelerin, su kaynaklarının, içme sularının, meyve sularının ve



farklı meyvelerin yüzey dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır (Begum vd., 2009; Pan vd., 2004; Bintsis vd., 2000; Nigro vd., 1998).

UV-C ışınlamada kullanılan lambalar genellikle düşük veya orta basınçlı cıva buharlı lambalar olup 254 nm dalga boyunda ışık yaymaktadırlar. Bu lambalar, çevre ve insan bedeni için toksik olduğu bilinen cıva içermektedir. Bu yüzden daha düşük enerji tüketimine sahip, sağlığa zararlı maddeler içermeyen ve çeşitli boyutlarda olabilecek yeni sterilizatörlerin tasarlanması gerekmektedir. Dolayısı ile UV ışın yayan diyotların (UV-LED lambalar) sterilizasyon veya dezenfeksiyon amacıyla kullanımı yeni bir yaklaşımdır. UV-LED'ler oldukça sıkıştırılmış, darbeye dayanıklı, sağlam bir dizayna sahiptir. Küçük olmalarından ötürü yerden tasarruf sağlarlar ve küçük ya da dar alanların sterilizasyonunda kullanılabilirler. UV-C lambaların aksine, UV-LED'lerin etkin hale gelmesi için bir ısınma süresine gerek duyulmaz. UV-LED'lerin enerji tüketiminin de az olduğu bildirilmektedir. UV lambalarda olduğu gibi bir ısınma süresine gerek olmadığından dolayı ömürlerinin oldukça uzun olduğu ve 100000 saati geçtiği beyan edilmektedir. En önemlisi, UV-LED'ler insan sağlığına ve çevreye zararı olan toksik maddeler içermezler. Tek bir dalga boyunda UV ışını üretirler. Ayrıca, UV'nin farklı bölgelerindeki dalga boylarında ışık yayan LED'lerin bir arada kullanılması imkanı vardır. Her dalga boyunun hücre üzerinde farklı etkileri olduğu bilinmektedir. Farklı dalga boyundaki UV-LED lambaların birarada kullanılması ile meyve sularında problem oluşturan enzimler (Polifenoloksidaz (PPO) vb.), UV-C işleminde kullanılan 254 nm deki UV lambalara nazaran, daha yüksek oranda inaktive edilebilecektir.

UV-LED teknolojisi, son yıllarda, içme ve atık sulardaki mikrobiyal ve kimyasal kirliliği yok etmek amacıyla yönelik olarak denenmeye başlanmıştır. Literatürde bu alanda yapılan az sayıda çalışma bulunmakla birlikte, meyve suyu işlemeye yönelik uygulaması bulunmamaktadır.

Bu projede, UV-LED lambaların kullanıldığı ışınlama teknolojisinin, taze sıkılmış bulanık elma suyuna uygulanması, mikrobiyal etkinliğinin, enzim inaktivasyonu ve bazı kalite parametreleri üzerine olan etkisinin incelenmesi dolayısı ile soğuk pastörizasyon olarak meyve sularına uygulanabilirliğinin araştırılması amaçlanmaktadır. Bu proje kapsamında ilk aşamada bir adet statik UV-LED ünitesi tasarlanıp yaptırılmıştır. Tasarımda farklı dalga boylarına sahip (254, 280, 365 ve 405 nm) diyotlar (UV-LED lambalar) kullanılmıştır. İkinci aşamada elma suyu örneklerinin fiziksel, kimyasal ve optik özellikleri belirlenmiştir. Üçüncü aşamada ise mikrobiyal inaktivasyon ve enzim inaktivasyonu için uygun proses parametreleri (işlem süresi, dalga boyu kombinasyonu ve doz) belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, mikrobiyal etkinliğini incelemek için pastörize edilmiş elma suyu örnekleri belirli oranda *E. coli* O157:H7 nin patojen olmayan *E. Coli* K12 surrogate suşu ile inoküle edilmiş ve belirli süre ve dozda UV-LED ışınlarına maruz bırakılmıştır. Dördüncü aşamada enzim (PPO enzimi)



inaktivasyonu taze sıkılmış ve pastörize olmamış örneklerin oda sıcaklığında UV-LED ışınlarına belirli süre maruz bırakılması ile ortaya konmuştur. Son aşamada ise UV-LED ışınlarının depolama süresi boyunca elma suyunun renk, askorbik asit içeriği ve PPO enzimi üzerindeki etkisi incelenmiş, taze sıkılmış bulanık elma suyunun mikrobiyal kalitesi takip edilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Meyve Suyu

Meyve suyu, taze, olgun ve sağlıklı meyvelerden elde edilen fermente olmamış ancak fermente olabilen bir üründür. Tek bir meyve veya karışık meyve türleri kullanılarak üretilir. Meyve suyu yapıldığı meyvenin özelliklerini taşır (Türk Gıda Kodeksi, 2006).

Meyve suları, berrak meyve suları, bulanık meyve suları ve nektarlar olarak üç gruba ayrılabilir. Meyve suyu doğrudan meyveden elde edilebileceği gibi, konsantresinin daha önce uzaklaştırılan miktarda ve meyve suyunun ana bileşimini ve kalite özelliklerini önemli ölçüde etkilemeyen, içilebilen özellikteki su ile seyreltilmesi ve konsantrasyon sırasında ayrılan uçucu aroma maddelerinin katılması ile de hazırlanır. Meyve nektarı, meyve suyu konsantresi, meyve suyu, meyve püresi konsantresi, meyve püresi veya bunların karışımına meyve oranı hammaddenin niteliğine göre %35-50 arasında değişen miktarlarda su, şeker ve asit katılması ile elde edilen fermente olmamış içecektir.

2.1.1. Meyve Suyu Kompozisyonu

Meyve suyunun ana bileşeni sudur. Diğer en yaygın bileşenleri arasında sukroz, fruktoz, glikoz ve sorbitol içeren karbonhidratlar bulunur. Ayrıca, sınırlı miktarda protein ve mineral içerir. Dışarıdan eklenmediyse lif içeriği çok düşüktür (American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition, 2001).

Meyve suyunun kalitesinde organik asit profilinin önemi büyüktür. Örneğin üzümde toplam asitliğin % 90'ını oluşturan organik asitler, tartarik ve malik asitlerdir (Soyer vd., 2003). Elmada ise en çok malik asit bulunmaktadır.

Meyve suları, askorbik asit (C vitamini) açısından önemli bir kaynak olarak bilinir. Özellikle turunçgil suları askorbik asit, folik asit, B1 vitamini, tiamin ve potasyum için iyi birer kaynaktır. Dilimlere bölünmüş 100 gr taze elma ise 0,2 gr protein; 14,5 gr karbonhidrat; 0,6 gr yağ; 1,8 gr lif; 10 mg fosfor; 7 mg kalsiyum; 0,3 mg demir; 1 mg sodyum; 110 mg potasyum; 8 mg magnezyum; 90 IU A vitamini; 0,03 mg B1 vitamini; 0,02 mg B2 vitamini; 0,1 mg B3 vitamini; 0,3 mg B6 vitamini; 0,5 µg folik asit; 10 mg C vitamini ve 0,7 mg E vitamini içerir. Ama, türlere göre büyük değişkenlik gösteren elmanın besin değerleri de çok farklıdır. Örneğin, yeşil ya da sarı renkli elmalarda C vitamini oranı, kırmızı elmadakinden fazladır (Türkçebilgiorg, 2014).

Türkiye, elma üretimi ve elma suyu konsantresi işleme açısından önemli bir ülkedir. Elma suyuna işlenen başlıca çeşitler Amasya, Golden ve Starking olup Amasya elması, özellikle asit ve şeker dağılımı ile diğer çeşitlerden ayrılmaktadır (Ekşi ve Karadeniz, 1991).

2.1.2. Meyve Suyu Tüketiminin Önemi

Bates vd. (2001) meyve suyu ve ürünleri için küresel pazarı 1990'ların başında yaklaşık 50 milyar litre olarak tahmin etmiştir. Türkiye'de meyve suyu üretimi 1994 ve 2004 yılları arasında yaklaşık % 90 artmıştır. Türkiye'de 2006 yılında meyve suyu ortalama tüketim oranı 6.4 L / kişi iken, ABD bu oranın 35 L / kişi olduğu bildirilmiştir (Akdağ, 2011).

Son yıllarda, meyve suyu tüketimi besin değeri ve getirdiği ek sağlık yararları nedeni ile artış göstermektedir. Özellikle bebek, yaşlı ve sağlıklı olmayan insanlar için meyve yemek yerine meyve suyu içmek daha kolaydır. Aynı zamanda, sıvı gıdaların işlenmesi katı ürünlere nazaran daha kolaydır. Bu tip ürünlerde, ürün güvenliği ve kalite gereksinimleri kolayca karşılanabilmektedir (Bates vd., 2001).

Meyve ve sebzeler, fenol ve karotenoid gibi antioksidanlar içermektedir. Bu fitokimyasallar oksidatif zararları önler ve kronik hastalıkların riskini azaltır. Düşük meyve ve sebze alımının kanser riskini iki kat artırdığı iddia edilmektedir. Meyvelerin yemek borusu, ağız boşluğu ve gırtlak kanserlerinin önlenmesi üzerinde koruyucu etkileri olduğu bulunmuştur (Li vd., 2008).

Alzheimer hastalığının (AD) beyinde reaktif oksijen türlerinin birikimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Meyve ve sebze sularında yüksek miktarlarda bulunan polifenollerin, beyindeki oksidatif stresi azalttığı ve AD hastalığının başlamasını geciktirdiği ortaya konmuştur (Borenstein vd., 2005). Nicklas vd., (2008) % 100 meyve suyu tüketiminin vücutta besin alımını kolaylaştırdığını göstermiştir. Aynı zamanda 2-11 yaş arasındaki çocuklarda fazla kiloya neden olmadığında ortaya koymuşlardır (Nicklas vd., 2008).

2.2. Meyve Suyu Üretimi

Meyve suyu yapımında başlıca işlem aşamaları; ayıklama, yıkama, sınıflama (tasnif), sap ayırma, çekirdek çıkarma, meyvenin parçalanması, mayşenin ısıtılması, presleme, durultma, filtrasyon, pastörizasyon olarak sıralanabilir.

Fabrikaya gelen meyveler önce içindeki yaprak, sap gibi yabancı maddeler ile çürük, ezik ve küflü olanlarından ayrılır. Bu arada ham olanların da seçilmesi gerekir. Ayıklama yürüyen bantlarda işçiler tarafından yapılır. Yıkama, ürünün toz, toprak, yaprak ve kırıntılarının uzaklaştırılması için yapılır. Bu arada ayrıca mikroorganizma yükü de azalır. Genelde meyvenin 2-3 kat kadar yıkama suyu hesaplanır. Su sıcaklığı arttıkça yıkamada etki artsa da, aroma kaybının önlenmesi için su sıcaklığının 35 derecenin altında tutulması gerekir. Yıkama makinelerinde püskürtme ve çalkalama düzenli olmalıdır. Konserve yapımında olduğu gibi dikkatli bir sınıflama olmasa bile örneğin turunçgillerde iriliğe göre bir ayırma yapmak gerekir.

Üzüm, vişne v.s. gibi zorunlu olarak saplari ile elde edilen meyvelerin saplari, işlenmeden önce özel makinelerde ayrilir. Aksi halde saptan geçerek fenollü maddeler ve klor gibi bileşikler meyve suyunun tadini bozar. Çekirdek çıkarma işlemi, sadece pulpa işlenecek şeftali, kayisi ve erik gibi sert çekirdekli meyvelere uygulanir. Meyvenin parçalanması özel meyve değirmenlerinde yapilir. Meyve değirmenleri, işlenen meyve çeşidine göre farklı yapılarıdır. Domates ve yumuşak meyveler döner bıçaklarda, elma gibi sert meyveler de özel kıyma makinelerin da parçalanir. Meyvelerin öğütülmesi çok ince olursa presleme ve durultma güçleşir, kaba olursa da meyve suyu randımanı düşer. Bu nedenle bu işlem itina ile yapilir.

Berrak meyve suyu üretiminde, ısıtılan mayşe 50°C'ye kadar soğutulur ve içine pektolitik enzimler katılarak pektinler parçalanir. Böylelikle hem daha berrak meyve suyu elde edilir, hem de renk maddelerinin suya geçmesi kolaylaşir. Isıtma işlemi, 85–87°C'lerde 2–3 dakika yapilir. Ancak berrak meyve suyuna işlenecek mayşe ısıtılmaz.

Parçalanmış meyveye mayşe denir. Mayşenin ısıtılması ile enzimler inaktif hale getirilir, böylece meyve suyu randımanı artar. Isıtılan renkli üzüm, vişne gibi meyvelerin kabuklarındaki renk maddeleri meyve suyuna geçer. Mikroorganizma yükü de artar. Presleme ile mayşedeki sıvı faz, meyve suyu olarak ayrilir. Presler, paketli, pnomatik, vidalı veya bant tipi olabilir. Sadece turunçgil presleri biraz farklı yapılmıştır.

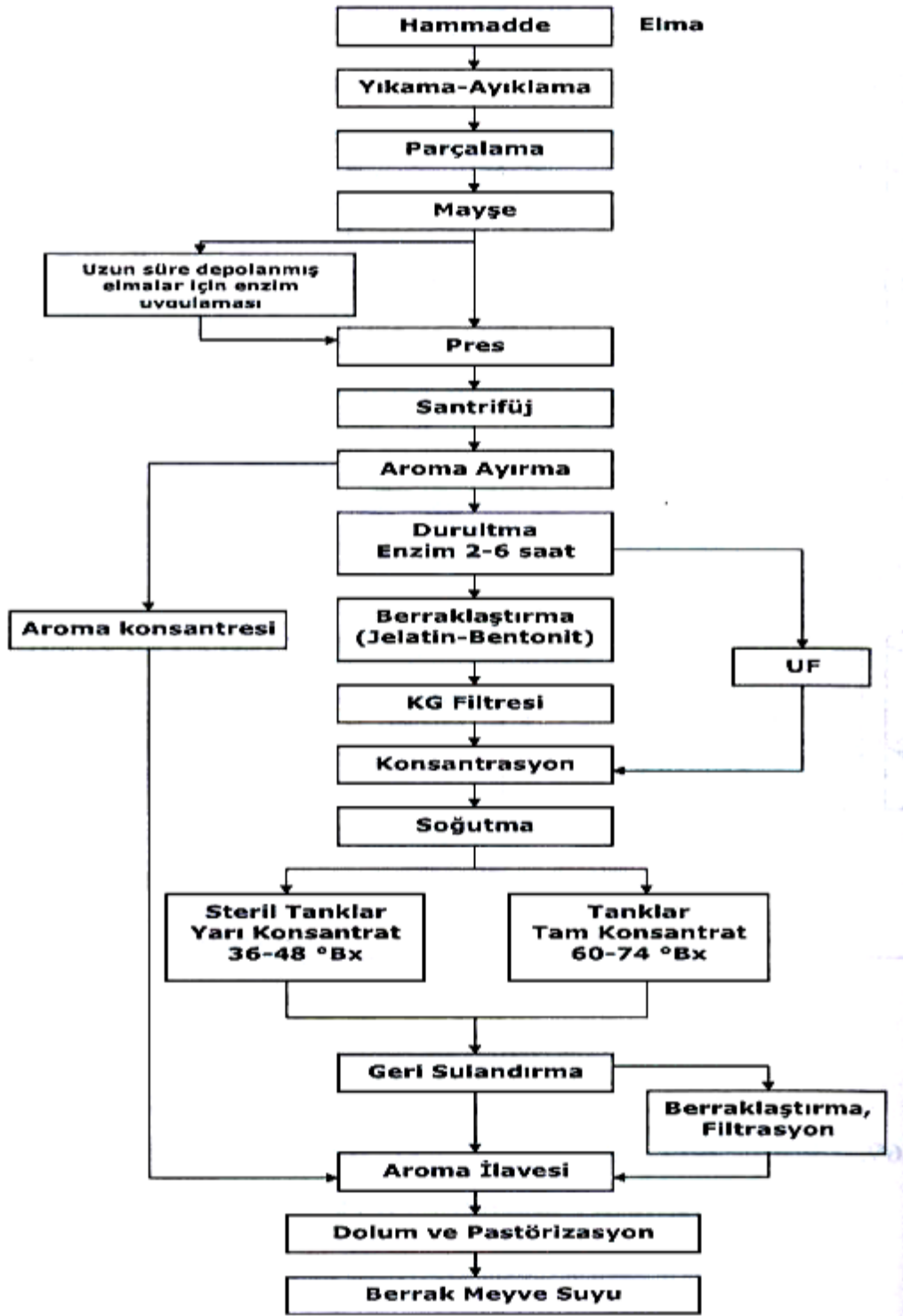
Preslenen meyve suyu bu haliyle de şişelenebilir, fakat görünüşünü daha cazip kılmak için genelde durultma yapilir. Berrak meyve sularında durultma işlemi yapıldığı halde bulanık meyve sularında durultma yapılmaz. Meyve suyunda bulanıklık yapan etmenler (meyve parçacıkları, parçalanmış hücreler ve diğer koloidal parçalardır), meyve suyundaki pektin nedeni ile dibe çökmez. Bu bakımdan pektinler, pektolitik enzimler katılarak parçalanir. 3-4 saat sonra da jelatin çözeltisi (yaklaşık % 10'luk) katılarak bulanıklık yapan parçalar bir araya getirilip çöktürülür. Üstte kalan berrak kısım filtre edilir. Genellikle jelatinle durultmadan sonra kieselsol veya bentonit uygulaması ile meyve sularında sonradan bulanmaya neden olan bazı kolloid parçacıklar da ayrilir. Bu işleme berraklaştırma denir. Berrak meyve suyunun içinde bulanıklık yapan parçalar, filtrasyonla ayrilir. Ancak meyve suyu fazlaca bulanıklık unsurları içeriyorsa o zaman önce bir seperatörden geçirilerek kaba parçalara ayrilir. Sonra filtre edilir. Meyve suyu elde edildikten sonra hemen ısıl işlem uygulayarak dayanıklı hale getirilir ve steril ambalaj kaplarına doldurulur veya şişelenip ağızları kapatıldıktan sonra ısıya arz edilir. Bazı hallerde meyve suları, kimyasal katkıları kullanılarak ve ek filtrelerinden geçirilerek de dayanıklı hale getirilebilirler.

