

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ELMA SULARINDA OZON UYGULAMASININ ÜRÜN
KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUĞÇE EVKURAN

DENİZLİ, OCAK - 2023

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**ELMA SULARINDA OZON UYGULAMASININ ÜRÜN
KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUĞÇE EVKURAN

DENİZLİ, OCAK - 2023

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

TUĞÇE EVKURAN

ÖZET

**ELMA SULARINDA OZON UYGULAMASININ ÜRÜN KALİTESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TUĞÇE EVKURAN
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. HAKAN KARACA)

DENİZLİ, OCAK - 2023

Bu çalışmada, ham elma suyu örneklerinde pastörizasyon (92 °C, 30 saniye) ve farklı sürelerde (15-90 dakika) ozonlama uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Bu uygulamaların mikroorganizmalar (*E. coli*, koliform, toplam aerobik mezofilik bakteri [TAMB] ve maya-küf) üzerine etkisi incelenmiştir. Elma suyu örneklerinde pastörizasyon ve ozon uygulamaları ile farklı seviyelerde mikrobiyal inaktivasyon sağlanmıştır. Koliform grubu bakterilerin sayılarının 15 dakika ozon uygulaması sonunda tespit edilebilir seviyenin altına düştüğü görülmüştür. TAMB ve maya-küf grubu mikroorganizmaların koliform grubu mikroorganizmalara göre ozona daha dirençli olduğu ve 90 dakika ozon uygulaması sonucunda test edilen tüm mikroorganizma gruplarının sayılarının tespit edilebilir seviyenin altına düştüğü belirlenmiştir. Ozon uygulamasının elma suyundaki pestisitler (Acetamiprid, Difenokonazole, Dimethoate, Fluopyram, Imidacloprid, Methoxyfenozide, Pyrimethanil, Thiachloprid, Trifloxystrobin) üzerine etkisi de incelenmiştir. Ozonlama süresinin artmasıyla pestisit degradasyonunda genel olarak artışlar gözlenmiştir. 90 dakikalık ozon uygulaması sonunda bazı pestisitlerde sınırlı bir düzeyde degradasyon (%7.1-23.7) gözlenirken bazılarının degradasyon oranı ise yüksek seviyelerde (%74.9-100) gerçekleşmiştir. Elma suyu örneklerindeki fenolik madde miktarında pastörizasyon uygulaması ile %20, 15 dakika ozon uygulaması sonucunda %31 ve 90 dakika ozon uygulaması sonucunda ise %55.4 oranlarında kayıp tespit edilmiştir. Elma sularının antioksidan aktivite değerinin pastörizasyon uygulaması ile %16 oranında arttığı, kısa süreli (15-30 dakika) ozon uygulamalarında %31.3-48.7 oranında ve 90 dakika ozonlama işlemi sonucunda ise %92 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Ozonlama işlemi, uzun uygulama sürelerinin neden olduğu besin değerindeki kayıpları önlemek koşuluyla, mikroorganizmaların ve pestisit kalıntılarının meyve suyundan uzaklaştırılması için pastörizasyona alternatif olarak umut vericidir.

ANAHTAR KELİMELELER: Ozon, Meyve Suyu, Mikrobiyoloji, Pestisit, Toplam Fenolik Madde, Antioksidan Aktivite, Renk

ABSTRACT

EFFECTS OF OZONE APPLICATION ON PRODUCT QUALITY OF APPLE JUICE

MSC THESIS

TUGCE EVKURAN

**PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
FOOD ENGINEERING**

(SUPERVISOR:ASSOC. PROF. DR. HAKAN KARACA)

DENİZLİ, JANUARY 2023

In this study, raw apple juice samples were pasteurized (92 °C, 30 s) and treated with ozone for varying times (15-90 min). The effects of these treatments on microorganisms (*E. coli*, coliform, total aerobic mesophilic bacteria [TAMB] and yeast-mold) were investigated. Different levels of microbial inactivation were achieved by pasteurization and ozone treatments. It was observed that the counts of coliform bacteria decreased below detectable limit after the ozone treatment for 15 min. It was determined that TAMB and yeast-mold were more resistant to ozone compared to coliforms and that the counts of all microorganisms tested decreased below detectable limit after the ozone treatment for 90 min. The effect of ozone treatment on the pesticides (Acetamiprid, Difenconazole, Dimethoate, Fluopyram, Imidacloprid, Methoxyfenozide, Pyrimethanil, Thiachloprid, Trifloxystrobin) in apple juice was also investigated. It was observed that degradation of pesticides generally increased by increasing ozone treatment time. After treating with ozone for 90 min, limited (7.1-23.7%) degradations were recorded for some pesticides while some others were highly (74.9-100%) degraded. Pasteurization caused 20% decrease in total phenolic content of apple juice while decreases of 31 and 55.4% were recorded after ozone treatments for 15 and 90 min, respectively. Antioxidant activity of apple juice increased by 16% after pasteurization, however decreased by 31.3-48.7% and 92% after short time (15-30 min) and 90 min ozone treatments, respectively. Ozonation process is a promising alternative to pasteurization for removing microorganisms and pesticide residues from fruit juice, in the condition of preventing losses in nutritional value caused by long treatment.

KEYWORDS: Ozone, Juice, Microbiology, Pesticide, Total Phenolic Content, Antioxidant Activity, Color

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Tezin Amacı	2
1.2 Literatür Özeti	2
1.2.1 Ozonun Genel Özellikleri	3
1.2.2 Ozonun Meyve Suyu Endüstrisinde Kullanımı	4
1.2.2.1 Yerinde Temizleme Yönteminde (Cleaning in Place, CIP) Ozon Kullanımı	4
1.2.2.2 Yüzey ve Ekipman Temizliğinde Ozon Kullanımı	4
1.2.2.3 Aseptik Ambalajlama Uygulamalarında Ozon Kullanımı	4
1.2.2.4 Nanofiltrasyon Membran Temizliğinde Ozon Kullanımı	5
1.2.2.5 Soğutma Kulelerinde Ozon Kullanımı.....	6
1.2.2.6 Meyve ve Sebzelerin Yıkınmasında Ozon Kullanımı	6
1.2.2.7 Meyve Sularına Ozonun Doğrudan Uygulanması.....	6
1.2.2.7.1 Ozonun Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi	7
1.2.2.7.1 Ozonun <i>Alicyclobacillus acidoterrestriis</i> Üzerine Etkisi.....	8
1.2.2.7.2 Ozonun Patulin Mikotoksini Üzerine Etkisi	12
1.2.2.7.3 Ozonun Meyve Sularındaki Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi	15
1.2.2.7.4 Ozonun Pestisitler Üzerine Etkisi.....	18
2. YÖNTEM	20
2.1 Elma Suyu Örneklerinin Hazırlanması	20
2.2 Pastörizasyon Uygulaması	20
2.3 Ozon Uygulamaları.....	21
2.4 Mikrobiyolojik Analizler	22
2.4.1 Hazır Besiyeri	23
2.4.2 <i>Escherichia coli</i> ve Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı	23
2.4.3 Toplam Aerobik Mezofilik Bakterilerin (TAMB) Sayımı	24
2.4.4 Maya-küf Sayımı.....	24
2.5 Briks Tayini.....	25
2.6 pH ve Toplam Asitlik Tayini.....	25
2.7 Renk Tayini	26
2.8 Bulanıklık Tayini.....	26
2.9 Toplam Fenolik Madde Tayini.....	26
2.9.1 Elma Suyu Örneklerinde Toplam Fenolik Madde Miktarının Hesaplanması.....	27
2.10 Antioksidan Aktivite Tayini.....	28
2.10.1 Elma Suyu Örneklerinde Antioksidan Aktivite Miktarının Hesaplanması.....	29

2.11	Pestisit Tayini	30
2.12	İstatistiksel Analizler	32
3.	BULGULAR.....	33
3.1	Pastörizasyon ve Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Sularındaki Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi	33
3.2	Pastörizasyon ve Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Suyunun Genel Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi	37
3.1	Pastörizasyon ve Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Suyunun Toplam Fenolik Madde Üzerine Etkisi	41
3.2	Pastörizasyon ve Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Sularının Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	43
3.3	Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Sularındaki Pestisitler Üzerine Etkisi.....	45
4.	SONUÇ VE ÖNERİLER	54
5.	KAYNAKLAR	58
6.	ÖZGEÇMİŞ.....	69

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Ozon molekülünün oluşumu.....	3
Şekil 1.2: Ozon jeneratörü.....	7
Şekil 1.3: Bazı pestisitlerin kimyasal yapısı, (A) Acetamiprid, (B) Difenconazole, (C) Dimethoate, (D) Fluopyram, (E) Imidacloprid, (F) Methoxyfenozide, (G) Pyrimethanil, (H) Thiachloprid, (I) Trifloxystrobin.....	18
Şekil 2.1: Ozon gazı uygulamasının yapıldığı deney düzeneği.....	22
Şekil 2.2: Ekim yapılmamış; <i>E. coli</i> (A), TAMB (B), maya-küf (C), Ekim yapılmış; <i>E. coli</i> (D), TAMB (E), maya-küf (F) hazır besiyeri	23
Şekil 2.3: Elma sularının toplam fenolik madde miktarının analizinde kullanılan gallik asit kalibrasyon eğrisi	27
Şekil 2.4: Elma sularının antioksidan aktivitesi miktarının analizinde kullanılan troloks kalibrasyon eğrisi	29
Şekil 3.1: Farklı sürede ozon uygulaması yapılmış örneklerin görseli.....	38
Şekil 3.2: Pastörizasyon ve farklı süre ozon uygulamalarının elma sularındaki toplam fenolik madde içeriği üzerine etkisi	42
Şekil 3.3: Pastörizasyon ve farklı süre ozon uygulamalarının elma sularının antioksidan aktivitesi üzerine etkisi.....	44
Şekil 3.4: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Acetamiprid pestisiti üzerine etkisi	45
Şekil 3.5: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Difenconazole pestisiti üzerine etkisi	46
Şekil 3.6: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Dimethoate pestisiti üzerine etkisi.....	46
Şekil 3.7: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Fluopyram pestisiti üzerine etkisi.....	47
Şekil 3.8: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Imidacloprid pestisiti üzerine etkisi.....	47
Şekil 3.9: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Methoxyfenozide pestisiti üzerine etkisi	48
Şekil 3.10: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Pyrimethanil pestisiti üzerine etkisi.....	48
Şekil 3.11: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Thiachloprid pestisiti üzerine etkisi.....	49
Şekil 3.12: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Trifloxystrobin pestisiti üzerine etkisi	49