Filtrasyondan ve ısıl işleminden sonra meyve suyu konsantre edilerek hacmi azaltılır. Daha sonraki zamanlarda orijinal kıvamına kadar su katılarak ambalajlanır. Ana konsantrasyon sırasında meyve suyunun aromasının da ayrılıp sınıflandırma sırasında tekrar



katılması gerekir. Uzun bir raf ömrü için öncelikle meyve suyunda bozulmaya yol açan mikroorganizmaların öldürülmesi ve daha sonra mikroorganizma bulaşmayacak şekilde ambalajlanması gerekir. Mikroorganizmaların ölmesi için meyve suyunun 95-99°C'de 30-60 sn tutulması yeterlidir. Bu işleme pastörizasyon denir ve fiziksel bir işlemdir. Bu aşamadan sonra meyve suyu doluma gider, ambalajlanır, kolilenir ve dağıtıma kadar depoda 20°C'de muhafaza edilir (Gıda Teknolojisi Derneği, 2009).

Yukarıda bahsedilen meyve suyu üretim aşamaları Şekil 1`de, berrak elma suyu üretimi örnek verilerek, şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil1. Berrak elma suyu üretim şeması

(<http://www.akademik.adu.edu.tr/myo/cine/webfolders/File/ders%20notlari/Meyve-sebze%20II.pdf>)

2.3. Meyve Suyunun Bozulma Nedenleri

Meyve sularının raf ömrünü mikrobiyal, enzimatik, fiziksel ve kimyasal reaksiyonlar belirler (Graumlich vd., 1986). Doğal meyve sularının ekstraksiyon sonrasında kısa bir raf ömrü vardır. Meyve suyu soğuk koşullarda depolanmış olsa bile, istenmeyen duyuşal özellikler gelişebilir ve besin değeri azalır (Corrêa de Souza vd., 2004). Meyve suyunda bozulma etmenleri Tablo 1.'de kısaca özetlenmiştir.

Tablo1. Meyve suyunun bozulma nedenleri (Bates vd., 2001)

Bozulma Nedeni	Sonuç
Mikrobiyal kontaminasyon	Patojen sayısında artış, hızlı bozulma
Aflatoxin	Güvenilir olmayan ürün/illegal ürün
Pestisit kalıntısı	Güvenilir olmayan ürün/illegal ürün
Yabancı çözünmüş madde	Güvenilir olmayan ürün/ kötü tad
Enzimatik aktivite	Esmerleşme, kıvam/ lezzet değışikliği
Çözünmüş Oksijen	Esmerleşme, besin ve kalitede azalma
Metalik katyonlar	Lezzet/rek/besin kayıpları(güvenilir olmayan ürün
Maillard reaktifleri	Esmerleşme/ kalite kaybı
Kolloidal istikrarsızlık	Sedimentasyon/çökeltme/bulanıklık

2.3.1. Meyve Suyunda Önemli Enzimler

Meyve ve sebze ürünlerinin bozulması ile enzim aktivitesi doğrudan ilişkilidir. Sebze ve meyve kalitesi açısından en önemli enzimler peroksidaz, katalaz, polifenoloksidaz, lipoksigenaz ve pektinesterazdır (pektinmetilesteraz). Pektinesterazın dokusal özelliklerin kaybindan sorumlu olduğu bilinmektedir (Vora vd., 1999). Pektinmetilesteraz (PME) bir sponifikasyon enzimidir ve narenciye ürünleri için büyük önem taşımaktadır (Ludikhuyze vd., 2003, Ingallinera vd., 2005). Meyvelerde doğal olarak bulunan pektik enzimlerin aktivitesi bulanık meyve sularında istenmezken, berrak meyve sularında istenmektedir. Bu enzim pektik asit ve metanol (Beltran vd., 2005) verecek şekilde metil ester ünitelerini hidrolize eder. Hidrolizden sonra, düşük metoksi pektinler, Ca²⁺ gibi çok-değerlikli katyonlar ile birleşir ve suda çözünmeyen pektat çökeltileri oluşturur. Bulanık meyve sularında bulanıklık kaybına neden olur (Guiavarc'h vd., 2005). Ingallinera vd. (2005) PME inaktivasyonunun pastörizasyon sıcaklığı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ancak, PME aktivitesi, bu enzimin

termostabil fraksiyona sahip olması nedeni ile, pastörizasyon işlemi ile tamamen durdurulamamaktadır (Kim ve Tadini, 1999).

Klorofilaz, lipoksigenaz ve polifenol oksidazlar meyve ve sebzelerdeki pigmentleri etkileyen ve renk değişimlerine neden olan üç temel enzim grubudur. Bu enzimler sıcaklığa çok duyarlıdır. Polifenoloksidazlar özellikle elma suyunda istenmeyen esmerleşme reaksiyonlarına neden olmaktadır. Meyve suyundaki enzimler yüksek sıcaklıklardaki ısı işlemler sonucunda denatürasyona uğrayarak inaktif olmaktadır. Dolayısı ile pastörizasyon işleminden meyve suyu endüstrisinde büyük ölçüde yararlanılmaktadır ve enzimatik gıda bozulmalarının önüne geçilebilmektedir.

2.3.2. Meyve Suyu Kalitesine Etki Eden Mikroorganizmalar

Birçok organizma, özellikle asite dayanıklı bakteri ve mantarlar (maya ve küfler) meyve suyunda bozulmaya yol açabilir. Üründe renk değişimi, kötü lezzet ve koku gelişebilir. Meyve suyunun düşük pH değerine sahip olması birçok bakteri türlerinin gelişimini önler ancak mayalar, küfler ve asite dayanıklı bakteriler için uygun bir ortam sağlar. Örneğin *Bacillus coagulans* bakterisinin asitli içeceklerde, düz ekşime tipi bozulmadan sorumlu olduğu gösterilmiştir. *Bacillus coagulans* pH 4.0 gibi düşük pH değerlerinde büyüme yeteneğine sahiptir (Chang ve Kang, 2004). *Alicyclobacillus acidoterrestris* bakteri sporlarının düşük pH değerlerinde ve termal pastörizasyon şartları altında hayatta kalabildiği ve meyve suyunda istenmeyen lezzet ve koku oluşturduğu bulunmuştur. *Alicyclobacillus acidoterrestris* pastörize elma ve portakal suyundan izole edilmiş ancak patojenik olmayan, spor oluşturucu ve termoasidofilik bir bakteridir (Silva ve Gibbs, 2001). *Alicyclobacilli* asitli içeceklerin imalatında kalite kontrol mikroorganizması olarak kullanılmaktadır (Matsubara vd., 2002).

Meyve suyuna uygulanan pastörizasyon işlemi maya ve küfleri inaktive etmek için yeterlidir. Meyve sularından izole edilen en yaygın maya türleri; *Rhodorula rubra*, *Candida lambica*, *Candida sake*, *Kloeckera apis*, *Hanseniaspora uvarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces baillii*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Torulaspora delbrückeii* ve *Candida intermedia*'dir (Martorell vd., 2007; Stratford vd., 2002). *H. uvarum* pastörize portakal suyundan izole edilmiş tek tür olarak gösterilmiştir. *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Byssochlamys* gibi küflerin düşük pH değerlerinde patulin toksini salgıladığı bilinmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 2003). Meyve suyu üretiminde çürümüş meyve kullanıldığında patulinin son ürüne geçme şansı bulunmaktadır. Patulin karsinojenik, mutajenik ve teratojenik bir ajandır (Acar vd., 1998). Asidik koşullar ve geleneksel ısı işlem ile çok stabil olan bu toksinin inaktive edilmesi mümkün değildir (Acar vd., 1998). Yüksek sıcaklık-kısa süre (HTST) veya Düşük sıcaklık-uzun süre (LTLT) pastörizasyon işleminin elma suyundaki patulin seviyesinin azaltılmasında etkili olduğu ancak tam olarak elimine edemediği ortaya konmuştur (Kadakal

vd., 2002). Çeşitli Avrupa ülkeleri ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), elma suyunda patulin için 50 µg / L bir limit önermektedir. Ancak Gökmen ve Acar (2000), Türkiye'de üretilen elma suyu konsantrelerininbu limiti aştığını ortaya koymuştur.

2.4. Meyve Suyu Pastörizasyonu

ABD`de bir yıl içinde rapor edilen hastalıkların yaklaşık 16000 - 48000 tanesi pastörize meyve suyu tüketimi ile ilişkilendirilmiştir (Foley vd. 2002). Meyve suyu ürünleri ile ilgili son salgınlar sonucunda, FDA (Gıda ve İlaç İdaresi), taze ve işlenmiş meyve ve sebze suları güvenliği konusunda yeni kurallar getirmiştir. Bakteriyel, kimyasal ve fiziksel kontaminasyonun önlenmesi için HACCP ilkelerine uyulmasını talep etmekte vebozulmayı engellemek için koruma teknikleri kullanılmasını önermektedir (Cook vd., 1998). Gıda korumanın ana fikri;gıdanın bozulmasını önlerken, kalite ve besleyici özelliklerini muhafaza etmeye dayanır. Genel bir kural olarak, meyve suyu suyu ne kadar tazeye yakın ise kalitesi o oranda daha iyi korunmuş demektir (Bates vd., 2001).

Gıda koruma yöntemlerinden pastörizasyon işlemi, meyve suyunun başlangıç yükünü azaltır ve mikrobiyal patojenler ve diğer ısıya-hassas mikroorganizmalar ile bozulmasını engeller. Pastörizasyon yeterli değilse, hayatta kalan mikroorganizmalar (*Escherichia coli* O157:H7; *Salmonella* vb.) bozulmaya ve hastalıklara neden olabilir (Bates vd., 2001).

2.4.1. Termal (Isıl) Pastörizasyon

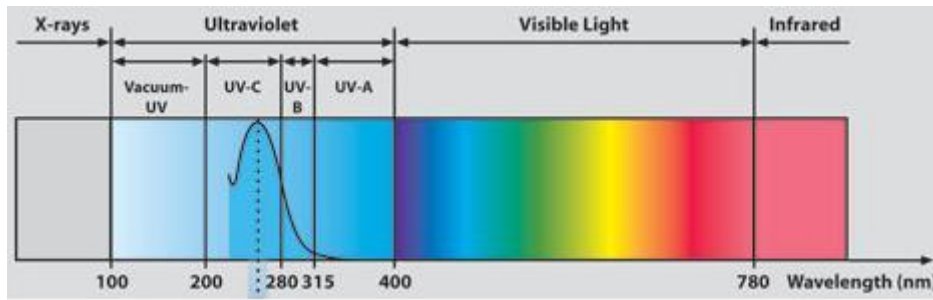
"Pastörizasyon" 100°C nin altındaki sıcaklıklarda uygulanan ısıl işlemi tarif etmektedir. Yüksek asitli meyve ürünleri için pastörizasyon hedefi ürüne göre değişir. Genellikle hedef olarak ısıya en dirençli ya da bozulma yapan mikroorganizma ya da enzim seçilir (Silva ve Gibbs, 2001). Geleneksel termal pastörizasyon, meyve suyunda, *E. coli* O157:H7, *Salmonella sp.*, *Listeria monocytogenes* ve *Cryptosporidium parvum* gibi patojenlerin sayısını etkin bir şekilde azaltabilmektedir (Tandon vd., 2003). NACMCF (Gıdalar için Mikrobiyolojik Kriterler Ulusal Danışma Komitesi) pastörizasyon için hedef mikroorganizma olarak *E. coli* O157:H7 veya *Listeria monocytogenes`in* kullanılmasını tavsiye etmekte ve hedef patojende 5-log azalmayı önermektedir. FDA, NACMCF`nin önerdiği bu kriterlerin sağlanması için termal pastörizasyon yöntemini onaylamaktadır. Bununla birlikte, termal pastörizasyon işleminin maliyetinin yüksek olması, kullanılan ekipmanların pahalı olması, üründe kötü lezzet ve koku gelişimine yol açması, ve besin kayıplarına neden olması vb. gibi bazı dezavantajları da bulunmaktadır (FDA, 1998).

2.4.2. Isıl Olmayan Alternatif Teknikler

Termal pastörizasyon işlemi, güvenilir gıda üretiminde en etkili ve en fazla kullanılan yöntemdir. Ancak, tazeye yakın özellikte meyve suyu için artan tüketici talebi, geleneksel ısı pastörizasyonunun ürünlerin beslenme ve organoleptik özellikleri üzerinde yarattığı istenmeyen etkilerin giderilmesi gibi nedenler bilim adamlarını ısı olmayan alternatif yöntemlerin araştırmaya teşvik etmiştir (Basaran-Akgul vd., 2009). Isıl pastörizasyon ile meyve suları içindeki mikroorganizmaları yok etmek ve PME'yi inaktive etmek mümkün olsa da, aynı derecede etkili olabilecek ısı olmayan alternatif yöntemler bulunmaktadır (Tahiri vd., 2006). Isıl işlem ile karşılaştırıldığında, termal olmayan işleme tekniklerinin, ürünün besin ve duyu özelliklerini, ve doğal tadını koruduğu rapor edilmektedir (Gupta vd., 2003). Bu alternatif yöntemlerden bazıları antibakteriyal ajan eklenmesini, yüksek basınç, darbeli elektrik alan, radyasyon, UV ışınlatma uygulamalarını ve aseptik paketlemeyi içermektedir.

2.4.3. UV-C Işınlatma İşlemi ve UV Işın Yayan Diyotlar (UV-LEDs)

Ultraviyole (UV) veya mor ötesi ışınlar, görünen ışın ile X-ışınları arasındaki bölgede kalan ve dalga boyları 10 ile 400 nm arasında değişen elektromanyetik ışınlardır (Sosnin vd., 2006; Sahama, 2007). Bu ışınların en büyük kaynağı güneştir. UV ışın bandı genel olarak UV-C (200-280 nm), UV-B (280-315 nm), ve UV-A (315-400 nm) olarak üç bölgeden oluşur (Şekil 2). UV-A bandındaki ultraviyole ışınlar bronzlaşmaya neden olurken, UV-B bandındakiler deride yanıklara ve cilt kanserine yol açar. UV-C bandındaki ışınların ise mikrobiyal öldürücü etkisi vardır ve özellikle bakteri ve virüslerin inaktivasyonunda kullanılmaktadır.



Şekil 2. UV radyasyon bölgesi grupları (Kaynak: Emperor Aquatics.

http://www.emperoraquatics-pond.com/uv_sterilization.php, erişim:19/09/2014)

UV ışınlatma teknolojisinin gıda alanındaki uygulamaları, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nin 2000 yılında UV ışınlarının taze sıkılmış meyve sularında ısısal işleme alternatif bir yöntem olarak onaylaması ile hız kazanmıştır. Son yıllarda, bilinçli tüketici sayısındaki ve daha lezzetli, güvenilir, sağlıklı, organik, doğal, çevre dostu bir ortamda

yetiştirilmiş taze gıda talebindeki artış ısısal işleme alternatif olabilecek gıda proseslerinin araştırılmasına neden olmuştur. Ucuz yatırım maliyeti ve pozitif tüketici imajı nedeni ile UV ışınlama teknolojisi bu alternatif teknolojiler arasında yer almaktadır. Günümüzde, UV ışınları daha çok paketlenmede, gıda ve gıda ekipmanlarının yüzey sterilizasyonunda, taze meyve suyu, süt, yumurta, alkolsüz içecek, meşrubat vb. sıvı gıdaların raf ömürlerinin uzatılmasında ısısal işleme alternatif olarak kullanılmaktadır (Koutchma, 2009; Koutchma vd., 2009).

UV ışık, mikroorganizmaların deoksiribonükleik asit (DNA) ve/veya ribonükleik asit (RNA) zincirine zarar verir ve çoğalmalarını engelleyerek inaktif hale getirir. DNA ve RNA uzun zincirli polimerler olup dört nükleotid kombinasyonundan meydana gelmektedir. DNA pürin (adenin ve guanin) ve pirimidin (timin ve sitozin) nükleotidlerinden oluşur. RNA de pürin (adenin ve guanin) ve pirimidin (urasil ve sitozin) nükleotidlerinden meydana gelir. DNA ve RNA molekülleri 200-310 nm dalga boyundaki UV ışınlarını absorbe eder. UV ışığın absorbe edilmesi ile, hücre içerisindeki DNA ve RNA'nın yapısında foto-kimyasal reaksiyon nedeni ile zarar meydana gelir. Yaşayan birçok organizmada DNA, bir adenin ve bir timin molekülünün bir hidrojen bağıyla, bir guanin ile bir sitozin molekülünün başka bir hidrojen bağıyla her iki tarafta bağlandığı çift sarmal yapıdadır. Öldürücü dalga boyuna sahip UV ışığı pirimidin bazları tarafından absorbe edildikten sonra aradaki hidrojen bağı kopar. UV ışın demetinin oluşturduğu yüksek enerjinin de etkisiyle, aynı taraftaki komşu bazlar arasında yeni bağlar oluşmaya başlar. Bu durum, çift molekülleri ve dimerleri oluşturmaya başlar. Komşu pirimidinlerin dimerizasyonu, bilinen en ciddi fotokimyasal zarardır. Bununla birlikte sitozin-sitozin, sitozin-thymine veya urasil dimerizasyonları da oluşabilir. Bu sayede, hücre bölünmesi işlemi, DNA ve RNA yapısındaki bu tip dimerlerin sayısının artmasıyla birlikte durma noktasına gelir ve hücre ölümü gerçekleşir (Bank vd., 1990; Cadet vd., 2005; Cieminis vd., 1987).

UV ışınların doğal kaynağı güneştir. Ancak endüstriyel boyutta yapay olarak da oluşturulmaları mümkündür. Bu amaçla genelde ark lambaları kullanılmaktadır. Ark lambaları elektrik arki ile farklı dalga boylarına sahip ışık üreten lambalardır. UV ışın kaynağı olarak genelde düşük ve orta basınçlı civalı (mercury lamps), eksimer, vurgulu ışık (flash / pulsed lamps), mikrodalga tahrikli (microwave driven lamps), LED (light emitting diodes) lambalar kullanılmaktadır. Orta basınçlı civalı (MPM), vurgulu (Pulsed) vb. tipteki lambalar belli spektral alanda farklı dalga boylarında ışık yaydıkları için polikromatik özelliktedir. Düşük basınçlı civalı (LPM) lambalar ise germisidal dalga boyu olan 253,7 nm (~254 nm) de ışık (UV-C ışık) yaymakta olup monokromatik özelliktedir (Koutchma, 2009). Eksimer lambalarda He, Ne Ar, Kr, Xe gibi çeşitli gazlar kullanılarak istenilen dalga boyunda ışık yayılımı sağlamak mümkündür (Koutchma vd., 2009). LPM UV lambalar gelişmiş

teknolojileri, yüksek verimlilikleri, uzun kullanım ömürleri ve uygun boyutlarda olmaları nedeni ile UV uygulamalarında geniş çapta kullanılmaktadır. MPM lambalar, LPM lambalara göre daha yüksek yoğunlukta UV ışık yaymalarına rağmen polikromatik özellikte olmaları, yüzey sıcaklıklarının yüksek olması ve kullanım ömürlerinin daha kısa olması gibi bazı dezavantajlara sahiptirler. Civalı lambaların kullanımı ile ilgili en önemli sorun herhangi bir sızıntı durumunda civa elementinin özellikle gıda ile temas etmesidir. Bu durum gözönüne alınarak bazı özel teknolojilerle pulsed, eksimer, LEDs tipi lambalar geliştirilmiştir.

UV-LED'ler düşük basınçlı civa lambaların yaydığı 254 nm dalga boyu dışında farklı dalga boyunda monokromatik ışık yayarlar ve dezenfeksiyon için en uygun dalga boyunun kullanımına olanak sağlarlar. UV-LED'ler, çevre ve insan bedeni için toksik olan civa içermez, kullanım ve taşınma sırasında daha dayanıklı bir yapıya sahiptirler, kırılğan değildirler, çalışma esnasında az oranda ısı üretirler, daha hızlı çalıştırma süresine sahiptirler, düşük voltaj ve düşük güç gerektirirler, daha yüksek enerji etkinliğine sahiptirler (Würtele vd., 2011). Ayrıca, LPM lambalar yaklaşık olarak 4000-10000 saatlik bir kullanım ömrüne sahipken, UV-LED'lerin ömürlerinin 100000 saati aştığı bildirilmektedir (Chevremont vd., 2012a; 2012b). UV-LED'lerin, daha uzun ömürlü olmalarından ötürü daha az sıklıkta değiştirilme potansiyeli olduğu söylenebilir. Öte yandan, UV ışınlama sistemleri çok yer kaplayan, büyük boyutlu civa buharlı lambaların şekline uygun olarak tasarlanmak zorundadır. Bu nedenle, çeşitli şekillerde ve boyutlarda, daha az enerji tüketimine sahip ve zararlı maddeler içermeyen yeni sterilizasyon ekipmanlarının geliştirilmesi gerekmektedir (Mori vd., 2007). UV LED lambalar düşük basınçlı lambalara sadece bir alternatif sağlamakla kalmayacak, aynı zamanda kompakt yapısından ötürü küçük, yer tasarrufu sağlayan sterilizatörlerin dizayn edilmesine olanak sağlayacaktır. Bu yeni yaklaşımla küçük ve dar alanların sterilizasyonu mümkün olacaktır. Literatürde yer alan konvansiyonel UV-C lambalarla (LPM lambalar) yapılan denemelerin sonuçlarıyla bir kıyaslama yapabilmek üzere, UV LED'lerden oluşan bir doğrultulmuş ışın aparatının geliştirilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, DNA'nın UV absorpsiyonunun en üst düzeye ulaştığı germisidal özellik gösteren dalga boylarındaki (250-260 nm) LED'lerin güç çıkışlarının düşük olduğu, dalga boyu yükseldikçe dezenfektan özelliğin azalmasına rağmen güç çıkışının arttığı bilinmektedir. Bu nedenle, daha yüksek dalga boylarındaki LED'ler de kullanılarak, mikroorganizma öldürme etkinliğindeki azalmanın güç artışıyla telafi edilip edilemeyeceği araştırmaya değer bir konudur (Bowker vd., 2011). UV-LED'lerin klasik UV kaynaklarına göre belirgin bir avantajı da, farklı UV dalga boylarında bir LED dizisinin birleştirilerek mikrobiyal etkinin maksimuma çıkarılmasına imkan vermesidir. Böyle bir sistem, kullanılan üründe öneme sahip belli başlı patojenleri veya tek bir sistemle patojenlerin geniş bir yelpazesini hedef alan sterilizasyon ünitelerinin kurulmasına olanak sağlar (Chatterley ve Linden, 2010). Literatürde yer alan

çalışmalarda su sterilizasyonu için UV-A bandında ve UV-C bandında ışık yayan LED'lerin tercih edildiği görülmektedir (Li vd., 2008; Chevremont vd., 2012a; Chevremont vd. 2012b; Bowker vd., 2011; Würtele vd, 2011; Hamamoto vd. 2007). Hatta bazı çalışmalarda bu iki farklı dalga boyundaki LED'lerin kombine edilerek kullanıldığı göze çarpmaktadır. UV-A radyasyonu, proteinlere zarar vererek ve hücre membranı ile diğer hücre sel elemanları tahrip eden hidroksil ve oksijen radikalleri oluşturarak mikroorganizmaları inaktive eden bir mekanizmaya sahiptir. Bunun yanında UV-C ise doğrudan mikroorganizmaların DNA'sına etki ederek siklobütan timin dimerleri oluşmasına neden olur ve ara basamaklar olmaksızın onları inaktive eder (Chatterley ve Linden, 2010). Chevremont vd. (2012a), sadece 280 ile 365 nm ve 280 ile 405 nm dalga boyundaki LED'lerin eşleştirilmesinin mezofilik bakteri sayısında işlem görmemiş atık sulara göre önemli bir azalmaya neden olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca LED'lerin bu kombinasyonlarda kullanımı atık sulardaki fekal enterokokların, toplam koliformların ve fekal koliformların tamamen yok edilmesini sağlamıştır. Bunun yanısıra, UV-C radyasyonunun sağladığı DNA hasarı fotoliz enzimi tarafından onarılabılırken, UV-A radyasyonuna maruz kalan bakterilerin hücre membranlarında gerçekleşen hasarın tamir edilme imkanının bulunmayışı mikrobiyal inaktivasyondaki etkinliği arttırmıştır (Chevremont vd., 2012a). Yapılan başka bir çalışmada ise sudaki bakteriyel viruslerin inaktivasyonu için 280 nm dalga boyunun çok etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca 280 nm LED'lerin üretiminin düşük alüminyum (Al) içeriğinden ötürü 255 nm LED'lerin üretimine göre daha kolay olduğu ifade edilmiştir (Aoyagi vd., 2011). Bowker vd., (2011) da, proteinlerin UV absorpsiyon spektrumlarının 280 nm civarında tepe noktasına ulaştığını, bu nedenle de onarıcı enzimlerin UV radyasyon tarafından 280 nm civarında hasara uğradığı rapor edilmiştir. İlâveten, 269 nm civarındaki yüksek dezenfeksiyon kapasitesinin, 280 nm civarındaki yüksek foton etkinliği ile telafi edildiği de literatürde yer almaktadır (Würtele vd., 2011).

Literatürde su dezenfeksiyonu için UV-LED'lerin etkinliği üzerine yapılmış sınırlı sayıda çalışma olduğu gösterilmiştir. Gıda uygulamaları ile ilgili araştırmalar henüz daha çok sınırlı sayıdadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Elma Suyu Eldesi

Çalışmada Ege yöresinde yetişen Starking Delicious çeşidi kırmızı elmalar kullanılmıştır. Tek bir marketten ve aynı koddaki (PLU 076) elmalar satın alınmıştır. Elmalar yıkandıktan sonra ev tipi katı meyve sıkacağına (Arçelik, Robolio, İstanbul, Turkey) sıkılıp elde edilen bulanık ve tortulu elma suyu kaba filtreden (3 katlı tülbent) geçirilmiştir. Kalan tortudan arındırmak için santrifüj uygulanmıştır. Elde edilen bulanık elma suyu örnekleri termal pastörizasyon, mikrobiyal ve enzim inaktivasyonu çalışmaları ile depolama çalışmalarında kullanılmıştır.

Elma suyuna kaba filtre ve pastörizasyon uygulamaları haricinde başka herhangi bir işlem (mayşe ısıtma, presleme, durultma, filtrasyon vs.) uygulanmamıştır. Bunun en önemli nedeni çalışmamızda duyu özellikleri bozulmamış, evde yapıldığı şekilde, taze sıkılmış bulanık elma suyunun model alınmasıdır.

3.2. Taze Sıkılmış Bulanık Elma Suyunun Fiziksel, Kimyasal ve Optik Özellikleri

pH metre (Hanna Instruments, ABD) ile pH değeri, refraktometre (Mettler-Toledo RE40D, AEA Investors Inc., ABD) ile suda çözünür kuru madde (°Brix), türbidimetre (HACH 2100AN IS, ABD) ile bulanıklık değeri (NTU), renk cihazı (Konica Minolta CR 400, Konica Inc., Japonya) ile renk parametreleri (L^* , a^* , b^*), spektrofotometre (Cary 100 UV-Vis, Varian, ABD) ile absorbans katsayısı belirlenmiştir. Elma suyu örnekleri farklı konsantrasyonlarda seyreltilmiş ve farklı lambda dalga boylarında (254, 280, 365, 405 nm) absorbans değerleri spektrofotometrede okunmuştur. Absorbans katsayısı, örnek konsantrasyonuna karşılık çizilen absorbans grafiğinin eğiminden hesaplanmıştır.

Titration yöntemi (Cemeroğlu, 2004) ile titre edilebilir asitlik (toplam asitlik) değeri belirlenmiştir. Bu yöntemle göre toplam asitlik, malik asit cinsinden hesaplanmıştır. Belli miktardaki örnek standardize edilmiş 0,1 N NaOH ile pH 8,1 fenolftaleinin ekivalenz noktasına ulaşıncaya kadar titre edilir. Daha sonra toplam asitlik değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanır:

$$TA, \% = \frac{(V)(f)(E) 100}{M} \quad (1)$$

V: Harcanan 0.1 N NaOH miktarı, ml

f: NaOH çözeltisinin normalite faktörü

E: 1 ml 0,1 N NaOH'ın eşdeğeri asit miktarı (malik asit için 0.006705 g/ml 0,1 N NaOH)

M: Titre edilen örnek miktarı

Askorbik asit içeriğini belirlemek üzere test kitlerinden (R-Biopharm, Roche, Almanya, katalog no. 10 409 677 035) yararlanılmıştır. Analiz test kitlerinde belirtilen Boehringer enzimatik metoduna (Danielzcuk vd., 2004) göre yapılmıştır. Bu metotta, ortamda elektron taşıyıcısı olan PMS (5-methylphenazinium methosulfate) olması durumunda, indirgen maddelerle, tetrazolium salt MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) reaksiyona girerek MTT-formazan meydana getirir, MTT-formazanın varlığı 578 nm absorpsiyon ölçümü ile belirlenir. Örnek ile kör arasındaki absorpsiyon farkı, askorbik asit oksidaz ile askorbik asidin ortamdaki uzaklaştırılması ile belirlenir. Ayrıca, askorbik asit içeriğini belirlemek üzere önerilen yöntem alternatif olarak Cemeroğlu (2007)'de belirtilen spektrofotometrik yöntem de modifiye edilerek kullanılmıştır. Askorbik asit miktarları, metafosforik asit ile ekstrakte edilen örneklerin ksilen yardımıyla ve 2,6 diklorofenolindofenol indikatör çözeltisi kullanılarak spektrofotometrik analiz yöntemi ile 500 nm' de okunarak saptanmıştır (Cemeroğlu, 2007).