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Meyve suyundaki mikroorganizmaların inaktivasyonunda ozon kullanımı	9
Tablo 1.2: Meyve suyundaki <i>Alicyclobacillus</i> sporlarının inaktivasyonunda ozon kullanımı	11
Tablo 1.3: Meyve suyundaki patulin mikotoksininin inaktivasyonunda ozon kullanımı	13
Tablo 1.4: Ozonun meyve suyundaki bazı kalite parametrelerine etkisi	16
Tablo 1.5: Meyve suyundaki pestisitlerin giderilmesinde ozon kullanımı	19
Tablo 2.1: Pestisit analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerde kullanılan kromatografi şartları	32
Tablo 3.1: Pastörizasyon ve farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu içeriğindeki mikroorganizmalar üzerine etkisi.....	34
Tablo 3.2: Pastörizasyon ve farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyunun kalite parametreleri üzerine etkisi.....	39

SEMBOL LİSTESİ

kg	:	Kilogram
g	:	Gram
mg	:	Miligram
µg	:	Mikrogram
L	:	Litre
mL	:	Mililitre
µL	:	Mikrolitre
M	:	Molar
N	:	Normal
m²	:	Metrekare
°C	:	Santigrat Derece
O	:	Oksijen
H	:	Hidrojen
kob	:	Koloni Oluşturan Birim
ppm	:	Milyonda Bir
ppb	:	Milyarda Bir
log	:	Logaritma

ÖNSÖZ

Yüksek lisansa başlamamdan, çalışma konusunun belirlenmesi, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesinde kıymetli fikirleriyle bana gerek çalışma hayatımda gerekse okul hayatımda her zaman yol gösteren, kendimi geliştirmeme yardımcı olan ve kendisiyle çalışmaktan onur duyduğum çok kıymetli hocam sayın Doç. Dr. Hakan Karaca'ya teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca kıymetli fikirleri için Doç. Dr. Fatma Işık ve Doç. Dr. Oktay Yemiş hocama teşekkür ederim.

Çalışmanın yürütülmesinde gerekli olanakları sağlayan Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na, değerli fikirlerini benimle paylaşan saygıdeğer hocalarıma, teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, tez çalışmamda bana destek veren Arısu Gıda Dış Ticaret A.Ş. firmasına ve kurucularından olan Fransje de Kimpe'ye desteklerinden dolayı teşekkür ediyorum.

Hayatım boyunca maddi ve manevi hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen, her daim yanımda hissettiğim annem Perihan Evkuran ve babam Murat Evkuran'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez dönemi boyunca değerli fikirlerini ve desteklerini benimle paylaşan değerli hocam Arş. Gör. Dr. Aysun Yurdunuseven, Gıda Mühendisi meslektaş arkadaşlarım, Cansu Öner, Emine Çağlar, Mehmet Demir, Özlem Karaçam ve Özlem Yiğit ve tüm desteği için Serkan Alaca'ya da ayrıca teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

Türkiye'nin ılıman iklim kuşağında yer alması çok çeşitli meyve ve sebzelerin yetiştirilmesine ve ihracatının yapılmasına olanak sağlamaktadır. Ancak, önemli ihraç ürünlerimizde (meyve suyu, meyve suyu konsantresi, meyve püresi vb.) 'pestisit' olarak adlandırılan toksik bileşikler nedeniyle zaman zaman toplumumuzda sağlık açısından kaygılar ve ihracatımızda ciddi ekonomik sıkıntılar gündeme gelebilmektedir. Pestisitler, yol açtıkları ekonomik kayıplar ve insan sağlığı üzerindeki muhtemel olumsuz etkileri nedeni ile dikkat çekmektedir. Hammaddeyi çeşitli zararlılardan korumak için pestisitler kullanılmaktadır. Bu kimyasalların meyvelere fazlaca uygulanması ve/veya pestisit uygulanmış meyvenin gerekenden önce hasat edilmesi, pestisit kalıntılarının zaman zaman sınır değerinin üzerinde tespit edilmesine neden olmaktadır. Bu kalıntılar meyvelerin meyve suyu vb. ürünlere işlenmesi sırasında uygulanan üretim basamaklarında miktarsal olarak az ya da çok değişime uğrasa da son üründe zaman zaman tespit edilebilmektedir. Bu açıdan elma suları vb. ürünlerin pestisit kalıntısı yönünden sorunlu ürünler olduğu bildirilmiştir (Khanali, 2020).

Son yıllarda ozon gazı uygulamaları; uygulama sonrası kalıntı bırakmaması, belli bir yatırım maliyeti yapıldıktan sonra ekonomik olarak nitelendirilebilmesi ve mikrobiyolojik inaktivasyon açısından umut verici sonuçlar vermesi sebebiyle yaygınlaşmıştır (Hejri ve ark. 2020). Ozon; bakteri, küf ve virüsler üzerinde yüksek oksitleyici etki göstermesinden dolayı gıda sanayinde farklı uygulamalarla oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Yıldız ve Yangılar, 2014). Ozon gazı uygulaması ile meyve sularındaki pestisit kalıntısı problemlerinin önüne geçilebileceği düşünülmektedir.

Pestisit probleminin çözümü amacıyla gerçekleştirilen çalışmalar genellikle ürünlerdeki pestisit miktarını düşürmek veya tamamen yok etmeye yöneliktir. Bu çalışmada pestisit içerdiği bilinen elma suyu örneklerinde ozon uygulaması ile meyve suyunun pestisit içeriğinin düşürülmesi hedeflenmektedir. Bu çalışma sonucunda sağlık açısından zararlı olduğu bilinen ve ülkemiz açısından büyük sıkıntılara ve ekonomik kayıplara sebep olan pestisitli elma sularını ekonomiye kazandırılabilmesi için ön görülmektedir. Bununla birlikte ozon, yüksek oksidasyon

kapasitesi sebebiyle, meyve sularının bioaktif bileşenlerinde ve bazı kalite parametrelerinde önemli kayıplara neden olabilmektedir. Etkin bir mikyobiyal inaktivasyon sağlanırken, seçilecek olan uygun çalışma koşullarıyla bahsi geçen bu kalite değerlerinin kaybı en aza indirilebilir.

1.1 Tezin Amacı

Meyve sularının üretiminde hammaddeden ve prosesten gelen bazı mikroorganizmalar, ürünün kalitesini ve raf ömrünü etkilemektedir. Ayrıca, tarımsal üretimde sıklıkla kullanılan zirai ilaçlar (pestisitler), meyve üzerinde birikmekte ve meyveden de meyve suyuna geçebilmektedir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında materyal olarak, taze haldeki ham elma suları kullanılmıştır. Mikroorganizmalarla doğal halde kontamine olan elma suları ve içerisine pestisit etken maddeleri ilave edilmiş elma suyu örnekleri farklı sürelerde ozon uygulamalarına tabi tutulmuştur. Bu uygulamalarla, ürünün pestisit içeriğinin ve mikrobiyolojik-kimyasal kalitesinin ne derece değiştiği tarafımızdan gerçekleştirilen analizlerle tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen tez çalışmasının amacı; ozonlama işleminin, insan sağlığı açısından risk içermeyen, kalitesi yüksek elma sularının üretimi için pastörizasyona alternatif bir uygulama olup olamayacağının tüm boyutlarıyla değerlendirilmesidir.

1.2 Literatür Özeti

Doğal ve güvenli gıdalara tüketicilerin ilgisi gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle işlenmemiş ya da az işlem görmüş, kimyasal koruyucu içermeyen gıdalara olan talep artmaktadır. Bu durum alternatif gıda prosesleri bulma arayışlarını hızlandırmaktadır (Savaş ve ark. 2014).

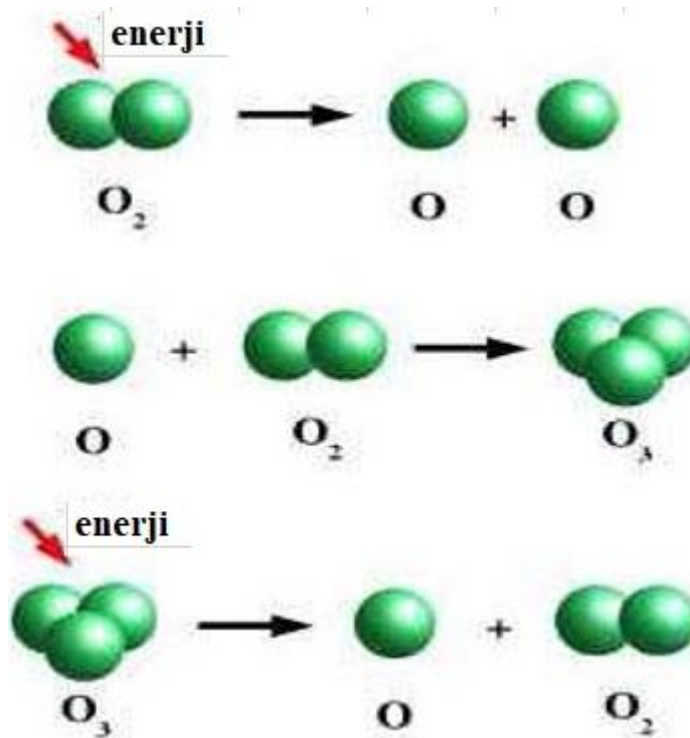
Önceden sadece içme sularının dezenfeksiyonu için kullanılan ozon 1997 yılında GRAS (generally recognized as safe, genellikle güvenilir kabul edilen) listesine alınmıştır. Daha sonra, FDA tarafından 2001 yılında alınan bir kararla

ABD’de gıda sanayinde sanitasyon ve dezenfektan ajanı olarak kullanılmasına izin verilmiştir (Karaca, 2010; Yıldız ve ark. 2014).