3.3. Mikrobiyolojik Analizler

E. coli O157:H7 suşunun patojen olmayan serotipi, *E. coli* K12 (ATCC 25253) suşu önce sıvı besiyerine (Nutrient broth) inoküle edilerek 37°C'de 18 saat inkübe edilmiş ve çoğalması sağlanmıştır. Büyüme evresi takip edilmiş, durağan faza gelen kültür pastörize elma suyu örneklerine 10^7 kob/ml olacak şekilde inoküle edilmiştir. Örnekler belirli bir süre (0, 20, 40, 60 dk), belirli sıvı derinliğinde (0,153 cm) ve farklı dozda (süre*UV intensite) farklı dalga boylarındaki (254 nm, 280 nm, 280-365 nm, 280-405 nm, 254-365 nm, 254-405 nm, 254-280-365-405 nm dalga boyu kombinasyonları) UV-LED ışınlarına maruz bırakılıp uygulanan işlemlerle mikrobiyal yükteki azalma, yayma plaka yöntemi ile streptomisin içeren genel amaçlı besiyerine (Tryptic Soy Agar, TSA) ekim yapılarak takip edilmiştir. *E. coli* K12 suşu streptomisine dirençli bir suştur, TSA besiyerinde diğer mikroorganizmaların gelişimi bu şekilde önlenmiş sadece *E. coli* K12 kolonilerinin gelişimi sağlanmıştır. Ayrıca *E. coli* K12 suşunun Pala ve Toklucu (2013) tarafından önerilen metod ile malik asit kullanılarak pH 3.5'a asit adaptasyonu yapılmıştır. Uygulanan işlemde önce ve depolama çalışmalarında kullanılan örneğin içinde bulunan toplam canlı sayımı dökme plaka yöntemi ile Plate Count Agar (PCA), maya ve küf sayımı ise yayma plaka yöntemi ile Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerinde yapılmıştır. Bunun yanında, hazırlanan elma sularının koliform grubu bakteri içerip içermediği de yayma plaka metodu ile Violet Red Bile Agar (VRBA) besiyerine mikrobiyal ekim yapılarak kontrol edilmiştir.

3.4. Enzimatik Analizler

Polifenoloksidaz (PPO) enziminin inaktivasyon çalışmaları taze sıkılmış meyve suyu kullanılarak yapılmıştır. Enzim aktivitesi Falguera vd. (2011) tarafından rapor edilen spektrofotometrik metotla belirlenmiştir. Polifenol oksidaz (PPO) enziminin aktivitesi pH 7,0 fosfat tamponu, 4-metil katekol substrat çözeltisi ve ham enzim ekstraktı karıştırılarak oda sıcaklığında, 420 nm'de 10 dk süre ile absorbansdaki artış ölçülerek saptanmıştır. Toplam reaksiyon hacmi her ölçüm için 3 mL olarak sabit tutulmuştur. Zamana karşı absorbans değerleri grafiğe geçirilerek elde edilen grafiğin eğiminden ilk hız değerleri hesaplanmıştır. Her aktivite tayininde ölçümler 3 kez tekrarlanmıştır. Bu yöntem ek olarak Fonteles vd. (2012) tarafından rapor edilen metot da kullanılmıştır. Alternatif bu yöntemle göre, meyve suyundan ekstrakte edilen PPO enziminin kateşol ve potasyum klorür ile reaksiyonu sonucu meydana gelen 395 nm'deki absorbans değişikliği izlenmiştir.

Her iki yöntem için bir birim enzim aktivitesi (1 UEA) bir dakikada 395 nm de veya 420 nm de ölçülen absorbans değerinde 0.001 birim artış meydana getiren enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. Kalıntı enzim aktivite aşağıdaki formülden hesaplanmıştır:

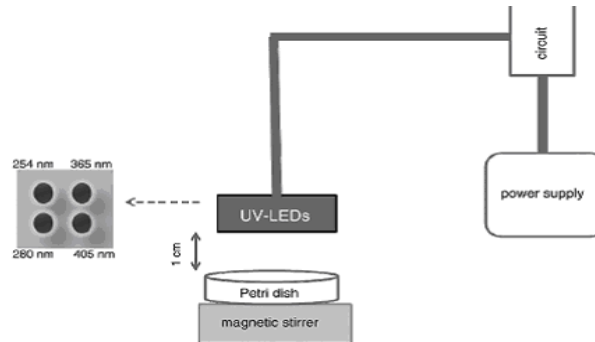
$$RA, \% = \frac{A_1 \times 100}{A_0} \quad (2)$$

A_1 işlem sonrası (UV-LED ışınlatma işlemi veya termal pastörizasyon) ölçülen enzim aktivite, A_0 kontrol örneğinde (işlem görmemiş taze sıkılmış elma suyu) ölçülen enzim aktivite olarak verilmiştir.

3.5. UV-LED İşlemi

3.5.1. UV-LED Sistem Tasarımı

Chevremont vd. (2012b) tarafından UV-LED lambaları kullanılarak tasarlanan benzer bir sistem yapılmıştır.



Şekil 3. UV-LED ünitesi (Kaynak: Chevremont vd., 2012b)

Şekil 3'de gösterildiği üzere statik UV-LED sistemi, elektronik aksamı bir güç kaynağına bağlı bulunan ve farklı dalga boylarında ışık yayan UV-LED lambalardan, lambaların hemen 1 cm altına yerleştirilmiş ve içinde meyve suyu bulunan bir örnek kabından ve bununla birlikte meyve suyu örneğininin homojen şekilde ışık uygulamasına maruz kalması için yerleştirilmiş bir manyetik karıştırıcıdan oluşmaktadır. Sistem, üzerine 4 adet UV-LED lamba yerleştirilecek şekilde tasarlanmıştır. Farklı dalga boylarında seçilen lambalar birbirleriyle kombine edilerek inaktivasyon denemeleri yapılmıştır. Kullanılan lamba kombinasyonları ve dalga boyları şöyledir: 280 nm`de 4 lamba, 254 nm`de 4 lamba, 280/365 nm (2 lamba 280 nm, 2 lamba 365 nm), 280/405 nm (2 lamba 280 nm, 2 lamba 405 nm), 254/365 nm (2 lamba 254 nm, 2 lamba 365 nm), 254/405 nm (2 lamba 254 nm, 2 lamba 405 nm) ve tüm lambalar (1 lamba 254 nm, 1 lamba 280 nm, 1 lamba 365 nm, 1 lamba 405 nm).

3.5.2. UV Dozun Belirlenmesi

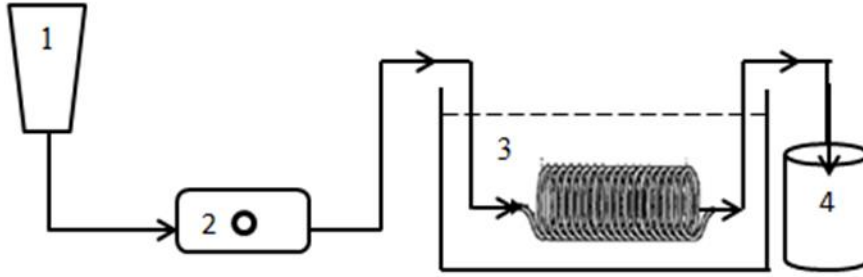
Işın uygulamasında kullanılan doz değeri, ışın şiddeti (I) ile sürenin (t) çarpımı olarak hesaplanır ve aşağıda belirtilen denklemdeki gibi ifade edilir:

$$\text{UV doz değeri} = I \times t \quad (3)$$

Bu denklemde gösterilen ışın şiddeti değeri ise hem radyometrik hem de aktinometrik yöntem ile ölçülmüştür (Chevremont vd., 2012a). Radyometrik yöntem sıvı üzerine düşen ışın şiddetini ölçerken, aktinometrik yöntem sıvı tarafından absorblanan ışın şiddeti hakkında bilgi verir. Aktinometrik yöntem, kullanılan dalga boyuna hasasiyet gösteren bir kimyasalın UV ışığına maruz bırakılması sonucu oluşan fotokimyasal değişimin ölçülmesine dayanmaktadır. Burada, fotokimyasal dönüşüm absorbe edilen foton sayısı ile doğrudan ilişkilidir (Adhikari vd., 2005). Bu yöntemde potasyum ferriokzalat solüsyonunun fotolizi incelenmiştir. Potasyum ferriokzalatın fotoliziyle ortaya çıkan demir iyonları ile fenantrolin kırmızı renkli bir kompleks meydana getirir. Oluşan bu kompleksin absorbansı 510 nm`de spektrofotometrik olarak belirlenir. Absorbans değerinden faydalanılarak solüsyondaki demir iyonu sayısı hesaplanır. Demir iyonları sayısı da elma suyunda absorbe edilen ışık yoğunluğunu (UV intensite) hesaplamak için kullanılır (Chevremont vd., 2012a). Radyometrik yöntemde ise farklı dalga boylarında çalışan radyometreler kullanılarak, UV kaynağından örnek üzerine düşen UV intensite değeri direkt olarak ölçülmüştür (Ünlütürk, 2008).

3.5.3. Termal Pastörizasyon Parametrelerinin Belirlenmesi

US FDA, pH değeri 4 ve altında olan elma sularının pastörizasyonu için 71,1°C'de en az 6 sn, 73,8°C'de en az 2,8 sn, 76,7°C'de ise en az 1,3 sn ısıtım koşullarını önermektedir. Ayrıca 71,7°C'de 15 sn işlemin de uygun olacağı belirtilmiştir. Bunun yanında, Cemeroğlu (2004) elma suyunda PPO enzimi ile diğer pektolitik enzimlerin aktivitesini düşürmek ve aynı zamanda mikrobiyal yükü de azaltmak için 96°C'de 15-30 sn ısıtım uygulanmasının yeterli olacağına değinmiştir. Literatürde farklı sıcaklık ve süre değerlerinin verilmesi nedeni ile pastörizasyon normları bu çalışmada kullanılan elma suyu ve *E. coli* K12 suşu için tekrar belirlenmiştir. Bu amaçla hedef mikroorganizma olan *E. coli* K12 taze sıkılmış elma suyuna inokule edilmiş, örnekler Şekil 4'te gösterilen pastörizasyon sisteminde 70- 90 °C ve 3-120 sn (holding time) arasında değişen sürelerde pastörize edilmiştir.



Şekil 4. Termal pastörizasyon sistemi

3.5.4. Mikrobiyal İnaktivasyon Çalışmaları için Deney Tasarımı

Deney tasarımı olarak genel faktöriyel tasarım kullanılmıştır. Bu tasarımın özelliği, her birinin farklı sayıda seviyesi bulunan ve değişik sayıdaki faktörlerin tasarımda yer almasıdır. Burada, işlem süresi 0-20-40-60 dakika olmak üzere 4 seviye, lamba kombinasyonu sadece 254 nm, sadece 280 nm, 254-365 nm, 254-405 nm, 280-365 nm, 280-405 nm, 254-280-365-405 nm olmak üzere 7 seviye olarak belirlenmiştir. Sıvı derinliği, yukarıda belirtildiği üzere sabit bir değerde (0,153 cm) tutularak deney tasarımına bir faktör olarak eklenmemiştir. Bunun nedeni, örnekte homojen UV ışık dağılımının bu derinlikte sağlanıyor olmasıdır. Tandon vd., (2003), homojen bir ışık dağılımı için işlem sırasında uygun bir karıştırmanın yapılması gerektiğini belirtmiştir. Bunun yanında, Bolton vd. (2003), karıştırmanın petri kabının ortasında ve kenarlarına doğru olan kısımda sıvı derinliğinin değişmesine neden olacağını ve buna bağlı olarak da sıvı içerisindeki absorbe edilen UV ışık dağılımının homojen olmayacağını, bu etkiden kaçınılması gerektiğini bildirmiştir. Bu etkiden kaçınmak için Ünlütürk vd., (2010) mümkün olan en az miktar örneğin kullanılmasını önermişler ve homojen ışık dağılımını sağlayan örnek derinliğinin 0.153 cm olduğunu göstermişlerdir.

Deney tasarımında cevap değişkeni, uygulanan işlemten sonra canlı kalan mikroorganizma sayısı (kob/ml) olarak belirlenmiştir. Deneyler 2 tekerürlü olup toplam 56 deneme gerçekleştirilmiştir.

3.5.5. Re-aktivasyon Denemeleri

Elma suyu *E.coli* K12 ile inoküle edildikten sonra mikrobiyal inaktivasyonun en fazla sağlandığı dalga boyu ve uygulama süresi boyunca UV ışığına maruz bırakılmıştır. Daha sonra örnekler oda sıcaklığında 4 saat boyunca gün ışığında bekletilmiştir. 15'er dakika aralıklarla örnek alınıp, TSA besiyerine mikrobiyal ekim yapılmıştır. Gelişen mikroorganizmalar sayılarak, hücrelerde meydana gelen DNA onarımının varlığı araştırılmıştır. UV-LED uygulamasının DNA onarıcı enzimleri de etkisiz hale getirme yeteneği ölçülmüştür. Sonuçlar aşağıdaki formül kullanılarak değerlendirilmiştir:

$$S = \frac{N_r}{N_0} \times 100 \quad (4)$$

S değeri, UV-LED işlemi sonrası normal oda sıcaklığı koşullarında (24°C) gün ışığına maruz bırakılan elma suyu örneğindeki canlı mikroorganizma sayısındaki yüzdesel artışı ifade ederken, N_r belirli bir süre sonunda örnekteki mikroorganizma sayısındaki logaritmik artışı, N_0 ise örneğin başlangıç yükünü logaritmik olarak ifade etmektedir.

3.6. Depolama Çalışmaları

Kontrol, termal pastörizasyon işlemi ve UV-LED uygulamasına tabii tutulan örnekler buzdolabında, ışık almayacak şekilde amber şişelere aseptik olarak doldurularak, bir ay depolanmıştır. Taze sıkılmış elma suyunun mikrobiyal bozulması hızlı olup bu nedenle saklama süresinin 1 ay olmasına literatürdeki benzer çalışmalar (Azhuvalappil vd., 2010) göz önüne alınarak karar verilmiştir. Bu süre boyunca farklı periyotlarda ölçümler gerçekleştirilmiştir. Depolama süresi boyunca örneklerin renginde, PPO enzim aktivitesinde ve askorbik asit içeriğindeki değişiklik takip edilmiştir.

3.7. İstatistiksel Analizler

Deney tasarımı sonucunda ve depolama süresince elde edilen deneysel verilerin istatistiksel farklılıklarını ortaya koymak için Tukey test varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Analizler MİNİTAB (Trial Version 14, Minitab Ltd., UK) istatistik programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Taze sıkılmış Bulanık Elma Suyunun Fiziksel, Kimyasal ve Optik Özellikleri

Proje kapsamında yapılan denemelerde kullanılan taze sıkılmış bulanık elma suyuna ait pH, suda çözünür kuru madde ($^{\circ}$ Brix), titre edilebilir asitlik (%), bulanıklık (NTU), absorpsiyon katsayısı (cm^{-1}) ve renk değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Kullanılan Starking çeşidi elma suyu örneklerinin ortalama pH ve suda çözünür kuru madde değerlerinin $3,98 \pm 0,03$ ve $13,35 \pm 0,96$ $^{\circ}$ Brix olduğu bulunmuştur. pH ve suda çözünür kuru madde değerleri 3,92 ve 4,02; 12,76 ve 15,50 arasında değişiklik göstermektedir. Bu değerler Murakami vd (2006)'nin yapmış olduğu çalışmada ölçülen değerler ile örtüşmektedir. Sözü edilen çalışmada kullanılan 15 farklı elma çeşidinin pH ve suda çözünür kuru madde değerlerinin 3,2 ve 6,5; 9,8 ve 16,9 $^{\circ}$ Brix arasında olduğu rapor edilmiştir. Falguera vd. (2011) Golden, Starking, Fuji ve King David çeşidi elmalardan elde edilen taze sıkılmış elma suyu örneklerini çalışmalarında kullanmışlardır. pH değerlerinin 3,48 ile 4,35 arasında değiştiğini, suda çözünür madde değerlerinin de 10,7 ile 14,7 $^{\circ}$ Brix arasında değiştiğini rapor etmişlerdir.

Tablo 2'den görüleceği üzere elma suyunun bulanıklığı 961 NT ile 2317 NTU arasında değişmekle beraber ortalama 1538 NTU olarak ölçülmüştür. Bu değer Gayan vd. (2012)'nin Fuji elma kullanarak elde ettikleri taze sıkılmış elma suyunun bulanıklık değeri (1523 NTU) ile yakın benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda kullanılan elma suyu örneklerinin absorpsiyon katsayısı $10,90 \text{ cm}^{-1}$ ve $36,85 \text{ cm}^{-1}$ arasında değişmekle beraber ortalama $28,53 \pm 6,87 \text{ cm}^{-1}$ dir. Gayan vd. (2012) taze sıkılmış elma suyu için absorpsiyon katsayısını $28,54 \text{ cm}^{-1}$ olarak ölçmüşlerdir.

Taze sıkılmış bulanık elma suyu örneklerinin renk parametreleri Tablo2'de verilmiştir. Buna göre ortalama L^* , a^* ve b^* değerleri $27,22 \pm 1,66$, $0,71 \pm 0,90$ ve $7,36 \pm 1,05$ olarak ölçülmüştür. Caminiti vd. (2012)'nin elma suyu örnekleri kullanarak yapmış olduğu çalışmada rapor ettiği L^* ($24,14 \pm 1,5$); a^* ($1,3 \pm 1,23$) ve b^* ($6,2 \pm 0,63$) değerleri ile örtüşmektedir.

Örnelerin askorbik asit miktarları $2,02 \pm 1,34 \text{ mg/L}$ olarak ölçülmüştür. Ölçüm askorbik asit test kitleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cemeroğlu (2007)'nin önerdiği askorbik asit metodu da denenmiş ama sağlıklı sonuçlar alınamamıştır. Ölçülen askorbik asit miktarları Gayan vd. (2012) ile Falguera vd. (2011)'nin rapor ettiği değerlerden oldukça düşüktür. Gayan vd. (2012) askorbik asit miktarını AOAC nin 2,6-dichloindophenol prosedürüne dayalı olan standart titrimetrik prosedürü kullanarak $9,26 \pm 0,23 \text{ mg/100 mL}$ olarak ölçmüşken, Falguera vd. (2011) Starking çeşidi elma suyunda askorbik asit miktarını iyot titrasyon metodunu kullanarak $788,2 \text{ mg/L}$ olarak ölçmüştür. Her iki çalışmada farklı metodlar

kullanılmıştır. Bizim kullandığımız test kitleri ise enzimatik bir yöntemle dayanmaktadır, dolayısı ile verilen rakamlar birbirinden oldukça farklıdır.

Tablo 2. Taze sıkılmış bulanık elma suyu örneklerinin fiziksel, kimyasal ve optik özellikleri

	pH	Suda Çözünür Kuru Madde (Brix)	Titre edilebilir toplam asitlik (%)	Bulanıklık (NTU)	Askorbik asit (mg/L)	Absorbsiyon katsayısı _{254nm} (1/cm)	Renk		
							L*	a*	b*
Ave.	3,98±0,03	13,35±0,96	0,21±0,06	1538,71±297,10	2,02±1,34	28,53±6,87	27,22±1,66	0,71±0,90	7,36±1,05
Min.	3,92	12,76	0,18	961,00	0,84	10,90	23,68	-0,98	5,49
Max.	4,02	15,50	0,37	2317,00	4,22	36,85	32,96	2,67	11,00

Mikrobiyal inaktivasyon çalışmalarında 70 °C de 120 sn pastörize edilmiş elma suyu örnekleri kullanılmıştır. Pastörizasyon sonucu örneklerin fizikokimyasal özelliklerindeki değişimler Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Pastörize elma suyu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

	pH	Suda Çözünür Kuru Madde (°Briks)	Titre edilebilir asitlik (%)	Absorbsiyon katsayısı (cm ⁻¹)	Askorbik asit (mg/l)	Bulanıklık (NTU)	Renk		
							L*	a*	b*
Kontrol örneği	3,92±0,01 ^b	13,63±0,04 ^b	0,33	26,84	2,22	1482,5±46 ^b	25,43±0,09 ^a	1,60±0,12 ^b	6,71±0,06 ^a
Pastörizasyon (70°C, 120 sn)	3,84±0 ^a	12,77±0,92 ^a	0,34	15,92	1,33	1018±13,4 ^a	28,12±0,2 ^b	-0,45±0,13 ^a	7,10±0,17 ^b

^{a-b}Bir sütunda aynı harfi içeren değerler Tukey testine göre birbirinden farklı değildir (p>0.05)

Pastörizasyon işlemi sonucunda örneklerin pH, suda çözünür kuru madde, askorbik asit absorpsiyon katsayısı, bulanıklık ve a* değerlerinde azalma, titre edilebilir asitlik, L* ve b* değerlerinde artış gözlenmiştir. Azhuvalappil vd. (2009) da buna benzer sonuçlar elde etmişler, özellikle termal prosesin bulanık elma suyunda renk değişimine neden olduğunu ve renk pigmentlerini degradasyona uğrattığını vurgulamışlardır. Renkteki açılmanın bazı suda çözünmeyen maddelerin presipitasyonundan kaynaklandığını rapor etmişlerdir. Bu da doğal olarak bulanıklık değerinin azalmasına neden olmuştur.

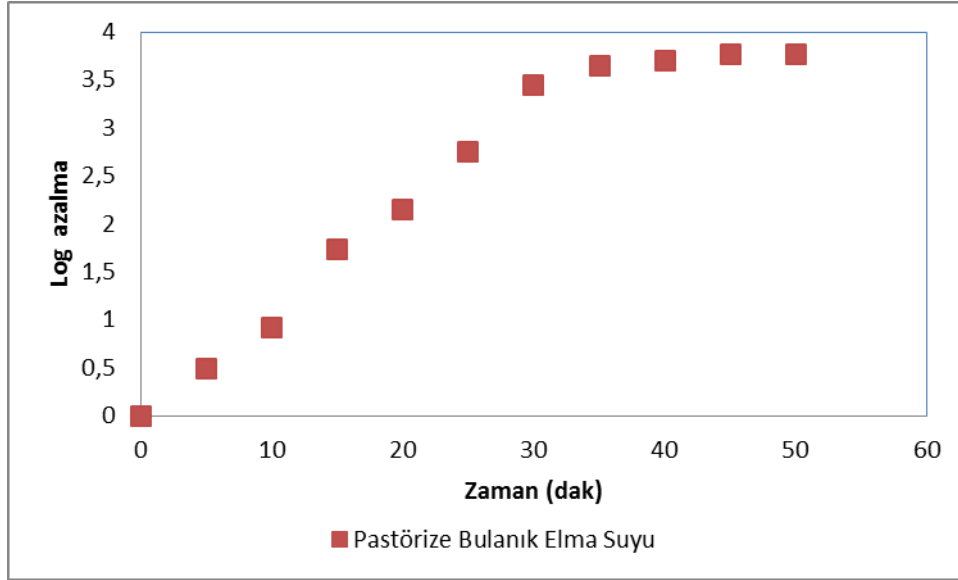
4.2. UV-LED Işıklarının Mikrobiyal İnaktivasyon Etkinliği

UV-LED lambalar kullanılarak gerçekleştirilen mikrobiyal inaktivasyon çalışmalarında, önce taze sıkılmış bulanık elma suyu pastörizasyon işlemine tabii tutulmuş ve optimum sıcaklık-süre parametreleri belirlenmiştir. Bu amaçla bulanık elma suyu asit adaptasyonu yapılmış *E. coli* K12 suşu (hedef mikroorganizma) ile 6-7 log oranında inoküle edilmiştir. Mikrobiyal azalma yayma plaka yöntemi ile streptomisin içeren genel amaçlı besiyerine (Tyriptic Soy Agar, TSA) ekim yapılarak takip edilmiştir. Ayrıca taze sıkılmış ve pastörize edilmiş örneğin içinde bulunan toplam canlı sayımı dökme plaka yöntemi ile Plate Count Agar (PCA), maya ve küf sayımı ise yayma plaka yöntemi ile Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerinde yapılarak takip edilmiştir. Taze örnekte 3,208 log toplam canlı ve 3,422 log küf maya olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, hazırlanan elma sularının koliform grubu bakteri içerip içermediği de yayma plaka metodu ile Violet Red Bile Agar (VRBA) besiyerine mikrobiyal ekim ile kontrol edilmiştir. Taze örnekte koliform bakteriye rastlanmamıştır.

Pastörizasyon normlarını belirlemek üzere Rasooley ve ark. (2010) da belirtildiği gibi, örnekler su banyosunda tüp kullanarak, 72-95 °C ve 5-20 sn arasında değişen koşullarda tutulup pastörize edilmiş ancak bu işlemde doğru sonuçlar elde edilememiştir. Bu yüzden bölüm 3.5.3'te şekli verilen sürekli akışa sahip pastörizatör tasarlanıp yaptırılmış ve bu sistem kullanılarak bulanık elma suyu 70-90 °C ve 10-480 sn arasında değişen sıcaklık süre kombinasyonları kullanılarak pastörize edilmiştir. 80°C ve üzerindeki uygulamalarda ürün renginde önemli değişimler olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak 70°C de 120 sn'de yapılan pastörizasyon işleminin hedef mikroorganizma sayısında 5 log azalmayı sağladığı ve ürünün fizikokimyasal özelliklerinde minimum olacak şekilde bir değişime neden olduğu ortaya konmuştur. Pastörize örneklerde maya-küf ve koliform bakteri gelişimi olmamıştır. Mikrobiyal inaktivasyon denemelerinde bulanık elma suyu bu süre ve sıcaklık kombinasyonu kullanılarak pastörize edilmiştir.

Çalışmanın bu aşamasında, pastörize elma suyu örneklerine belirli oranda (6-7 logkob/ml) patojen olmayan *E. coli* K12 suşu inoküle edilerek örnekler belirli bir süre (0, 3, 6, 9, 12, 15 dk), belirli sıvı derinliğinde (0,153 cm) ve farklı dozda (süre*UV intensite) farklı dalga boylarındaki (254 nm, 280 nm, 280-365 nm, 280-405 nm, 254-365 nm, 254-405nm, 254-280-365-405 dalga boyu kombinasyonları) UV-LED ışınlarına maruz bırakılmıştır. Uygulanan işlemlerle mikrobiyal yükteki azalma, yayma plaka yöntemi ile genel amaçlı besiyerine (Tyriptic Soy Agar, TSA) ekim yapılarak takip edilmiştir. Bu sistemlerde bahsedilen mikroorganizmanın etkili şekilde inaktivasyonu için gerekli olan süre, doz ve etkili dalga boyu veya kombine edilmiş dalga boyları belirlenmeye çalışılmıştır.

Literatürdeki çalışmalarda 254 nm dalga boyunda UV-C aralıkta ışınım yapan düşük basınç civalı lambalar kullanılmaktadır. Bu yüzden çalışmanın ilk aşamasında 254 nm de ışınım yapan 4 adet UV-LED lamba kullanılmış, inaktivasyon etkinliği belirlenmiştir (Şekil 5.).



Şekil 5. 254 nm dalga boyunda kullanılan UV-LED lambaların (4 lamba) *E. coli* K12 üzerine etkisi

Şekil 5'den de görüleceği üzere, seçilen süre aralığı (0-15 dk.) *E.coli* K12 inaktivasyonu için yeterli olmamış, süre 50 dk`ya uzatılmıştır. *E. coli* K12 sayısında 30 dk`ya kadar olan sürede doğrusal bir azalma gözlenmiş, 35. dakikadan sonra uygulama süresinin arttırılması ile inaktivasyon etkinliği çok fazla değişmemiştir. Bulanık elma suyuna (1909,5 NTU bulanıklık ve $15,429 \text{ cm}^{-1}$ absorpsiyon katsayısına sahip) 254 nm`de 4 lamba ile 40 dakika boyunca uygulanan UV-LED ışınlama işlemi *E. coli* K12 sayısında 3,704 log azalma sağlarken, 50 dakikada uygulanan UV-LED işlemi 3,77 log azalma sağlamıştır. Log azalma değerleri birbirinden çok farklı olmamakla beraber 50 dk. uygulanan işlem sonrası örneklerin renginde belirgin şekilde açılma meydana gelmiştir. Bu yüzden UV-LED lambalar ile yapılan denemelerde 40 dk. uygulama süresi optimum koşul olarak belirlenmiş ve kullanılmıştır.

Ngadi vd. (2003), statik bir sistem kullanarak, elma suyuna (transmitans %0,02) inoküle ettikleri *E. coli* O157:H7 sayısında 300 mJ/cm^2 UV doz uyguladıkları UV-C ışınlama işlemi ile 4,2 log azalma sağlamıştır. Caminiti vd (2012) de benzer bir sistem kullanmış ve elma suyuna ($5,81 \text{ cm}^{-1}$) inoküle ettikleri *E. Coli* K12 suşunda $53,10 \text{ J/cm}^2$ UV doz uygulayarak 4,59 log azalma sağlamıştır. Bu çalışmada 254 nm de 4 adet UV-LED lamba kullanılarak elde edilen log azalma (708 mJ/cm^2 UV dozda 3.77 log azalma) Ngadi vd (2003) ile benzerlik göstermekte ancak çok daha düşük UV dozda elde edilmiştir. Caminiti vd (2012) daha berrak bir elma suyu kullandıkları için log azalma değerleri biraz daha yüksektir. Ancak

bu çalışmada kullanılan bulanık elma suyunun absorpsiyon katsayısı daha yüksek olup ($15,429 \text{ cm}^{-1}$) ışık geçirgenliği daha düşüktür. Buna rağmen elde edilen sonuçlar Caminiti vd (2012)'nin çalışmasındaki ile benzerlik göstermektedir. Ancak kullanılan 4 lambanın 5 log azalmayı sağlayamayacağı tespit edilmiştir. Daha fazla azalma sağlamak için lamba sayısının artırılması ve yeni bir ünite tasarımı yapılması gerekmektedir.

Optimum işlem süresi (40 dk.) belirlendikten sonra, UV doz hesaplanmıştır. Aktinometrik metot ve radyometre ile ölçülen UV intensite değerleri Tablo 4'te verilmiştir. 405 nm dalga boyunda radyometrik ölçüm yapabilen bir prob bulunmadığı için bu dalga boyunda herhangi bir ölçüm değeri verilmemiştir. UV doz, standart bir metod olduğu için aktinometrik metot ile yapılan UV intensite ölçümleri kullanılarak hesaplanmıştır. Mikrobiyal inaktivasyon çalışmalarında 365 ve 405 nm dalga boyundaki lambalar 254 nm ve 280 nm ile kombine edilerek kullanılmış, ancak bu kombinasyonlarda aktinometrik bir ölçüm yapılamamıştır.