1.2.1 Ozonun Genel Özellikleri

Ozon gazı karakteristik bir kokuya sahip olup, bu gazın kokusu 0.01-0.05 ppm gibi düşük derişimlerde bile insanlar tarafından algılanabilmektedir (Oğuz ve Çelik, 2001). Ozon, yapısında üç oksijen atomu bulunan bir gaz molekülüdür. Normal sıcaklıklarda açık mavi renkli olan ozon gazı, keskin ancak hoş olmayan kokuya sahiptir. Ozon $-111.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ ’de mavi bir sıvı oluşturacak biçimde sıvılaşır ve bu sıvı patlayıcıdır. Kararsız yapıya sahip olduğundan dolayı oksijen gazı oluşturacak şekilde kısa sürede bozunur (Atgüden, 2010).

Ozon, havadaki oksijen molekülünün yüksek bir enerji etkisi ile atomlarına ayrışması ve bu kararsız atomların bir başka oksijen molekülü ile birleşmesi sonucu Şekil 1.1’deki gibi oluşmaktadır (Yıldız ve Yangılar, 2014).



Şekil 1.1: Ozon molekülünün oluşumu (Yıldız ve Yangılar, 2014).

1.2.2 Ozonun Meyve Suyu Endüstrisinde Kullanımı

Ozon, meyve suyu endüstrisinde hijyenik üretimi sağlamak ve bazı kalite parametrelerinin iyileştirilmesi amacıyla kullanılabilir. Bu kullanım alanlarının bazıları aşağıda açıklanmıştır.

1.2.2.1 Yerinde Temizleme Yönteminde (Cleaning in Place, CIP) Ozon Kullanımı

Yerinde temizleme sistemleri, kapalı devrelerdeki alet ve ekipmanların sökülme gereği duyulmadan çeşitli çözeltiler ve sıvıların üretim hattından sirkülasyonu ile temizlenebildiği otomasyonlu temizlik sistemleridir. Lagrange ve ark. (2004), ozonlu suyun CIP sisteminde kullanımını araştırmışlardır. Ozonlu suyun saniyeler içinde mükemmel bir mikrosidal ve fungusidal etki gösterdiği bildirilmiştir. Endüstriyel şartlarda CIP sisteminden bir kere ozonlu su geçirilmesi halinde *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* kolonilerinde %99'luk azalmalar tespit edilmiştir.

1.2.2.2 Yüzey ve Ekipman Temizliğinde Ozon Kullanımı

CIP temizliği yapıldıktan sonra, hattın devamlılığindeki sterilizasyon için borular ve bağlantı parçaları temizlenmelidir. Bu uygulamada da CIP işleminin basamakları uygulanmaktadır. Khadre ve Yousef (2001) gerçekleştirdikleri çalışmalarında paslanmaz çelik yüzeylerin temizliğinde ozon uygulaması yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda ozonun, *Pseudomonas fluorescens* kolonilerinin inaktivasyonunda etkili olduğu ve gıda ile temas eden yüzeylerde ozon uygulamasının alternatif olabileceği sonucuna ulaşmışlardır.

1.2.2.3 Aseptik Ambalajlama Uygulamalarında Ozon Kullanımı

Paketleme işlemi, gıdanın mikrobiyolojik, kimyasal stabilitesini koruyup, uzun raf ömrüne sahip olmasını sağlamak amacıyla yapılır. Gıdanın mikrobiyolojik

bulaşılardan korunması için, paketleme malzemesi yüzeyinde mikroorganizma bulunmamalıdır. Meyve suyu paketlemesinde plastik şişe ve tetra pak gibi paketleme malzemeleri kullanılmaktadır. Bu materyallerin sterilizasyonunda hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi kimyasallar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu kimyasalların kalıntıları üründe bazı olumsuzluklara yol açabilmektedir (Özkan ve ark. 2000; Özkan ve ark. 2002). Kullanılan bu kimyasallara alternatif olarak ozon gazının, paketleme materyalinin sterilizasyonunda kullanılabileceği düşünülmektedir. Khadre ve Yousef (2001) yaptıkları çalışmada ozonun çok katmanlı paketleme materyalindeki mikroorganizmalara etkilerini araştırmışlardır. Çok katmanlı paketleme materyalinin doğal florasındaki ve kurumuş filmdeki farklı mikroorganizmaların ozon uygulaması sonucu mikrobiyal değişimleri incelenmiştir. Kurumuş filmler hazırlanırken, otoklavda steril hale getirilmiş çok katmanlı paketleme malzemesinin üzerine daha önceden hazırlanan spor süspansiyonundan 2 mL damlatılıp etüvde (37 °C’de) kurutmuş ve inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra bu yüzeylere ozonlama uygulaması yapılmıştır. Çok katmanlı paketleme materyalindeki doğal flora, 5.9 µg/mL ozon içeren su ile 1 dakika yıkandığında etkili bir antimikrobiyal etkinlik sağlanmıştır. *Bacillus subtilis* sporlarının kurumuş filmleri 13 µg/mL ozon içeren su ile 1 dakika yıkandığında 10⁸ koloni oluşturan birim (kob)/6.3 cm² düzeyinde azalma sağlanmıştır. *Pseudomonas fluorescens* kurumuş filmleri 5.9 µg/mL ozon içeren su ile 1 dakika yıkandığında 10⁸ kob/12.5 cm² düzeyinde azalma sağlanmıştır. Sonuç olarak ozon çok katmanlı paketleme malzemelerinde kurumuş filmlerin dekontaminasyonu için etkin bir uygulama olarak tespit edilmiştir.

1.2.2.4 Nanofiltrasyon Membran Temizliğinde Ozon Kullanımı

Nanofiltreler, berraklaştırma işlemleri ve üretimde kullanılan suyun arıtımı için kullanılmaktadır. İz miktardaki organik bileşikler filtrasyon sistemlerinde tortu oluşturarak gözenek tıkanmalarına sebep olurlar. Park ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada membrandaki tortuları ve iz organik bileşiklerini azaltmak için ozonlama işlemi yapmıştır. 0.4 mg ozon uygulaması ile organik bileşiklerde %70’e varan azalmalar gözlenmiştir.

1.2.2.5 Soğutma Kulelerinde Ozon Kullanımı

Meyve suları pastörize edildikten sonra, mikrobiyal gelişimden korumak ve kalite değerlerini düşürmemek için ürün soğutulmaktadır. Soğutma kuleleri, sistemden gelen sıcak suyun dolgu üzerine püskürtülmesiyle ısının atmosfere verilerek ortamdaki uzaklaşması aracılığıyla soğuma sağlayan sistemlerdir. Kulelerde oluşan mayalanma ve çimlenmeleri önlemek için kule suyuna şartlandırma yapılırken bazı biyositler kullanılmaktadır. Kulelerde oluşacak korozyon, nem ve çimlenme ısı transferini engeller ve kulenin verimliliğini etkiler. Alhamid ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada kapalı soğutma kulesi sistemlerinde ozon uygulamasının korozyon ve bakteriler üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada soğutma kulesinin küvetine 0.5 g/saat ozon enjekte edilmiştir. Bakteri sayısı 2×10^5 kob/mL'den 3×10^4 kob/mL'ye düşürülmüştür. Ancak, demir ve sülfat iyonlarında artış meydana gelmesi nedeniyle, ozonun korozyona yol açabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

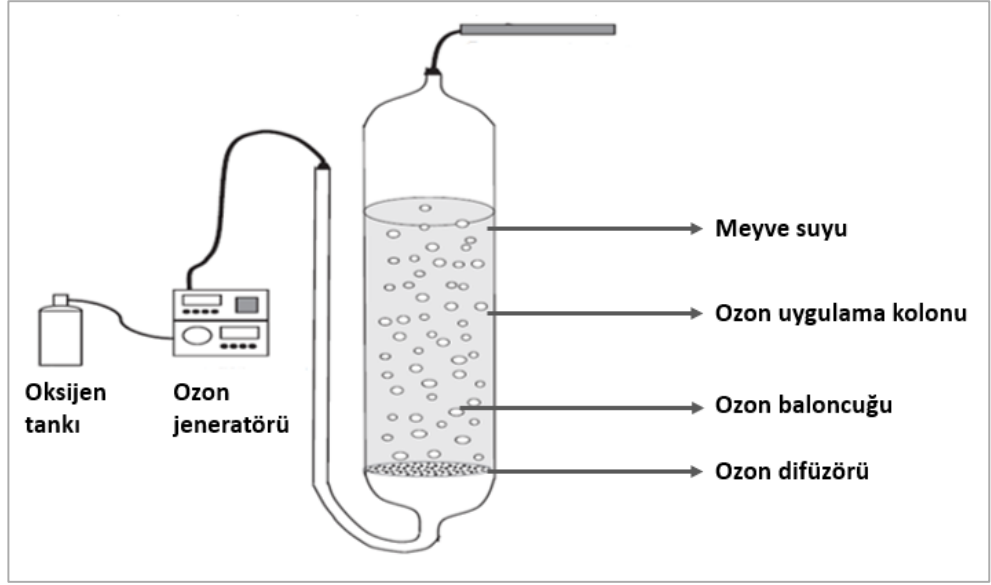
1.2.2.6 Meyve ve Sebzelerin Yıkınmasında Ozon Kullanımı

Meyve işlemeye alınmadan önce yıkama havuzlarında ve taşıma kanallarında belirli miktarda su kütlesi ile ve ayrıca seçme bandında nozzlelerde su püskürtülerek yıkanmaktadır. Bu basamaklarda kullanılan suyun ozonlanması çeşitli araştırmacılar tarafından denenmiştir. Achen ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada *E. coli* O157:H7 inoküle edilen elma numunelerini bir beher içine alıp ozonlanmış suya daldırma işlemi yapmışlardır. İşlem sonunda *E. coli* kolonilerinde 2.6 log'luk bir azalma gözlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, Mustaphaa ve ark. (2020) çeri domateslerinde ozonlu su ile yıkama işlemi yaparak üründe TAMB ve maya-küf miktarını azalttığı yani mikrobiyal inaktivasyonu sağladıkları sonuçlarını bildirmişlerdir.

1.2.2.7 Meyve Sularına Ozonun Doğrudan Uygulanması

Ozon jeneratörüne gelen oksijen burada ozona dönüştürülür. Ozon gazı doğrudan ozon uygulama kolonu içerisine konmuş olan meyve suyu içerisine

gönderilerek baloncuklar halinde meyve suyuna difüze eder ve böylece ozonun meyve suyunda çözünmesi sağlanmış olur (Şekil 1.2).



Şekil 1.2: Ozon jeneratörü (Patil ve ark. 2010)

Meyve sularına doğrudan ozonlama uygulamalarıyla mikrobiyolojik inaktivasyon ve mikrobiyal bir metabolit olan mikotoksinlerin parçalanma düzeyleri üzerine araştırmalar yürütülmüştür. Bu araştırmalarda, meyve sularında özellikle elma sularında kötü koku ve tat oluşturan *Alicyclobacillus acidoterrestris* inaktivasyonu ve sıklıkla bulunabilen patulin mikotoksininin giderilmesi üzerine odaklanıldığı görülmüştür. Ancak doğrudan ozonlama uygulamasıyla, meyve sularının bioaktif bileşenleri ve renk pigmentleri gibi kalite parametrelerinde olumsuz etkilerinin olabileceği düşünülüp çalışmalarda bu parametreler de araştırılmıştır. Aşağıda bu konularla ilgili araştırmalar verilmiştir.

1.2.2.7.1 Ozonun Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

Meyve suyunun raf ömrünü belirlemede etkenlerden biri, bozulmaya neden olan küf ve mayalardan oluşan 'mikroorganizmalar'dır. Mikroorganizmaların hücrelerini parçalayarak hücre yapısına zarar veren ozon, bu sırada hücrenin enzim sistemini etkileyip hücre solunumunu durdurması ile mikroorganizma ölümünün

gerçekleşmesine neden olmaktadır (Alparslan ve ark. 2012). Aşağıda verilen çalışmalarda görüldüğü gibi ozon, meyve sularına uygulanması halinde yüksek düzeyde antimikrobiyal etki göstermektedir. Meyve suyundaki mikroorganizmaların inaktivasyonunda ozon kullanımı üzerine yapılan bazı çalışmalar Tablo 1.1’de özetlenmiştir.

1.2.2.7.1 Ozonun *Alicyclobacillus acidoterrestris* Üzerine Etkisi

Meyve suyu sanayinde önemli bir problem olan *Alicyclobacillus acidoterrestris*, termoasidofilik ve spor oluşturan bir mikroorganizmadır. Meyve sularına uygulanan tipik ısı işlemlerde canlılığını sürdürebilmekte, hatta pastörizasyon bu mikroorganizmanın sporlarına ısı şok olarak etki edip, onların çimlenip gelişmesine ve ürünü bozmasına yol açmaktadır. Bu mikroorganizma nedeniyle meyve suyunun aroması olumsuz yönde değişmekte ve kötü kokulu maddelerin (guayakol ve 2,6-dibromfenol) açığa çıkmasıyla üründe bozulma olarak nitelendirilebilecek olumsuzluklar ortaya çıkmaktadır.

Alicyclobacillus sporlarının mikro ve ultrafiltrasyon membranlarından penetre olabileceğini bildirmektedirler. Mikroorganizma boyutları ve kullanılan membran por büyüklüğü, bakterilerin ve bakteri sporlarının ultrafiltrasyon membranlarından geçebilmesinde etkilidir. Endüstride bunun için kağıt filtreler kullanılmaktadır. Meyve sularına ozon uygulaması ile *Alicyclobacillus* sporlarının inaktivasyonu için yapılan bazı çalışmalar ve sonuçları Tablo 1.2’de özetlenmiştir.

Tablo 1.1: Meyve suyundaki mikroorganizmaların inaktivasyonunda ozon kullanımı

Ürün	Uygulama	Sonuçlar	Kaynak
Elma suyu	Farklı pH'daki (3.0-5.0) ve 18 Briksteki elma suyu numunelerine 3 patojen (<i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> ve <i>L. monocytogenes</i>) inoküle edilmiştir. Sıcaklık: 22 °C Ozon konsantrasyonu: 2.0-3.0 g/m ³ Akış hızı: 3.0 L/dakika	- pH'sı 3.0 olan örneklerde 5.36 log kob/mL'den daha fazla seviyede <i>E. coli</i> O157:H7 azalması gerçekleşmiştir. - <i>E. coli</i> O157:H7 azalması pH'sı 4.0 ve 5.0 olan örneklerde sırasıyla 5.12 ve 1.86 log kob/mL olarak gerçekleşmiştir. - Düşük pH'da ozonlama işlemi çok iyi bir antimikrobiyal etki göstermiştir. - Renk değerinde önemli bir değişiklik olmamıştır (b değeri hariç). - Ozonlanan örneklerin esmerleşme indeksinin kontrol numunesinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. - Toplam fenolik madde içeriğinin önemli düzeyde değişmediği gözlenmiştir.	Song ve ark, 2014
Şekerpancarı suyu	Şekerpancarı suyu ekstrakte edilmiş ve filtreden geçirilmiştir. Ozonla (1.2 g/saat) 10 dakikalık muamele sonrasında 5°C'de 4 hafta depolanmıştır.	- Toplam canlı mikroorganizma sayısı 10 dakikada 6.1'den 2.2 log/mL'ye düşmüştür. Ozonlama süresinin 20 dakikaya çıkarılması daha fazla bir inaktivasyon sağlamamıştır. - Ozonlama süresi artıçça, esmerleşmeye neden olan endojen enzimlerinin [PPO (polifenol oksidaz) ve POD (peroksidaz)] aktivitesi düşmüştür. - Depolama sonunda, kontrol örneklerinde toplam canlı mikroorganizma sayısı 6.2 log/mL'e ulaşırken ozonlanan örneklerde bu sayı 2.3 log/mL'ye düşmüştür.	Garud ve ark, 2018
Elma suyu	Farklı pH'daki (3.0-5.0) elma suyu numunelerine <i>E. coli</i> suşları (10 ⁶ kob/mL) inoküle edilmiştir. Ozon konsantrasyonu: 33-40 mg/mL Akış hızı: 0.12 L/dakika Sıcaklık: 15-18 °C, Süre: 8 dakika	- Farklı pH'daki ozonlama işlemi sonucu <i>E. coli</i> yıkımı gerçekleşmiştir. - <i>E. coli</i> kolonilerinde 5-log düşme; düşük pH'da 4 dakikada yüksek pH'da 8 dakikada gerçekleşmiştir.	Patil ve ark, 2011

Ürün	Uygulama	Sonuçlar	Kaynak
Pomelo suyu (<i>Citrus Grandis</i> L. <i>Osbeck</i>)	Ekstrakte edilip filtrelenmiş ve filtrelenmemiş pomelo suyuna ozon uygulaması yapılmıştır. Ozon çıkış konsantrasyonu: 600 mg/saat Sıcaklık: 4 °C Süre: 0-50 dakika	- Toplam aerobik koloni sayısı filtrelenmemiş örnekte 2.3 log azalma (3.1 log'dan 0.8 log kob/mL) ve filtrelenmiş örnekte ise 6.1 log azalma (7.3 log'dan 1.2 log kob/mL'ye) gerçekleşmiştir. - Toplam maya ve küf koloni sayısı filtrelenmemiş örnekte 4 log, filtrelenen örnekte ise 6 log azalma gerçekleşmiştir. - Askorbik asit filtre edilen örnekte 77 mg/100 mL'den 54 mg/100 mL'ye, filtre edilmeyen örnekte 78 mg/100 mL'den 51 mg/100 mL'ye düşmüştür. - Toplam fenolik madde içeriği ve pektin metil esteraz (PME) enzim aktivitesi her iki örnekte de azalmıştır.	Shah ve ark, 2019
Şeftali suyu (<i>Prunus persica</i>)	Şeftali suyu örneklerine (13 °Briks, pH=4.1) <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229, <i>Listeria innocua</i> ATCC 33090 ve <i>Saccharomyces cerevisiae</i> KE 162 inoküle edilmiştir. Ozon konsantrasyonu: 10 ve 18 ppm Süre: 12 dakika	- <i>E. coli</i> kolonileri yüksek ozon konsantrasyonunda daha düşük olduğu tespit edilmiştir. - Koliform kolonileri her iki ozon konsantrasyonunda da 4.3 log-döngü düşmüştür. - <i>L. innocua</i> ATCC 33090 kolonileri 10 ve 18 ppm ozon konsantrasyonunda sırasıyla 3.9 ve 4.9 log-döngü düşmüştür. - <i>S. cerevisiae</i> KE162 uygulama konsantrasyonundan bağımsız olarak sadece 1 log-döngü azalma gözlenmiştir. - Yüksek ozon konsantrasyonu, düşük sıcaklıkta depolama koşullarıyla birleştiğinde şeftali suyunun korunmasında daha etkili olduğu gözlenmiştir.	Loredo ve ark, 2015

Tablo 1.2: Meyve suyundaki *Alicyclobacillus* sporlarının inaktivasyonunda ozon kullanımı

Ürün	Uygulama	Sonuçlar	Kaynak
Kavun suyu (Cantaloupe)	Kavun suyu örneklerine <i>A. acidoterrestris</i> spor solüsyonu (2×10^7 kob/mL) inoküle edilmiştir. Ozon konsantrasyonu: 7.0 g/L Süre: 30 ve 60 dakika	30 ve 60 dakika ozonlama sonunda sırası ile; - <i>A. acidoterretis</i> sporları 0.73 ve 2.22 log azalmıştır. - Toplam karotenoid miktarı %76 ve %83 oranında azalmıştır. - C vitamini miktarı %54 ve %76 oranında azalmıştır.	Fundo ve ark, 2018
Elma suyu	Elma suyu örneklerine <i>A. acidoterrestris</i> sporları inoküle edilmiştir. Ozon konsantrasyonu: 2.8 ve 5.3 mg/L Sıcaklık: 4 ve 22 °C Süre: 40 dakika	2.8 ve 5.3 mg/L ozonlama sonunda sırası ile; - <i>A. acidoterretis</i> sporları 2.2 ve 2.8 log azalmıştır. - 2.8 mg/L ozon konsantrasyonunda toplam fenolik içeriğinde önemli bir değişiklik görülmemiştir. - 5.3 mg/L ozon konsantrasyonunda her iki sıcaklık değerinde de toplam fenolik madde miktarı önemli ölçüde azalmıştır. - Sıcaklığın artması ile ozonun etkinliğinin düştüğü, - Ozon uygulama konsantrasyonunun artması ile ozon etkinliğinin arttığı gözlenmiştir.	Torlak, 2014

1.2.2.7.2 Ozonun Patulin Mikotoksini Üzerine Etkisi

Patulin bazı küflerin yüksek toksik nitelikteki ikincil metabolitidir. Sağlık otoriteleri patulinin akut toksik kanserojen ve mutajen etkileri olan bir bileşen olduğunu bildirmektedir (Paterson ve ark. 2003). Kısa dönemdeki etkisi, alınan doza bağlı olan patulin; elma, armut, kayısı, şeftali, üzüm gibi ürünlerde bulunabilmektedir. Patulin miktarı; işlenmiş meyve ürünlerinde, ürün güvenliği ve kalitesini belirlemektedir. İşlem sırasında son üründeki patulin miktarı kabul edilebilir sınırlara kadar düşürülmelidir.