Tablo 4. UV intensite ve UV doz değerleri

Lamba dalga boyu (nm)	Radyometrik yöntemle ölçülen UV intensite değerleri (mW/cm^2)	Aktinometrik yöntemle ölçülen UV intensite değerleri (mW/cm^2)	UV doz* (mJ/cm^2)
254	0,26	0,2950	708
280	0,39	0,3215	771,6
365	1,27	0,7895	-
405	-	-	-

*40 dk. uygulama süresine göre hesaplanan değerler

Farklı dalga boylarındaki UV-LED lambaların bu işlem süresinde bulanık elma suyuna inoküle edilen *E. coli* K12 üzerinde meydana getirdiği inaktivasyon etkileri, logaritmik azalma değerleri gözönünde bulundurularak incelenmiştir (Tablo 5). Bu çalışmada kullanılan elma suyunun bulanıklık değeri 908,5 NTU'dur. 254 nm, 280 nm ve 365 nm'deki absorpsiyon katsayıları $19,184 \text{ cm}^{-1}$, $24,712 \text{ cm}^{-1}$ ve $4,246 \text{ cm}^{-1}$ dir. Bir önceki çalışmada kullanılan elma suyuna göre 254 nm'deki absorpsiyon katsayısı daha yüksek, bulanıklık daha düşüktür. Bu farklılık elma suyu örneklerinin belirli zaman aralıkları ile marketten alınan elmalardan farklı zamanlarda sıkılmasından kaynaklanmaktadır. Dolayısı ile iklim ve dönemsel değişimler elma ve elma suyu kompozisyonu üzerinde farklılık yaratmaktadır. Ayrıca elma suyu eldesinde uygulanan filtrasyon, santrifüj vb. gibi fiziksel işlemler de farklılık unsurudur. Bu yüzden yapılan her denemede kullanılan elma suyunun bulanıklık ve absorpsiyon katsayısı

verilmek zorundadır. Zira bunlardaki farklılık ışık geçirgenliğini etkilemekte sonuç olarak mikrobiyal inaktivasyon değerlerini değiştirmektedir.

Tablo 5.Farklı UV-LED ışınlarının bulanık elma suyuna inoküle edilen *E. coli* K12 sayısında meydana getirdiği logaritmik azalma (kob/mL) değerleri

zaman (dak)	254 nm	280 nm	280-365 nm	280-405 nm	254-365 nm	254-405 nm	254/280/365/405 nm
0	0	0	0	0	0	0	0
20	1,10±0,01	1,63±0,09	0,94±0,21	0,97±0,22	0,60±0,09	0,37±0,08	1,05±0,42
40	1,64±0,05	2,00±0,06	1,98±0,39	1,26±0,08	1,38±0,11	1,18±0,34	1,72±0,33

Tablo 5'den de görüleceği üzere 7 lamba kombinasyonu kullanıldığında, en yüksek inaktivasyon 280 nm (4 lamba) ve 280-365 nm (2lamba/2 lamba) dalga boylarında kullanılan UV-LED ışınlama işlemi ile elde edilmiştir.

280-365 nm`de elde edilen inaktivasyon etkinliği 280 nm deki sonuçlara oldukça yakındır. Dolayısı ile UV-A ışınlarının mikrobiyal etkinliği arttırdığını söylemek mümkündür. UV-A ışınları, proteinlere zarar vererek ve hücre membranı ile diğer hücresel elemanları tahrip eden hidroksil ve oksijen radikalleri oluşturarak mikroorganizmaları inaktive eden bir mekanizmaya sahiptir. Bunun yanında UV-C ise doğrudan mikroorganizmaların DNA'sına etki ederek siklobütan timin dimerleri oluşmasına neden olur ve ara basamaklar olmaksızın inaktive eder (Chatterley ve Linden, 2010; Santos vd., 2013). Bunun yanı sıra, UV-C radyasyonunun sağladığı DNA hasarı fotoliz enzimi tarafından onarılabilirken, UV-A radyasyonuna maruz kalan bakterilerin hücre membranlarında gerçekleşen hasarın tamir edilme imkanının bulunmayışı mikrobiyal inaktivasyondaki etkinliği arttırmaktadır (Chevremont vd. 2012a). Chevremont vd. (2012a), sadece 280 ile 365 nm ve 280 ile 405 nm dalga boyundaki LED'lerin eşleştirilmesinin mezofilik bakteri sayısında işlem görmemiş atık sulara göre önemli bir azalmaya neden olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca LED'lerin bu kombinasyonlarda kullanımı atık sulardaki fekal enterokokların, toplam koliformların ve fekal koliformların tamamen yok edilmesini sağlamıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise sudaki bakteriyel viruslerin inaktivasyonu için 280 nm dalga boyunun çok etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca 280 nm LED'lerin üretiminin düşük alüminyum (Al) içeriğinden ötürü 255 nm LED'lerin üretimine göre daha kolay olduğu ifade edilmiştir (Aoyagi ve ark. 2011). Bowker vd. (2011) da, proteinlerin UV absorpsiyon spektrumlarının 280 nm civarında tepe noktasına ulaştığını, bu nedenle de onarıcı enzimlerin UV radyasyon tarafından 280 nm civarında hasara uğradığı rapor edilmiştir. İlaveten, 269 nm civarındaki yüksek dezenfeksiyon kapasitesinin, 280 nm civarındaki yüksek foton etkinliği ile telafi edildiği de literatürde yer almaktadır (Würtele vd.,

2011). Literatür taraması, su dezenfeksiyonu için UV-LED'lerin etkinliği üzerine yapılmış sınırlı sayıda çalışma olduğunu göstermiştir. Öte yandan, bu yeni teknolojinin meyve suyu pastörizasyonu üzerine herhangi bir uygulaması bulunmamaktadır. Dolayısı ile elde edilen verilerin karşılaştırmasını yapmak zordur.

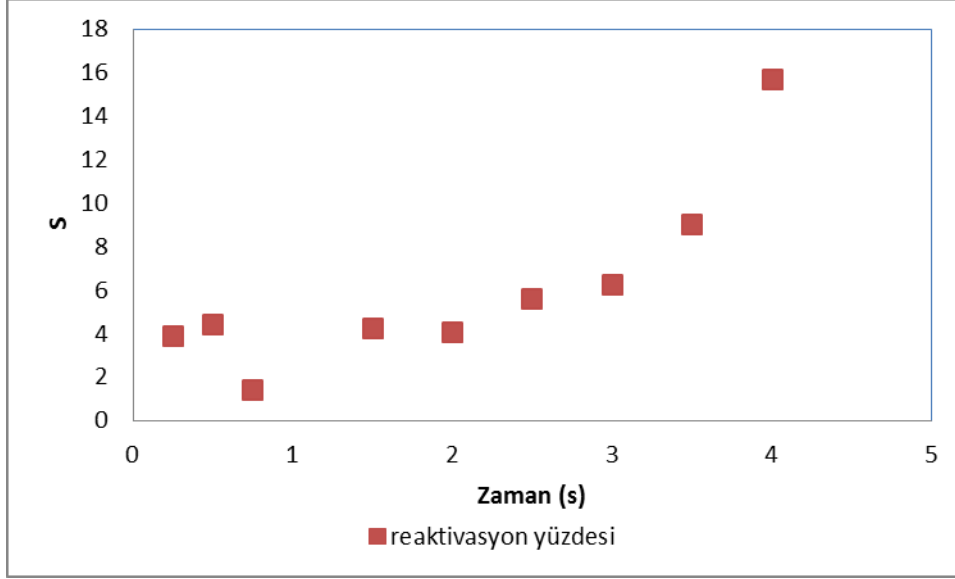
Bir sonraki aşamadaki çalışmalar ise 280 nm ve 280-365 nm dalga boylarında uygulanan UV-LED işlemlerinin tekrar edilip en fazla mikrobiyal inaktivasyon sağlayan optimum dalga boyuna karar verilmesini kapsamaktadır. Bu amaçla 791,5 NTU bulanıklık değerine, 280 nm ve 365 nm`de $25,95 \text{ cm}^{-1}$ ve $6,39 \text{ cm}^{-1}$ absorpsiyon katsayılarına sahip elma suyu kullanılmıştır. Yine 280 nm de uygulanan UV-LED ışınlama işleminin daha yüksek inaktivasyon (2,24 log) sağladığı görülmüştür (Tablo 6). Uygulama süresinin 60 dk.`ya çıkarılması logaritmik azalmada çok büyük farklılık oluşturmamıştır.

Tablo 6. 280 nm ve 280-365 nm UV-LED ışınlarının bulanık elma suyuna inoküle edilen *E. coli* K12 sayısında meydana getirdiği logaritmik azalma (kob/mL) değerleri

zaman (dak)	280 nm	280-365 nm
0		
20	2,05±0,06	1,75±0,03
40	2,24±0,03	2,05±0,06
60	2,43±0,09	2,10±0,03

Sonuç olarak; bulanık elma suyuna inoküle edilen *E. Coli* K12 üzerinde en yüksek mikrobiyal inaktivasyon etkinin,280 nm dalga boyunda kullanılan 4 UV-LED lamba ve 40 dk. uygulama süresi ile sağlandığı bulunmuştur.

Son aşamada ise 280 nm dalga boyunda 40 dk UV-LED işlemi uygulanmış bulanık elma suyunda, hasar görmüş fakat canlı kalmış ancak koloni oluşturamamış *E. coli* hücrelerinin reaktif olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla işlem gören elma suyu örnekleri 4 saat süresince oda sıcaklığında gün ışığına maruz bırakılmıştır. TSA besiyerine mikrobiyal ekim yöntemiyle ekilen mikroorganizmalar sayılarak hücrelerde meydana gelen DNA onarımının varlığı araştırılmıştır (Şekil 6). Böylelikle UV-LED uygulamasının DNA onarıcı enzimleri de etkisiz hale getirme yeteneği ölçülmüştür.



Şekil 6. UV-LED işlemi uygulanmış (280 m, 40 dk.) elma suyu örneklerinde bulunan *E. coli* K12 hücrelerinin reaktivasyon grafiği

Şekil 6'dan görüleceği üzere, UV işleminden zarar görmüş *E. coli* hücreleri yapılarında bulunan DNA onarıcı enzimler sayesinde, UV ışınlarının meydana getirdiği hasarı giderebilmiştir. 1 saat sonunda hücre sayısındaki artış sadece %2 civarında iken 4 saat gün ışığına bırakılmış hücrelerin sayısı %15,68 oranında artmıştır. Gün ışığına maruz kalan hücrelerin UV işlemi sonrası yapılarında bulunan fotolizaz enzimi sayesinde DNA'larındaki hasarı onarabildikleri rapor edilmiştir (Süß vd., 2009). Bu olay fotoreaktivasyon olarak bilinmektedir. Süß vd. (2009) 400 mJ/cm² dozda UV-C ışınlama (254 nm) ile muamele ettikleri atık suda bulunan referans mikroorganizmalardan *Enterococcus faecium* reaktivasyon kinetiğini incelemiş, 48 saat sonunda hücre sayısında bizim çalışmamızdakine benzer şekilde %10,82 oranında artış gözlemlemişlerdir.

Elde edilen sonuçlara bakarak UV-LED uygulamasının DNA onarıcı enzimleri etkisiz hale getirme yeteneği olduğu söylenebilir. Ancak hücrelerin ışığa ihtiyaç duymadan karanlık ortamda da kendilerini onarma mekanizmaları bulunmaktadır. Bu da "dark repair" olarak adlandırılmıştır. Bu konunun daha derinlemesine ve kapsamlı bir şekilde araştırılması önerilmektedir.

4.3. UV-LED Işınlarının Enzim İnaktivasyon Etkinliği

Tablo 7'de termal pastörizasyon ve UV-LED ışınlama işlemlerinin PPO enzim aktivitesi üzerine olan etkisi gösterilmiştir. Enzim aktivitesi tayininde 4-metilKateşolün (Falguera vd., 2011) ve kateşolün (Fonteles vd., 2012) substrat olarak kullanıldığı 2 farklı yöntem denenmiştir. Ancak bu iki yöntem arasında önemli bir farklılık görülmemiş, Tablo

7'deki sonuçlar Fonteles vd. (2012) önerdiği şekilde substrat olarak kateşol kullanılan metoda göre verilmiştir. 70°C de 120 sn termal pastörizasyon işlemi, PPO enzim aktivitesini %22,34 e düşürmüş yani %77,66 oranında bir inaktivasyon sağlamıştır. 280-365 nm UV-LED lambalar kullanıldığında ise enzim aktivitesi %33,81 e indirilmiş bir diğer deyişle %66,19 oranında bir inaktivasyonsağlanmıştır. 280 ve 254 nm dalga boylarında ise PPO enzimi %29,53 ve %43,65 oranında inaktive edilmiştir. Genel olarak, UV-LED lambalar kombine olarak kullanıldığında PPO enzimi üzerinde daha iyi bir inaktivasyon etkisi yaratılmıştır.

Tablo 7. Termal pastörizasyon ve UV-LED ışınlama işlemlerinin PPO enzim aktivitesi üzerine etkisi

	Termal			UV-LED Işınlama (40 dak.)						
	70 °C, 100 sn	70 °C, 120 sn	85 °C, 15 sn	254 nm	280 nm	254/365 nm	254/405 nm	280/365 nm	280/405 nm	254/280/ 365/405 nm
Residual Enzim Aktivitesi (%)	25,76	22,34	27,37	70,47	56,35	50,01	47,77	33,81	34,41	42,89

Yüksek oranda absorplayıcı bir ortamda (örneğin bulanık meyve sularında) UV-C ışığı yeterli miktarda nüfuz edememektedir. Dolayısı ile UV-C ışınlarının meyve suyu kalitesine etki eden enzimlerden pektinmetilesteraz (PME), polifenoloksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) enzimleri üzerine bir etkisi olmadığı rapor edilmiştir (Tran ve Farid, 2004; Noci vd., 2008). Müller vd. (2014) UV-C ve UV-B ışınlarının elma ($52,4 \text{ cm}^{-1}$) ve üzüm ($43,5 \text{ cm}^{-1}$) suyunda bulunan PPO enzimi üzerindeki etkilerini, dean vortex sürekli akış tipinde bir UV cihazı kullanarak incelemiştir. UV-B (290-315 nm) ışınlarının PPO enzimi üzerinde herhangi bir inaktivasyon etkisinin olmadığını, UV-C (253,7 nm) ışınlarının 100,48 kJ/L gibi çok yüksek bir dozda uygulandığı zaman, elma ve üzüm suyundaki PPO aktivitesinde %20 ve %40 bir azalma sağladığını tespit etmişlerdir. Falguera vd. (2011) 250-740 nm dalga boylarında ışınım yapan 400 W gücünde yüksek basınç civalı UV lamba kullanarak taze sıkılmış elma suyundaki PPO, POD ve PME aktivitesindeki değişimi incelemiştir. 100 dk. bir uygulama süresi sonunda PPO aktivitesi, 15 dk. sonunda POD aktivitesi, 40 dk. sonunda PME aktivitesi sıfırlanmıştır.

Sonuç olarak PPO enzim aktivitesi, hem düşük sıcaklıkta uygulanan ılımlı termal pastörizasyon ile hem de UV-LED ışınlama ile sıfırlanmamış olsa da elde edilen veriler ışığında, UV-C ışınlama işleminde kullanılan düşük basınç civalı lambalar ile karşılaştırıldığında, UV-LED lambaların PPO enzimi üzerinde inaktivasyon etkisinin daha

yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca UV-LED ışınlarının mikrobiyal inaktivasyon etkinliğinin 280 nm`de daha yüksek, enzim inaktivasyon etkinliğinin ise 280-365 nm kombine dalga boylarında daha yüksek olduğu ortaya konmuştur.

4.4. Depolama Sırasında Elma Suyunda Meydana Gelen Değişimler

Çalışmanın son bölümünde, UV-LED işlemi (280/365 nm, 40 dk) ve termal pastörizasyon (70°C, 120 sn) uygulanarak oda sıcaklığında ve buzdolabı koşullarında saklanan elma suyu örneklerinin renginde, askorbik asit içeriğinde, mikrobiyal yükünde ve ayrıca PPO enzim aktivitesinde nasıl bir değişiklik olduğu araştırılmıştır. PPO aktivitesinin depolama boyunca takip edilmesi nedeni ile elma suyu örnekleri 280 nm yerine en yüksek enzim inaktivasyonunun sağlandığı 280-365 nm dalga boylarında 40 dk süre ile işleme tabii tutulmuştur. Örnekler buzdolabı ve oda koşullarında 1 ay depolanmıştır. Ancak oda koşullarında depolanan ürünlerin mikrobiyal raf ömrü 2-3 gün, buzdolabı koşullarında bekletilen elma suyu örneklerinin raf ömrü 14 gün ile sınırlı kalmıştır. Dolayısı ile sadece buzdolabı koşullarında saklanan örneklere ait veriler raporda sunulmuştur.

Depolamanın ilk gününde (0. gün) yapılan renk analizlerinde, pastörize ve kontrol grubu örneklerin L^* (koyuluk-açıklık) değerleri birbirinden farklı değildir ($p>0,05$), UV-LED işlemine tabii tutulmuş örneklerin L^* değeri ise daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 8). Yani UV işlemine maruz kalan elma suyu daha koyu renge sahiptir. Tandon vd. (2003) de benzer şekilde UV ile işlem görmüş bulanık elma suyu örneklerinin sıcak dolmuş yapılan örneklerden biraz daha koyu renkte olduğunu rapor etmiştir. Aynı şekilde Müller vd. (2014) de UV-C ve UV-B ışınlama işlemi uyguladıkları taze sıkılmış bulanık elma suyu örneklerinin L^* değerlerinde azalma yani koyulaşma olduğunu belirtmiştir. Bu durum elma suyunda bulunan PPO enziminin katalize ettiği esmerleşme reaksiyonuna dayandırılmıştır. Pastörize ve UV-LED işlemine maruz kalmış elma suyu örneklerinin a^* (kırmızılık-yeşillik) ve b^* (sarılık-mavilik) değerleri, kontrol grubu örneklerin değerlerinden önemli ölçüde farklı bulunmuştur ($p<0,05$). Pastörize elma suyunun a^* ve b^* değerleri azalırken, UV-LED işlemi gören örneklerin a^* ve b^* değerleri artmıştır. Müller vd. (2014) UV-C ve UV-B ışınlama sonrası elma suyunun a^* ve b^* değerlerinde artış olduğunu yani elma suyunun daha kırmızı ve sarı renk aldığını rapor etmiştir. Bu durum UV-C ışığın enzimatik olmayan esmerleşmeye neden olması ile açıklanmıştır. Elma suyunun fenolik bileşenlerinin foto-oksidasyona uğrayarak koyu renkli bileşenlere dönüştüğü ifade edilmiştir (Manzocco vd., 2009).

Tablo 8. Depolama sırasında renk, askorbik asit ve PPO enzim aktivitesindeki değişim

	Renk			Askorbik asit (mg/L)		Residual enzim aktivitesi (%)	
		0. gün	14.gün	0. gün	14. gün	0.gün	14.gün
Kontrol	L*	29.07±0.10 ^{Ba}	29.05±0.04 ^{Ba}	1,69	4,50	-	-
	a*	0.34±0.08 ^{Ba}	2.85±0.30 ^{Bb}				
	b*	9.43±0.06 ^{Ba}	12.25±0.47 ^{Bb}				
Pastörize	L*	29.98±0.07 ^{Bb}	29.75±0.06 ^{Ca}	0,563	3,09	18.18±0.16 ^a	18.05±1.08 ^a
	a*	0.16±0.019 ^{Aa}	0.24±0.02 ^{Ab}				
	b*	3.61±0.08 ^{Ab}	3.37±0.03 ^{Aa}				
UV-LED	L*	27.34±0.07 ^{Ab}	27.20±0.05 ^{Aa}	3,66	1,40	31.30±0.89 ^a	30.26±2.04 ^a
	a*	3.12±0.17 ^{Ca}	3.33±0.06 ^{Ca}				
	b*	10.27±0.16 ^{Ca}	13.22±0.03 ^{Cb}				

^{A-C} Bir sütunda aynı harfi içeren değerler Tukey testine göre birbirinden farklı değildir (p>0.05)

^{a-b} Bir satırda aynı harfi içeren değerler Tukey testine göre birbirinden farklı değildir (p>0.05)

Depolama süresi sonunda (14. Gün) kontrol, pastörize ve UV-LED işlemi uygulanmış tüm örneklerin L* değerlerinde azalma, a* ve b* değerlerinde genel olarak artış görülmüştür. Sadece pastörize örneğin b* değerinde bir miktar azalma kaydedilmiştir. Sonuç olarak elma suyu örnekleri depolama sonunda daha koyu, kırmızı ve sarı renk almıştır. Yine bu durum yukarıda da ifade edildiği gibi enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları ile açıklanabilir.

Depolama süresi boyunca elde edilen askorbik asit değerleri tutarsız bulunmuştur. Bunun kullanılan yöntemden kaynaklandığı düşünülmektedir. Daha farklı yöntemlerle bu denemelerin tekrar edilmesi düşünülmektedir.

Depolama süresi boyunca PPO enzim aktivitesinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.

Depolama sırasında kontrol, pastörize ve UV-LED işlemi uygulanmış elma suyu örneklerindeki mikrobiyal gelişim Tablo 9`da gösterilmiştir. Buna göre pastörize örneklerde 14 gün sonunda herhangi bir mikrobiyal üreme olmamış, ancak UV-LED uygulanmış ve kontrol örneklerinde toplam mezofil aerob bakteri ve maya-küf sayısı artmış, koliform bakteriye ise rastlanmamıştır. UV-LED uygulanmış elma suyu örnekleri başlangıçta (0. gün) kontrol grubu örneklere nazaran daha yüksek toplam bakteri ve maya-küf içermektedir. Bunun taze elma suyu eldesinde kullanılan elmaların üzerinde gelen mikrobiyal yükün farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. "Kullanılan elmalar Mayıs ayında marketten alınmıştır. Kontrol amaçlı yapılan mikrobiyal ekimlerde elmaların sadece yüzeyinde değil içersindeki etli kısımda da çok yüksek miktarda bakteri ve maya olduğu tespit edilmiştir". Kontrol örneklerinin 7. gün itibari ile bozulmaya başladığı (> 4-5 log kob/mL) ve 14. gün

sonunda tamamen bozulduğu ($> 5 \log$ kob/mL) görülmüştür. UV-LED uygulanmış elma suyu örneklerinde bozulma daha geç başlamış 14. gün sonundaki mikrobiyal yükü kontrol örneklerinin sahip olduğu değerlerden daha düşük kalmıştır. Bozulmaya daha çok maya-küf gelişiminin neden olduğu söylenebilir. UV-LED ışınlarının maya veya küfler üzerindeki mikrobiyal etkinliği daha düşüktür. Dolayısı ile bakteri gelişimi 14. gün sonunda daha düşük olmuş, maya-küf gelişimi ise daha yüksek oranda seyretmiştir.

Tablo 9. Depolanan elma suyu örneklerinin mikrobiyal stabilitesi

		0. gün	14.gün
Kontrol	Toplam aerobik bakteri	3.16 ± 0.11^a	5.70 ± 0.07^b
	Maya-Küf	3.15 ± 0.01^a	4.88 ± 0^b
	Koliform bakteri	0^a	0^a
Pastörize	Toplam aerobik bakteri	0^a	0^a
	Maya-Küf	0^a	0^a
	Koliform bakteri	0^a	0^a
UV-LED	Toplam aerobik bakteri	3.28 ± 0.02^a	5.02 ± 0.05^b
	Maya-Küf	3.28 ± 0.01^a	4.98 ± 0.08^b
	Koliform bakteri	0^a	0^a

^{a-b} Bir satırda aynı harfi içeren değerler Tukey testine göre birbirinden farklı değildir ($p > 0.05$)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

UV-LED ışınlama işleminin taze sıkılmış bulanık elma suyuna uygulanması sonucunda erişilmesi amaçlanan sonuçlar, elde edilen çıktılar ve bazı öneriler aşağıda sıralanmıştır:

1. Erişilmek istenen sonuç: UV-C ışınlamada kullanılan lambalara göre daha ucuz, uzun ömürlü, dayanıklı, daha az yer kaplayan ve toksik madde içermeyen UV-LED'lerin taze sıkılmış elma suyunda kombine edilen dalga boylarında mikrobiyal güvenliği sağlayıp sağlamadığı gösterilecektir.

Çıktılar: Tasarımı yapılan 4 lambalık UV-LED ünitesi bulanık elma suyunda hedeflenen 5 log azalmayı sağlayamamıştır. Ancak 280 nm ve 280-365 nm dalga boylarında kullanılan UV-LED lambaların 254 nm (~253,7 nm) dalga boyuna sahip UV-LED lambalardan daha yüksek mikrobiyal inaktivasyon etkinliği sağlamış olması, ilk ve temel çalışmalardan biri olarak literatüre önemli deneysel ve bilimsel veriler sağlayacaktır. Bulanık elma suyunda elde edilen inaktivasyon değerleri umut vericidir, benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında kullanılan UV doz çok düşüktür. Bu da UV-LED lambaların UV-C lambalara göre daha ekonomik olduğunu göstermektedir.

Öneri: Lamba sayısının artırılarak 5 log azalmayı sağlayacak yeni bir ünitenin tasarlanması (hafif ılımlı ısı işlem kombine edilerek de olabilir) gerekmektedir. Kombine edilmiş lambaların UV intensite değerleri aktinometrik yöntemle tekrar belirlenmelidir.

2. Erişilmek istenen sonuç: Ürün kalitesi açısından sorunlara neden olan enzimlerin ısı olmayan bu yeni teknikte ne oranda inaktive edilebildiği gösterilecektir.

Çıktılar: Literatürdeki çalışmalarda 254 nm dalga boyunda UV-C ışınlarının PPO enzim inaktivasyonu üzerine herhangi bir etkisi olmadığı ya da çok düşük oranda olduğu rapor edilmiştir. Ancak bu çalışmada PPO enziminde ılımlı ısı işlem ile % 77.66 oranında bir azalma sağlanırken 280-365 nm dalga boyundaki UV-LED lambalar ile %66,19 oranında bir inaktivasyon sağlanmıştır. Bu sonuç, literatürde var olan ve yüksek basınçlı civalı UV-C/ UV-A lambalar kullanılarak, yüksek UV dozlarında yapılan çalışmalardan elde edilen değerlerden çokdaha yüksektir. Aynı zamanda kullanılan UV doz çok daha düşüktür. UV-LED lambaların yüksek enzim inaktivasyonu sağladığı doğrulanmıştır.

Öneri: Bu tip lambaların kullanımı ile meyve suyu pastörizasyonu için daha etkili yeni UV pastörizasyon cihazlarının tasarımı yapılmalıdır.

3. Erişilmek istenen sonuç: Kullanılan teknolojinin elma suyunun bazı kalite kriterlerine (renk, askorbik asit içeriği, PPO enzim aktivitesi, mikrobiyal stabilite) olan etkisinin ortaya koyulması.

Çıktılar: UV-LED işlemi, seçilen koşullarda, elma suyunun raf ömrünü 14 gün uzatabilmiştir. Kontrol örnekleri 7 günde bozulmağa başlamıştır. Planlanan 1 aylık raf ömrü



sağlanamamıştır. Bunun bir nedeni UV-LED`lerin maya ve küfler üzerine olan etkinliğinin UV-C ışınlarında olduğu gibi düşük olması diğer bir nedeni ise yüksek mikrobiyal yüke sahip elmalardan elma suyu elde edilmiş olmasıdır. Askorbik asit değerleri kullanılan yöntemlerin doğru sonuç vermemesi nedeni ile tam olarak değerlendirilememiştir. PPO enzim aktivitesinde depolama süresince herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Tüm örneklerin rengi depolama sırasında daha koyuya, daha kırmızıya ve sarıya doğru değişmiştir.

Öneri: Depolama çalışmaları, mikrobiyal ve enzim inaktivasyonu denemeleri bitirildikten sonra, Starking çeşidi elmaların hasat sezonunun sonunda gerçekleştirilmiştir. Ancak kullanılan elmalarda yüksek mikrobiyal yüke rastlanmıştır. Bu durum elma sularının mikrobiyal raf ömrünün kısa olmasına neden olmuştur. Bu yüzden bu denemelerin tekrar edilmesi ve elde edilen sonuçların doğrulanması gerekmektedir. Ayrıca askorbik asit analizi için daha güvenilir bir yöntemin (HPLC vb.) kullanılması önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma projesini (Proje No: TOVAG-113O200) destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) ve İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü'ne teşekkür ederiz.



KAYNAKLAR

- Acar, J., Gökmen, V. ve Taydaş, E.E. 1998. "The effects of processing technology on the patulin content of juice during commercial apple juice concentrate production", *Z Lebensm Unters Forsch A* 207,328-331.
- Adhikari, C., Koutchma T., Beecham- Bowden, T. 2005. "Evaluation of HHEVC (4, 4', 4" -tris-di-B-hydroxyethyl aminotriphenylacetoneitrile) Dye as a Chemical Actinometer in Model Buffers for UV Treatment of Apple Juice and Cider", *LWT* 38,717-725.
- Aguilar-Rosas, S.F., Ballinas-Casarrubias, M.L., Nevarez-Moorillon, G.V., Martin-Belloso, O. and Ortega-Rivas, E. 2007. "Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: effects on physicochemical properties and flavour compounds", *Journal of Food Engineering* 83,41-46.
- Akdağ, E. 2011. "Türkiye Meyve suyu ve benzeri ürünler sanayi raporu". Meyve suyu endüstrisi derneği (MEYED), İstanbul,pp:14-16.
- American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition, 2001. "The use and misuse of fruit juice in pediatrics", *Pediatrics* 107(5),1210-1213.
- Aoyagi Y., Takeuchi M., Yoshida K., Kurouchi M., Yasui N., Kamiko N., Araki T., Nanishi Y. 2011. "Inactivation of Bacterial Viruses in Water Using Deep Ultraviolet Semiconductor Light-Emitting Diode", *Journal of Environmental Engineering* 137(12), 1215-1218.
- Azhuvalappil Z., Fan X., Geveke D.J., Zhang H.Q. 2010. "Thermal and Nonthermal Processing of Apple Cider: Storage Quality Under Equivalent Process Conditions", *Journal of Food Quality* 33,612–631.
- Bank H.L., Schmehl, J.L., Dratch, R.J. 1990. "Bacteriocidal Effectiveness of Modulated UV Light", *Applied and Environmental Microbiology*, 56, 3888-3889.
- Basaran-Akgul, N., Churey, J.J., Basaran, P. and Worobo, R.W. 2009. "Inactivation of different strains of Escherichia coli O157:H7 in various apple ciders treated with dimethyl dicarbonate (DMDC) and sulfur dioxide (SO₂) as an alternative method", *Food Microbiology* 26,8-15.
- Bates, R.P., Morris, J.R. and Crandall, P.G. 2001. "Principles and practices of small- and medium-scale fruit juice processing", *FAO Agricultural Services Bulletin* 146, p 135-149.
- Begum, M., Hocking-Ailsa, D., Miskelly, D. 2009. "Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation", *International Journal of Food Microbiology* 129,74-77.
- Beltran, J.A.G. and Canovas-Barbosa V.G. 2005. "Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice by ultraviolet light", *Journal of Food Process Engineering* 28,437-452.
- Bintsis, T., Tzanetaki, E.L. and Robinson, R.K. 2000. "Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry – a critical review", *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80,637-645.