Bazı ülkeler meyve suyu ve diğer meyve ürünlerinde patulin düzeyini 20-50 ppb aralığında belirlemişlerdir. Dünya Sağlık Örgütü ise elma suyunda patulin düzeyini 50 ppb olarak belirlemiş olup, bu limitin üzerinde patulin içeren ürünlerin ticaretinin uygun olmadığı yönünde fikir beyan etmişlerdir.

Avrupa'da yem ve gıdaların kontrolü için kurulmuş hızlı bir alarm sistemi vardır (Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF). 2005 yılına ait RASFF raporunda ülkemizden AB ülkelerine ihraç edilen bir elma suyu örneğinde patulin miktarı 108.7 ppb olarak bulunmuştur. Bu miktarın Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlediği limit olan 50 ppb'nin iki katından fazla olduğu anlaşılmaktadır.

Patulinin meyve sularından giderilmesi meyve suyu sanayisi tarafından uzun yıllardır üzerine çalışılan bir konudur. Bu toksinin adsorbe edilmesi için aktif karbon ve reçineler mevcuttur. Elma sularında patulinin giderilmesinde ozonlama işlemi de araştırmacılar tarafından denenmiş ve etkili sonuçlar alınmıştır. Söz konusu çalışmaların bazıları Tablo 1.3'te özetlenmiştir.

Tablo 1.3: Meyve suyundaki patulin mikotoksininin inaktivasyonunda ozon kullanımı

Ürün	Uygulama	Sonuçlar	Kaynak
Elma suyu	Standart patulin çözeltisi elma suyu numunelerine (pH: 2.5–5.5 ve SÇKM: %12–22) son numunelerde farklı patulin konsantrasyonları olacak şekilde inoküle edilmiştir (0-500 µg/L). Ozon konsantrasyonu: 7–12 mg/L, Süre: 0–30 dakika Akış hızı: 3 L/dakika	Elma suyu örneğinde, başlangıçta 247 µg/L olan patulin miktarı - 7 mg/L ozon konsantrasyonu uygulaması ile %35, 12 mg/L ozon konsantrasyonu uygulaması ile %18 oranında azalmıştır. <u>Patulin bozulmasının,</u> Yüksek ozon konsantrasyonu, uzun ozon uygulama süresi, düşük pH ve düşük suda çözünür kuru madde (SÇKM) ile arttığı gözlenmiştir. - Renk, malik asit, askorbik asit, toplam fenolik madde miktarlarının azaldığı gözlenmiştir.	Diao ve ark, 2018a
Elma suyu	Ozon gazı elma suyu numunesine bubbling işlemi ile uygulanmıştır.	- Başlangıç patulin miktarı 6.8×10^{-3} mM'dan 2.4×10^{-3} mM'a düşürülmüştür.	Cataldo, 2008
Model sistem	Standart patulin yüksek safsızlıktaki su içinde çözüldürülmüştür. Patulin içerdiği bilinen 200 mL test çözeltisine ozon uygulaması yapılmıştır. Ozon konsantrasyonu: 0.17 mg/L Süre: 1 dakika	- Başlangıçta 250 µg/L olan patulin miktarı ozonlama sonrası 4.5 µg/L'ye düşmüştür. - %98 oranında toksinin okside olduğu gözlenmiştir.	Karaca ve Velioğlu, 2009

Ürün	Uygulama	Sonuçlar	Kaynak
Elma suyu	Standart patulin çözeltisi deionize su içinde hazırlanıp, kalıntısız olduğu bilinen elma suyu örneğine inoküle edilmiştir ve son çözelti konsantrasyonu 200 µg/L olmuştur. Ozon konsantrasyonu: 12 mg/L Ozon akış hızı: 3 L/dakika Süre: 0-30 dakika	<u>Başlangıç patulin miktarı 200 µg/L olan örnek,</u> - 15 dakika ozonlama sonrası 49.5 µg/L'ye düşerek %75.4 azalma göstermiştir. - 25 dakikada 21.6 µg/L'ye ve 30 dakikadan sonra tespit edilememiştir. - Toplam fenolik madde içeriği 15 dakika ozonlama sonucunda, 692 mg GAE/100 mL'den 297 mg GAE/100 mL'ye düşerek %57 azalma tespit edilmiştir. - 8 major fenolik bileşik 25 dakika sonunda tamamen parçalandığı tespit edilmiştir. Sadece az miktarda klorojenik asit 7.92 mg/L olarak tespit edilmiştir. - Ozona maruz kalma süresi arttıkça organik asit miktarında ciddi düşüş olmuştur.	Diao ve ark, 2019
HepG2 Kanser hücreleri	Sulandırılmış patulin çözeltisi farklı konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Ozon konsantrasyonu: 10.6 mg/L Ozon akış hızı: 90 mL/dakika Süre: 3 dakika	- Patulin konsantrasyonu 24.6 mg/L'den 9.8 mg/L'ye düşerek %60 oranında azalmıştır. - Ozona maruz kalma süresinin artması ile patulin miktarında önemli ölçüde azalma olmuştur. - 5 dakika uygulama sonunda patulinin tamamı yok edilmiştir. - HepG2 kanser hücrelerinin hücre canlılığı, toplam apoptotik hücrelere dönüşümü %42.3'ten %93.7'ye yükselmiştir.	Diao ve ark, 2018b

1.2.2.7.3 Ozonun Meyve Sularındaki Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi

Meyve suyunun kalitesini mikrobiyal değerlerinin yanında bazı fiziksel parametreler de belirlemektedir. Ürünün asitliği, rengi, bulanıklığı, fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite içeriği gibi değerler önem taşımaktadır. Ozonlama işlemi meyve suyunun bazı organoleptik özelliklerinde değişmelere neden olmaktadır. Literatürde bununla ilgili çalışmalar mevcuttur (Oliveira ve ark. 2018; Torres ve ark. 2011). Renk değerlerinde bir miktar açılmalar meydana gelmektedir. Bu durum, elma suyu gibi ürünlerde istenen bir özellik olmasına rağmen kırmızı renkli ürünlerde tercih edilmemektedir. Meyve sularının genel kalite parametreleri üzerine ozonun etkisini inceleyen bazı çalışmalar Tablo 1.4'te özetlenmiştir.

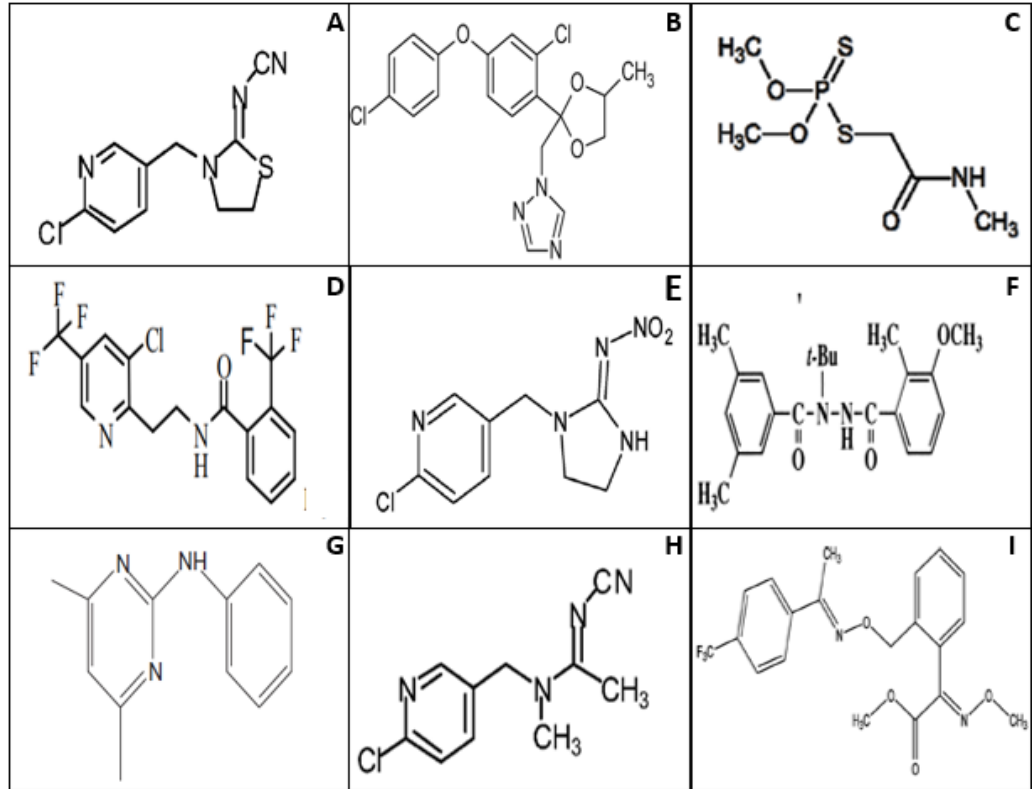
Tablo 1.4: Ozonun meyve suyundaki bazı kalite parametrelerine etkisi

Ürün	Uygulama	Sonuçlar	Kaynak
Açai suyu (<i>Euterpe oleracea</i>)	Filtrelenmiş açai suyu numuneleri beher içindeki 100 rpm'de karıştırılarak ozon gazı uygulaması yapılmıştır. Ozon konsantrasyonu: 1.5 ppm Süre: 5 ve 10 dakika Sıcaklık: 25 °C	- pH ve toplam titre edilebilir asitlik değerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. - Bulanıklık değeri azalmıştır. - Viskozitesi artmıştır (Yüksek oksitleyici etkisi sebebiyle pektin gibi polimer zincirlerinin bozulmasına neden olur). - Peroksidaz (POD), ozon konsantrasyonu arttıkça düşmüştür.	Oliveira ve ark, 2018
Elma suyu	Pastörize edilmeden hazırlanan elma suyu numunelerine, çeşitli konsantrasyonda ozon uygulaması yapılmıştır. Ozon konsantrasyonları: 1–4.8% w/w Süre: 0–10 dakika Sıcaklık: 20 °C	- Ozonlama işlemi boyunca renkte açılma gözlenmiştir. (L ve b değeri artmış ve a değeri azalmıştır). Klorojenik asit → %99.1 Kafeik asit → %96.6 Sinamik asit → %99.8 Toplam fenolik madde (Gallik asit eşdeğeri (GAE), mg/100ml) → %49.7 azalmıştır. - pH 3.81'den 3.79'a düşmüştür.	Torres ve ark, 2011

Ürün	Uygulama	Sonuçlar	Kaynak
Şeftali suyu	Şeftali suyu örneklerine (12.3 Briks, pH= 4.08, 20 °C) bubbling yöntemi ile ozon uygulaması yapılmıştır. Ozon dozajı: 0.06 ve 2.48 g/L Ozon konsantrasyonu: 18 g/m ³ Ozon akış hızı: 5 L/dakika Süre: 0.3–12 dakika	- pH, Briks ve toplam titre edilebilir asitlikte anlamlı bir değişiklik olmamıştır. - L* değeri %12 azalmıştır (1. dakika) - a* değeri %20 artmıştır. - Esmerleşme indeksi hafif artmıştır.	Jaramillo-Sánchez ve ark, 2018
Şekerpancarı suyu	Kafeik asit ve rutin bileşikleri metanol içerisinde çözdürülüp şekerpancarı suyu numunelerine (pH:7.82) inoküle edilmiştir. Ozon konsantrasyonu: 4.40 mg/L dakika Sıcaklık: 50 °C Süre: 5-90 dakika	Ozonlama işleminden sonra kafeik asit ve rutin miktarları azalmıştır.	Sartori ve ark, 2019

1.2.2.7.4 Ozonun Pestisitler Üzerine Etkisi

Tarımsal ürün yetiştiriciliğinde verimliliğin ve çeşitliliğin artırılması için modern tarım uygulamaları her geçen gün artmakta ve kimyasal kullanımı yapılmaktadır. Yanlış ve bilinçsiz gerçekleştirilen uygulamalar ürünlerde kalıntı problemi oluşturur. Bu kalıntılar işlemeye rağmen meyveden son ürüne kadar kalabilmektedir. Pestisitler etki mekanizmalarına göre insektisit, fungusit, herbisit, vb. olarak sınıflandırılmaktadır. İnsektisitlere bazı örnekler; Acetamiprid, Dimethoate, Imidacloprid, Methoxyfenozide, Thiachloprid, fungusitlere bazı örnekler; Difenconazole, Fluopyram, Pyrimethanil, Trifloxystrobin olarak verilebilir. Bazı pestisitlerin kimyasal yapısı Şekil 1.3'te verilmiştir.



Şekil 1.3: Bazı pestisitlerin kimyasal yapısı, (A) Acetamiprid, (B) Difenconazole, (C) Dimethoate, (D) Fluopyram, (E) Imidacloprid, (F) Methoxyfenozide, (G) Pyrimethanil, (H) Thiachloprid, (I) Trifloxystrobin.

Meyve suyundaki pestisitlerin giderilmesinde ozon kullanımı üzerine yapılan bazı çalışmalar Tablo 1.5'te özetlenmiştir.

Tablo 1.5: Meyve suyundaki pestisitlerin giderilmesinde ozon kullanımı

Ürün	Uygulama	Sonuçlar	Kaynak
Domates suyu	Kalıntısız olduğu bilinen 5 adet domates suyu örneklerine 0.1-10 ppm methomyl inoküle edilmiştir. Ozon konsantrasyonu: 0.4 ppm Süre: 3-30 dakika	- 30 dakika ozon uygulaması sonucu methomyl miktarı %100 azalmıştır. - Methomyl düşürme yüzdesi, ozona maruz kalma süresi ile artmıştır. - Methomyl miktarını %90'ın üzerinde düşürmek için 15, 10 ve 5 dakikalardan sonra ulaşılmıştır.	Al-Antary ve ark, 2016
Domates suyu	Kalıntısız olduğu bilenen domates suyu örneklerine 2 ve 10 ppm chlorfenapyr inoküle edilmiştir. Ozon konsantrasyonu: 0.5 ve 2 ppm Süre: 5 ve 15 dakika	- 15 dakikadan sonra Avrupa Birliğince izin verilen maksimum kalıntı limitinin (0.01 ppm) altında saptanmıştır.	Al-Antary ve ark, 2018

2. YÖNTEM

2.1 Elma Suyu Örneklerinin Hazırlanması

Denizli'nin Çivril ilçesinde bulunan Arısu Gıda Dış Ticaret A.Ş firmasından tedarik edilen ve çalışmada materyal olarak kullanılan taze Fuji, Gala, Granny Smith, Ginger gold elma türlerini içeren örnekler, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nün laboratuvarlarına getirilmiştir. Elmalar burada bir katı meyve sıkacağı (Karaca, Maxvit 1501, İstanbul, Türkiye) ile meyve suyu haline getirilmiştir. Bu örnekler kaba filtre kağıdından süzölmüş ve daha önceden otoklavlanarak steril edilmiş bir cam şişe içinde toplanmıştır. Söz konusu örnekler laboratuvar ortamında kullanılıncaya kadar laboratuvardaki +4°C'deki buzdolabında saklanmıştır. Pastörizasyon ve ozon uygulamaları öncesinde, buzdolabında saklanan örnekler; pastörizasyon ve ozonlanmayan örnek (kontrol), pastörize edilen örnekler ve farklı süreler (15-90 dakika) ozon uygulamasına tabi tutulacak örnekler olarak gruplara ayrılmıştır. Toplam 4200 mL olan örnek, her biri 200 mL olacak şekilde 21 eş parçaya bölünmüş halde cam şişelere alınmıştır.

Ozonlama uygulamasının pestisit kalıntısı düzeyine etkisini belirlemek için yukarıda bahsedilen şekilde 2400 mL elma suyu hazırlanmış ve pestisit çalışması için ayrılmıştır.

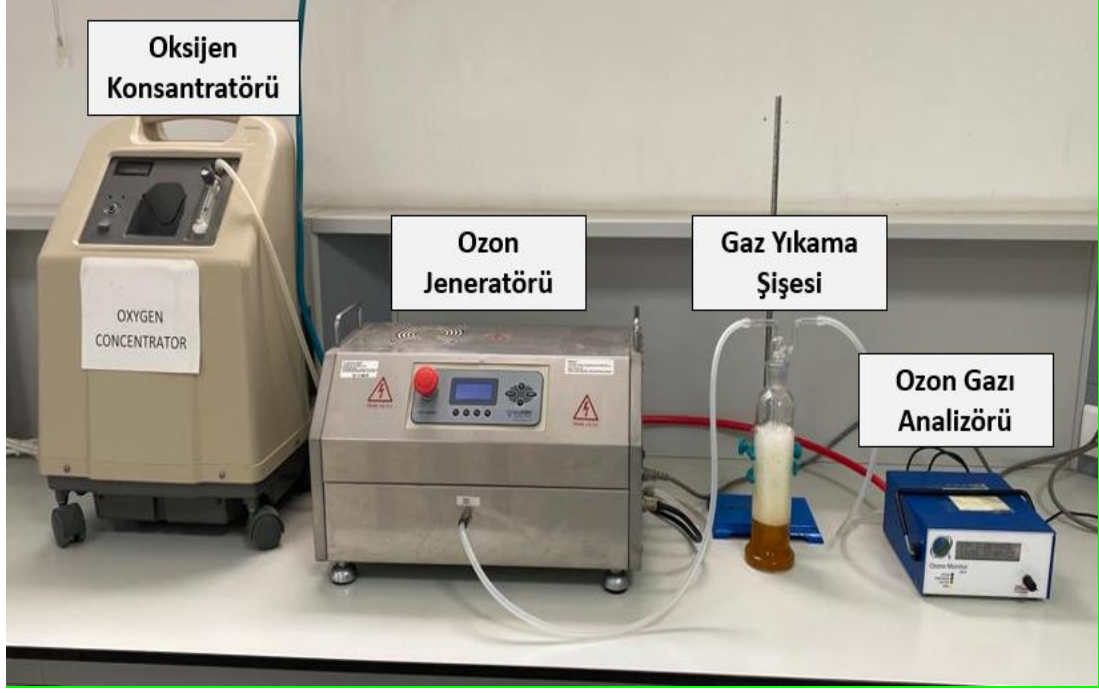
2.2 Pastörizasyon Uygulaması

250 mL'lik otoklavlanabilir cam şişelere 200 mL ham elma suyu örneğinden doldurulmuş ve kapakları kapatılmıştır. Elma suları için sanayide uygulanan normlarda (92 °C, 30 saniye) pastörizasyon işlemi yapılmıştır. Pastörizasyon işlemi için sıcaklığı 98 °C'ye ayarlanmış bir su banyosu (Mipro, MSB 30, Metropolitana, Şili) kullanılmıştır. Söz konusu su banyosunda bekletilen cam şişedeki elma suyu örneklerinin sıcaklığı 92 °C'ye ulaştığında bu sıcaklıkta 30 saniye bekletilmiştir. İşlem sonrasında örnekler çeşmeden akan su altına tutularak soğutulmuş ve analizler için +4 °C'de bekletilmiştir. Örneklerin istenilen pastörizasyon sıcaklığı olan 92