- Bolton, J.R., Linden, K.G. and ASCE, M. 2003. "Standardization of methods for fluence UV dose determination in bench-scale UV experiments", *Journal of Environmental Engineering* 129(3),209-215.
- Borenstein, A.R., Dai, Q., Wu, Y., Jackson, J.C. and Larson, E.B. 2005. "Consumption of fruit and vegetable juices predicts a reduced risk of AD The Kame Project", Presented at Alzheimer's Association International Conference on the Prevention of Dementia Washington DC, p161.
- Bowker, C., Sain, A., Shatalov, M., Ducoste, J. 2011. "Microbial UV Fluence-Response Assessment Using a Novel UV-LED Collimated Beam System", *Water Research* 45,2011-2019.
- Cadet J., Sage, E., Douki T., 2005. "Ultraviolet Radiation-Mediated Damage to Cellular DNA", *Mutation Research*, 571, 3-17.
- Caminiti I.M., Palgan I., Muñoz A., Noci F., Whyte P., Morgan D.J., Cronin D.A., Lyng J.G. 2012. "The Effect of Ultraviolet Light on Microbial Inactivation and Quality Attributes of Apple Juice", *Food Bioprocess Technol* 5,680–686.
- Cemeroğlu, B. 2007."Gıda Analizleri", Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları.
- Cemeroğlu, B., 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi (2. Basım). Ankara:Başkent Klişe Matbaacılık.
- Chang, S.S. ve Kang, D.H. 2004. *Alicyclobacillus* spp. in the fruit juice industry: history characteristics, and current isolation / detection procedures", *Critical Reviews in Microbiology* 30, 55-74.
- Chatterley, C. ve Linden, K. 2010. "Demonstration and Evaluation of Germicidal UV-LEDs for Point-Of-Use Water Disinfection", *Journal of Water and Health* 8(3), 479-486.
- Chevremont, A.C., Farnet, A.M., Coulomb, B., and Boudenne J.L. 2012a. " Effect of Coupled UV-A and UV-C LEDs on Both Microbiological and Chemical Pollution of Urban Wastewaters", *Science of the Total Environment* 426, 304-310.
- Chevremont, A.C., Farnet, A.M., Sergent, M., Coulomb, B., Boudenne, J.L. 2012b. " Multivariate Optimization of Fecal Bioindicator Inactivation by Coupling UV-A and UV-C LEDs", *Desalination* 285, 219-225.
- Choi, L.H. ve Nielsen, S.S. 2004. "The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability" *Journal of Food Quality* 28,13-29.
- Cieminis K. G. K., Rančelien, V. M., Prijalgauskien, A. J., Tiunaitien, N. V., Rudzianskait, A. M., Jančys, Z. J., 1987. "Chromosome and DNA Damage and Their Repair in Higher Plants Irradiated with Short-Wave Ultraviolet Light", *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 181 (1), 9-16.
- Cook, K.A., Dobbs, T.E., Hlady, W.G., Wells, J.G., Barrett, T.J., Puhr, N.D., Lancette, G.A., Bodager, D.W., Toth, B.L., Genese, C.A., Highsmith, A.K., Pilot, K.E., Finelli, L. and Swerdlow, D.L. 1998. "Outbreak of Salmonella Serotype Hartford Infections Associated With Unpasteurized Orange Juice", *JAMA* 280(17),1504-1509.

Corrêa de Souza, M.C., Benassi, M.T., Meneghel, R.F.A. and Sérgio dos Santos Ferreira da Silva, R. 2004. "Stability of Unpasteurized and Refrigerated Orange Juice", Brazilian Archives of Biology and Technology, 47(3), 391-397.

Danielczuk J., Pietrzykowski, R., Zielifski, W. 2004. "Comparative Study of the Enzymatic Method for Determination of Vitamin C with Routine Methods according to ISO", Polish Journal of Food and Nutrition Sciences 13(54), 41-46.

Ekşi, A. ve Karadeniz. F. 1991. Natürliche zuckerverteilung von apfelsaft aus der sorte Amasya. Flüss Obst., 58(2), 70-71.

Falguera V., Pagan, J., Ibarz, A. 2011. "Effect of UV Irradiation on Enzymatic Activities and Physicochemical Properties of Apple Juices from Different Varieties.", LWT- Food Science and Technology 44,115-119.

Foley, D.M., Pickett, K., Varon, J., Lee, J., Min, D.B., Caporaso, F. and Prakash, A. 2002. "Pasteurization of fresh orange juice using gamma irradiation: Microbiological, flavor, and sensory analyses", Journal of Food Science- Food Microbiology and Safety 67(4), 1495-1501.

Fonteles T.V, Costa M.G.M, Tibério de Jesus A.L. , Alcântara de Miranda M.R., Fernandes F.A.N., Rodrigues S. 2012. "Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: Effects on quality parameters", Food Research International, 48, 41-48.

Food and Drug Administration 1998. "Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP); Procedures for the Safe and Sanitary Processing and Importing of Juice", Federal Register Proposed Rules 63(79),20450- 20486.

Gayán, E., Serrano, M.J., Raso, J., Álvarez, I., Condón S. 2012. "Inactivation of Salmonella enterica by UV-C light and by its combinations with mild temperatures", Appl. Environ. Microbiol. doi:10.1128/AEM.02010-12.

Gıda Teknolojisi Derneği 2009. "Meyve suyu üretimi" <http://gidateknolojisi.wordpress.com/2009/04/18/meyve-suyu-uretimi/> (son erişim tarihi 2 Eylül 2014).

Gökmen, V. Ve ve Acar, J. 1998. "Incidence of patulin in apple juice concentrates produced in Turkey", Journal of Chromotography A 815:99-102.al of Food Quality 25,359-368.

Graumlich, T.R., Marcy, J.E. and Adams, J.P. 1986. "Aseptically Packaged Orange Juice and Concentrate: A Review of the Influence of Processing and Packaging Conditions on Quality", J. Agric. Food Chem. 34,402-405.

Guiavarc'h, Y., Segovia, O., Hendrickx, M. and Loey, A.V. 2005. "Purification, characterization, thermal and high-pressure inactivation of a pectin methylesterase from white grapefruit (Citrus paradisi)", Innovative Food Science and Engineering Technologies 6,363-371.

Gupta, B.S., Masterson, F., Magee, T.R.A. 2003. "Inactivation of E. coli K12 in apple juice by high voltage pulsed electric field", Eur Food Res Technol 217, 434-437.

Hamamoto, A., M. Mori, A. Takahashi, M. Nakano, N. Wakikawa, M. Akutagawa, T. Ikehara, Y. Nakaya and Y. Kinouchi. 2007. " New Water Disinfection System Using UVA Light-Emitting Diodes", Journal of Applied Microbiology 103,2291-2298.

Ingallinera, B., Barbagallo, R.N., Spagna, G., Palmeri, R. and Todaro, A. 2005. "Effects of thermal treatments on pectinesterase activity determined in blood oranges juice", *Enzyme and Microbial Technology* 36,258-263.

Kadalkal, Ç., Sebahattin, N. ve Poyrazoğlu, E.S. 2002. "Effect of commercial processing stages of apple juice on patulin, fumaric acid and hydroxymethylfurfural (HMF) levels", *Journal of Food Quality*, 25(4), 359-368.

Keevil, J.G., Osman, H. E., Reed, J. D. and Folts, J. D. 2000. "Grape Juice, But Not Orange Juice or Grapefruit Juice, Inhibits Human Platelet Aggregation", *The Journal of Nutrition* 130, 53-56.

Kim, H.B.ve Tadini, C.C. 1999. "Effect of different pasteurization conditions on enzyme inactivation of orange juice in pilot-scale experiments", *Journal of Food Process Engineering* 22, 395-403.

Koutchma, T. 2009. "Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods", *Food and Bioprocess Technology*, 2, 138-155.

Koutchma, T., Forney L.J., Moraru C. I. 2009. *Ultraviolet Light in Food Technology, Principles and Applications*, London: CRC Press.

Li J., Hirota, K., Yumoto, H., Matsuo, T., Miyake, Y., Ichikawa, T. 2008. "Enhanced Germicidal Effects of Pulsed UV-LED Irradiation on Biofilms", *Journal of Applied Microbiology* 109(6), 2183-2190.

Ludikhuyze, L., Indrawati, V.L., Smout, C. and Hendrickx, M. 2003. "Effects of combined pressure and temperature on enzymes related to quality of fruits and vegetables: from kinetic information to process engineering aspects", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43(5),527-586.

Manzocco, L., Quarta, B., Dri, A. 2009. "Polyphenoloxidase inactivation by light exposure MARSELLES-FONTANET, A.R., Martin- Belloso, O., Optimization and Validation of HIPEF Processing Conditions to Inactivate Oxidative Enzymes of Grape Juice. *Journal of Food Engineering* 83:452-462.

Marsellés-Fontanet, À.R., Puig, A., Olmos, P., Mínguez-Sanz, S. and Martín-Belloso, O., 2009. "Optimising the inactivation of grape juice spoilage organisms by pulse electric fields", *International Journal of Food Microbiology* 130,159-165.

Martorell, P., Stratford, M., Steels, H., Espinar, M.T.F. and Querol, A. 2007. "Physiological characterization of spoilage strains of *Zygosaccharomyces bailii* and *Zygosaccharomyces rouxii* isolated from high sugar environments", *International Journal of Food Microbiology* 114,234-242.

Matsubara, H., Goto, K., Matsumura, T., Mochida, K., Iwaki, M., Niwa M. vd. 2002. "Alicyclobacillus acidiphilus sp. nov., a novel thermo-acidophilic, ω -alicyclic fatty acid containing bacterium isolated from acidic beverages", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52, 1681-1685.

Mori M., Hamamoto A., Takahashi A., Nakano M., Wakikawa N., Tachibana S., Ikehara T., Nakaya Y., Akutagawa M., Kinouchi Y. 2007. "Development of a New Water Sterilization Device with a 365 nm UV-LED", *Med Bio Eng Comput* 45,:1237–1241.

Murakami, E.G., Jackson, L., Madsen, K. and Schickedanz, B. 2006. "Factors affecting the ultraviolet inactivation of Escherichia coli K12 in apple juice and a model system", *Journal of Food Process Engineering* 29, 53-71.

Müller A., Noack L., Greiner R., Stahl M.R., Posten C. 2014. "Effect of UV-C and UV-B treatment on polyphenol oxidase activity and shelf life of apple and grape juices", <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.05.014>.

Ngadi, M., Smith, J.P., and Cayouette, B. 2003. "Kinetics of ultraviolet light inactivation of Escherichia coli O157:H7 in liquid foods", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1551-1555.

Nicklas, T.A., O'Neil, C.E. and Kleinman, R. 2008. "Association between 100% juice consumption and nutrient intake and weight of children aged 2 to 11 years", *Arch Pediatr Adolesc Med.* 162(6), 557-565.

Nigro, F., Ippolito, A. and Lima, G. 1998. "Use of UV-C light to reduce Botrytis storage rot of table grapes", *Postharvest Biology and Technology* 13,171-181.

Noci, F., Riener, J., Walkling- Ribeiro, M., Cronin, D.A., Morgan, D.J., Lyng, J.G. 2008. "Ultraviolet Irradiation and Pulsed Electric Fields. (PEF) in a Hurdle Strategy for the Preservation of Fresh Apple Juice", *Journal of Food Engineering* 85:141-146.

Oguma, K., Katayama, H. and Ohgaki, S. 2002. "Photoreactivation of E. coli after low- or medium-pressure UV disinfection determined by an endonuclease sensitive site assay" *Applied Environmental Microbiology* 68,6029-6035.

Pala, Ç. ve Toklucu, A. 2013. "Microbial, physicochemical and sensory properties of UV-C processed orange juice and its microbial stability during refrigerated storage", *LWT- Food Science and Thecnology*, 50 (2), 426-431.

Pan, J., Vicente, A.R., Martinez, G.A., Chaves, A.R. and Civello, P.M. 2004. "Combined use of UV-C radiation and heat treatment to improve postharvest life of strawberry fruit", *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84,1831-1838.

Rasooley, R., Do., P.M., Levin C. E., and Friedman M. 2010. "Inhibition of Shiga Toxin 2 (Stx2) in Apple Juices and its Resistance to Pasteurization", *Journal of Food Science*, 75 (5), 296-201

Sahama, G. 2007. "Process Challenges in Applying Low Doses of Ultraviolet Light to Fresh Produce for Eliciting Beneficial Hormetic Responses", *Postharvest Biology and Technology*, 44, 1-8.

Santos A.L., Oliveira V., Baptista I., Henriques I., Gomes N.C.M., Almeida A., Correia A., Cunha A. 2013. "Wavelength dependence of biological damage induced by UV radiation on bacteria", *Arch Microbiol* 195,63–74.

Silva F.V.M. ve Gibbs, P. 2001. "Alicyclobacillus acidoterrestris spores in fruit products and design of pasteurization processes", *Trend in Food Science and Technology* 12, 68-74.

Sosnin, E. A., Oppenländer, T., Tarasenko, V.F. 2006. "Applications of Capacitive and Barrier Discharge Excilamps in Photoscience", *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 7, 145-163.

Soyer, Y., Koca, N. and Karadeniz, F. 2003. "Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices", *Journal of Food Composition and Analysis* 16,629-636.

Stein, J.H., Keevil, J.G., Wiebe, D.A., Aeschlimann, S. and Folts, J.D. 1999. "Purple Grape Juice Improves Endothelial Function and Reduces the Susceptibility of LDL Cholesterol to Oxidation in Patients with Coronary Artery Disease", *Journal of The American Heart Association*, 100,1050-1055.

Stratford, M., Bond C.J., James, S.A., Roberts, I.N. and Steels, H. 2002. "Candida davenportii sp. nov., a potential softdrinks spoilage yeast isolated from a wasp", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52,1369-1375.

Süß J., Volza S., Obsta U.,Schwartz T. 2009. "Application of a molecular biology concept for the detection of DNA damage and repair during UV disinfection", *Water Research* 43, 3705 – 3716.

Tahiri, I., Makhlof, J., Paquin, P. and Fliss, I. 2006. "Inactivation of food spoilage bacteria and Escherichia coli O157:H7 in phosphate buffer and orange juice using dynamic high pressure", *Food Research International* 39,98-105.

Tandon, K., Worobo, R.W., Churey, J.J. and Padilla-Zakour, O.I., 2003. "Storage Quality of Pasteurized and UV Treated Apple Cider", *Journal of Food Processing Preservation* 27, 21-35.

Tran, M.T.T. ve Farid, M. 2004. "Ultraviolet Treatment of Orange Juice", *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5,495-502.

Türk Gıda Kodeksi, 2006. "Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği 2006-56". <http://www.kkgm.gov.tr> (son erişim tarihi 1 Eylül 2014).

Türkçebilgiorg, 2014. <http://www.turkcebilgi.org/yemek-icmek/besinler-ve-ozellikleri/elma-24666.html> (son erişim tarihi 1 Eylül 2014).

Ünlütürk S., Atılgan M. R., Baysal A. H. Ve Unluturk S. M. 2010. "Modeling inactivation kinetics of liquid egg white exposed to UV-C irradiation", *International Journal of Food Microbiology*, 142, 341-347.

Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. 2003. "Gıda mikrobiyolojisi". ANKARA: META basım matbaacılık.

Ünlütürk, S., Atılgan M. R., Baysal A. H. ve Tarı C. 2008. "Use of UV-C radiation as a non-thermal process for Liquid Egg Products (LEP)", *Journal of Food Engineering*, 85, 561-568.

Vora, H.M., Kyle, S.W. and Small, D.M. 1999. "Activity, localisation and thermal inactivation of deteriorative enzymes in Australian carrot (*Daucus carota* L) varieties", *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79,1129-1135.

Würtele, M.A., Kolbe T., Lipsz M., Külberg A., Weyers M., Kneissl M., Jekel M. 2011. "Application of GaN-based Ultraviolet-C Light Emitting Diodes (UV LEDs) for Water Disinfection", *Water Research*, 45,1481-1489.