°C'ye ne kadar sürede geldiği aynı koşullarda, aynı su banyosu içinde tutulan bir elma suyu örneğinin sıcaklığının bir termometre ile sürekli takip edilmesiyle belirlenmiş olup bu süre yaklaşık 7 dakika olarak tespit edilmiştir. Bu süreye göre diğer örneklerin pastörizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Analizler 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

2.3 Ozon Uygulamaları

Ozonlama işlemi için Korona Deşarj Metodu ilkesiyle çalışan, 10 g/saat kapasiteye sahip bir ozon jeneratörü (AZ 1001, Kuark Tekozon, Ankara) kullanılmıştır. Bir oksijen konsantratöründen elde edilen oksijen gazı, jeneratöre besleme gazı olarak verilmiştir. Konsantratörde tüm örnekler için ozon akış hızı 2 L/dakika olarak ayarlanmıştır. Jeneratörden elde edilen ozon gazı, silikon hortumla taşınıp 500 mL'lik cam bir gaz yıkama şişesine yerleştirilen 200 mL elma suyuna doğrudan gönderilmiştir. Gaz yıkama şişesi içindeki ozon gazının konsantrasyonu bir ozon gazı analizörü (2B Technologies, 106-H, ABD) kullanılarak belirlenmiş ve çalışma boyunca hacimce 2.2 ± 0.2 'de sabit kaldığı görülmüştür. Farklı sürelerde (15-30-45-60-90 dakika) ozon uygulamasına maruz bırakılan örneklerde mikrobiyolojik, fiziko-kimyasal kalite parametreleri ve pestisit kalıntı düzeyindeki değişimler incelenmiştir. Analizler 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Ozon gazı uygulamasının yapıldığı deney düzeneği Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1: Ozon gazı uygulamasının yapıldığı deney düzeneği

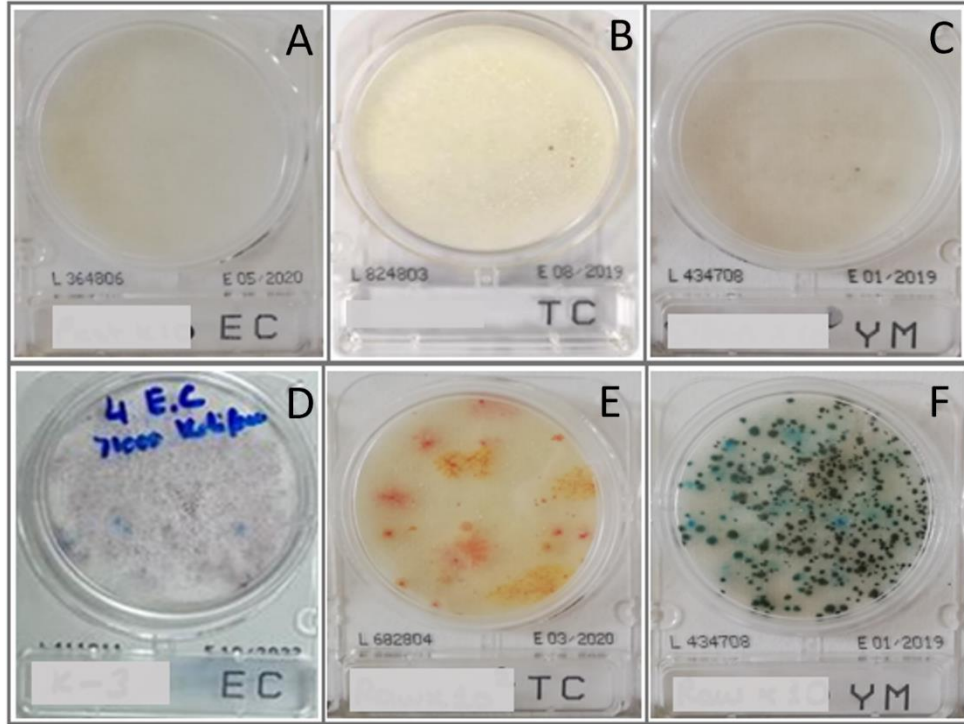
2.4 Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizlerde kullanılacak tüm malzemeler (distile su, cam malzemeler, pipet uçları vb.) 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak (Hirayama, HA-300M, Saitama, Japonya) steril edilmiştir.

Pastörizasyon ve farklı sürede ozonlama işlemleri yapılan örneklerin öncesinde ve sonrasında aşağıda belirtilen mikrobiyolojik ekimlerin yapılması ile söz konusu işlemlerin elma suyu örneklerinde meydana getirdiği mikrobiyolojik değişimler belirlenmiştir. Elma suyu örneklerinde, *E. coli*, koliform grup bakteriler, TAMB ve maya-küf ekimleri yapılmıştır. Yapılan mikrobiyolojik ekimler için hazır besiyeri (compact DRY) kullanılmıştır. *E. coli* ve koliform grup bakteriler için compact DRY-EC (hazır besiyeri-*E. coli*), TAMB için compact DRY-TC (hazır besiyeri-total count), maya-küf için compact DRY-YM (hazır besiyeri-yeast and molds) kullanılmıştır. Analizler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Her örnek için 3 paralel ekim yapılmıştır.

2.4.1 Hazır Besiyeri

Compact DRY besiyerleri, *E. coli*, koliform grubu bakteriler, TAMB ve maya-küf mikroorganizmalarının tanımlanabilmesi için kullanıma hazır halde bulunan kromojenik (pigment veya renk verici madde oluşturan) hazır besiyerleridir. Bu besiyerleri, dehidre edilmiş agar içermekte ve inkübasyon süresinin sonunda kromojenik substrat ve redoks indikatörünün varlığı ile farklı renklerde gelişen kolonilerin kolay bir şekilde belirlenmesinde kullanılmaktadır (Beuchat ve ark. 1998; Öz, 2015). Kontrol, pastörizasyon işlemi uygulanan örnekler ve farklı sürelerde ozon uygulaması yapılan örneklerde aşağıda bahsedilen mikrobiyolojik ekimlerde söz konusu besiyerleri kullanılmıştır. Ekim yapılmış ve yapılmamış hazır besiyerlerinin örnekleri Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2: Ekim yapılmamış; *E. coli* (A), TAMB (B), maya-küf (C), Ekim yapılmış; *E. coli* (D), TAMB (E), maya-küf (F) hazır besiyeri

2.4.2 *Escherichia coli* ve Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı

E. coli ve koliform grubu bakterilerin tayininde compact DRY-EC hazır besiyeri kullanılmıştır. Uygulama gerçekleştirilmiş ve gerçekleştirilmemiş

örneklerden steril pipet ile 1 mL alınan örnek, hazır petrinin orta bölgesine aktarılmış ve petri kapağı kapatılıp örneğin besiyerinin tüm bölgesine eşit dağılması için 8 çizme hareketi yapılmıştır. Örnek, besiyerine hızla difüze olmuş ve besiyeri saniyeler içinde jele dönüşmüştür. Daha sonra petriler 35 ± 2 °C’de 24 saatlik inkübasyon için etüve bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrilerdeki kolonilerde koloni sayımı gerçekleştirilmiştir. *E. coli* mavi renkli koloni oluşturmaktadır. Kırmızı, pembe, mor ve mavi renkli kolonilerin toplamı koliform grubu bakterileri göstermektedir (AOAC, 2015a).

2.4.3 Toplam Aerobik Mezofilik Bakterilerin (TAMB) Sayımı

TAMB tayininde compact DRY-TC hazır besiyeri kullanılmıştır. Yukarıda anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen işlemler sonunda 35 ± 2 °C’de 48 saatlik inkübasyon için etüve bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrilerdeki kolonilerde koloni sayımı gerçekleştirilmiştir. TAMB genellikle kırmızı renkli koloniler oluşturmaktadır. Kırmızı ve diğer renklerde oluşan koloniler TAMB grubu bakterileri göstermektedir (AOAC, 2015b). Kodaka ve ark. (2005)’in gerçekleştirdiği çalışmaya göre tarafımızdan kullanılan compact-DRY-TC yöntemi ile standart dökme ekim yöntemi (AOAC, 966.23.) arasında performans çalışmalarında fark bulunmamıştır (Kodaka, 2005).

2.4.4 Maya-küf Sayımı

Maya-küf tayininde Compact DRY-YM hazır besiyeri kullanılmıştır. Yukarıda anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen işlemler sonunda 28 ± 2 °C’de 5 gün inkübasyon için etüve bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrilerdeki kolonilerde koloni sayımı gerçekleştirilmiştir. Mayalar mavi renkli koloniler oluşturmaktadır. Küfler, pamuksu yapıda koloniler oluşturmaktadır (AOAC, 2015). De Paula ve ark. (2011)’nin portakal sularında gerçekleştirdiği çalışmanın sonuçlarına göre tarafımızdan kullanılan compact-DRY-TC yöntemi ile standart dökme ekim yöntemi (AOAC, 2009) arasında performans çalışmalarında fark bulunmamıştır.

2.5 Briks Tayini

Kontrol, pastörizasyon ve ozonlama işlemi uygulanmış örneklerdeki suda çözümlü kuru madde (Briks) değeri dijital bir refraktometre cihazında (Atago Rx 5000, Atago Co. Ltd., Japan) ölçülmüştür. Cihazın örnek haznesine elma suyu konup cihazın verdiği değer kaydedilmiştir (IFUMA08, 2017). Analizler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

2.6 pH ve Toplam Asitlik Tayini

Örneklerin pH değeri bir pH metre cihazı (WTW GmbH, pH 720, Weilheim, Almanya) ile belirlenmiştir. pH metre probu elma suyu içerisine daldırılıp değerlerin sabitlenmesi beklenmiş ve sonuç not edilmiştir.

Örneklerin toplam asitlik değerlerinin belirlenmesinde dönüm noktası olan 8.1 pH'nın tespit edilmesinde de aynı pH metre cihazı kullanılmıştır. Örneklerin toplam asitliği 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisi ile titrasyon yöntemiyle belirlenmiştir (IFU MA11, 2015). Bir behere örnekten 5 g tartılıp üzerine 80 g saf su ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. 0.1 N NaOH çözeltisi ile elma suyu titre edilmeye başlanmış ve pH 8.1'de sabitleninceye kadar devam edilmiştir. pH 8.1 olunca titrasyon sona erdirilmiş ve bürette harcanan NaOH çözeltisinin hacmi okunmuş ve örneğin toplam asitlik değeri aşağıdaki denklemle hesaplanmıştır.

$$\text{Asitlik (g/L)} = [(V*N*E*1000)] / M$$

V: Harcanan 0.1 N NaOH miktarı, mL

N: NaOH Normalitesi

E: 1 mL 0.1 N NaOH'ın eşdeğeri asit miktarı, g (malik asit için E=0.067)

M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı, g

2.7 Renk Tayini

Pastörizasyon ve ozon uygulamalarının elma suyu örneklerinin renk değeri üzerine etkilerini belirlemek için bir spektrofotometre cihazında (HACH DR 3900 spectrophotometer, HACH, Colorado, ABD) renk analizi yapılmıştır. Öncelikle cam küvet (WTW, rek 10, Almanya) içerisine saf su koyup cihaz 440 nm’de sıfırlanmıştır. Daha sonra cam küvete 11.2 Briks’e ayarlanmış olan elma suyu örnekleri konup 440 nm dalga boyunda aynı şekilde okuma yapılmıştır. Sonuçlar % transmittans (% T) cinsinden verilmiştir.

2.8 Bulanıklık Tayini

Elma suyu örneklerinin bulanıklığı bir turbidimetre cihazı (HACH TL 2360 turbidimeter, HACH Company, Loveland, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Öncelikle turbidimetrenin örnek haznesine saf su konulup cihaz sıfırlanmıştır. Daha sonra elma suyu örnekleri 11.2 Briks’e ayarlandıktan sonra turbidimetrenin örnek hücreindeki sınır çizgisine kadar elma suyu konulmuş ve cihazda okutulmuştur. Sonuçlar Nefelometrik Bulanıklık Ünitesi (NTU) olarak ifade edilmiştir.

2.9 Toplam Fenolik Madde Tayini

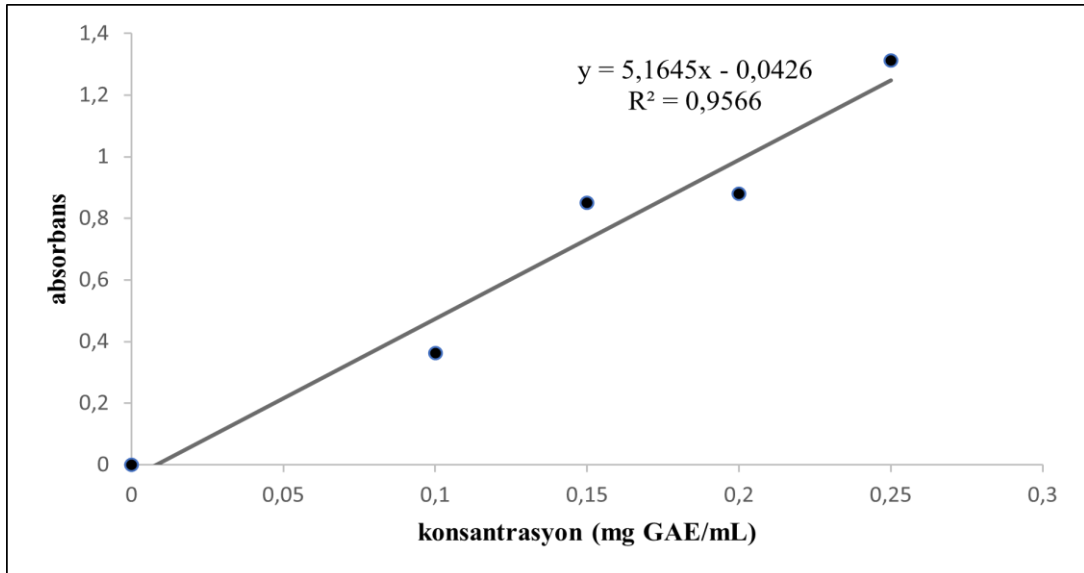
Meyve suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek ve Folin-Ciocalteu çözeltisi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemin ilkesi, fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayırıcını indirgeyip, kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Reaksiyon sonunda indirgenmiş ayırıcın oluşturduğu mavi renk fotometrik olarak ölçülmüştür.

Kontrol örneğinde, 1 mL meyve suyu ve 7 mL %80’lik metanol-su (80:20 v/v) çözeltisi bir falkon tüpüne konarak seyreltme işlemi uygulanmıştır (Bu seyreltme işlemi kontrol, pastörizasyon ve ozon uygulaması yapılan örneklerde farklı oranlarda yapılmıştır). Seyreltilen örnekten 300 µL bir deney tüpüne alınmıştır. Üzerine 1500 µL 0.2 N Folin-Ciocalteu ayırıcı konup bir vorteksle karıştırılmış ve 5

1 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra karışıma 1200 µL doymuş sodyum karbonat çözeltisi (75 mg/mL) ilave edilmiştir. Deney tüplerinin ağızları parafilm ile kapatılmış ve vorteksle karıştırılan numuneler 2 saat daha karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda numunelerin absorbansı spektrofotometrede 760 nm'de okunmuş ve elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilen yöntemle hesaplanıp sunulmuştur. Analizler 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Her örnek için 3 ölçüm yapılmıştır.

2.9.1 Elma Suyu Örneklerinde Toplam Fenolik Madde Miktarının Hesaplanması

Spektrofotometrede okunan örnek absorbansı, gallik asit standart eğrisi yardımıyla değerlendirilmiştir. Bu amaçla, gallik asit standart maddesinden (G-7384, Sigma-Aldrich, ABD) 0.05 g tartılarak, 100 mL saf su içerisinde çözündürülmüştür. Hazırlanan bu stok çözeltiden 0, 0.1, 0.15, 0.2 ve 0.25 mg/mL konsantrasyonunda standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan standartlara elma suyu örneklerine uygulanan işlemler tekrarlanmış ve 760 nm dalga boyunda absorbansları saptanmıştır. Bu absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe aktarılıp gallik asit kalibrasyon eğrisi elde edilmiş ve bu kalibrasyon eğrisi Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3: Elma sularının toplam fenolik madde miktarının analizinde kullanılan gallik asit kalibrasyon eğrisi

Örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı bu kalibrasyon eğrisinden elde edilmiş ve mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L meyve suyu olarak verilmiştir.

Yukarıda anlatılan yöntemle göre kontrol elma suyu örneği için yapılan hesaplama aşağıda örnek olarak verilmiştir:

Elma suyu örneğinin 760 nm’de verdiği absorbans değeri (y)=0.536

$y=5.1645x - 0.0426$ (Şekil 2.3’te verilen kalibrasyon eğrisinin eğimi)

$= ([0.536+0.0426]) / (5.1645) = 0.112 \text{ mg GAE/mL} = 112 \text{ mg GAE/L}$

$=112 \text{ mg GAE/L meyve suyu} \times 8 \text{ (seyreltme faktörü)}$

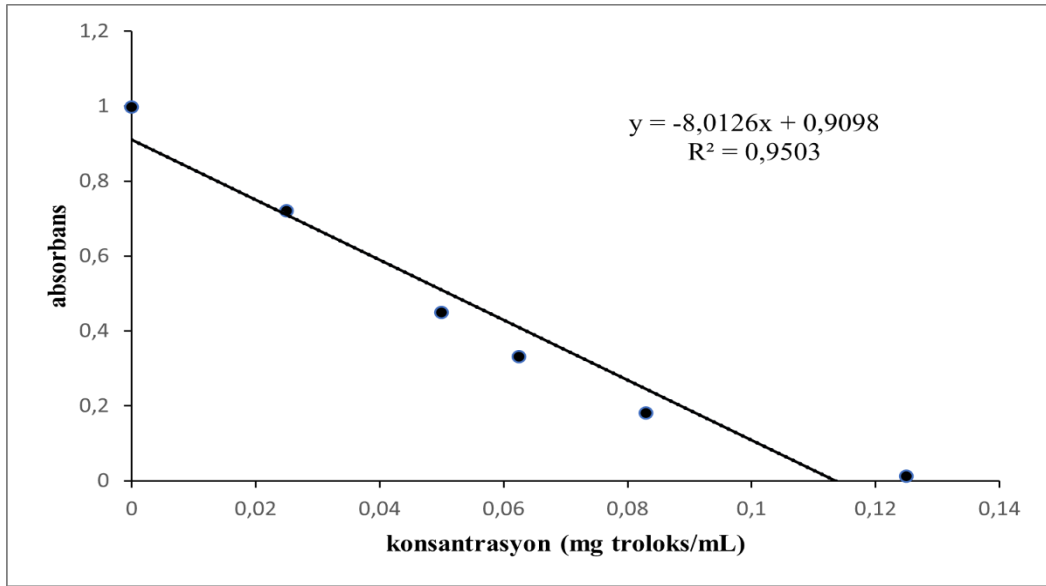
$=896 \text{ mg GAE/L meyve suyu}$

2.10 Antioksidan Aktivite Tayini

Elma sularında antioksidan aktivite tayini için gıdalarda yaygın olarak kullanılan DPPH yöntemi (Brand-Williams vd. 1995) modifiye edilerek kullanılmıştır. DPPH’ten (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Aldrich D-211400) 0,0024 g tartılıp 100 mL metanol içerisinde çözündürülmüştür. Toplam fenolik madde analizinde olduğu gibi antioksidan aktivite analizinde kullanılacak elma suyu örnekleri (kontrol, pastörizasyon ve ozon uygulanmış olması durumuna göre) farklı oranlarda seyreltme işlemlerine tabi tutulmuştur. Seyreltme işlemi %80’lik metanol-su (80:20, v/v) çözeltilisi kullanılarak yapılmıştır. Seyreltme yapılan örnekten 150 µL alınıp 2850 µL DPPH çözeltilisiyle karıştırılmış ve deney tüpünün ağzı parafilm ile kapatılmıştır. Vortekslenen tüpler 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin spektrofotometrede 515 nm’de verdiği absorbans, mg troloks eşdeğeri/L olarak ifade edilmiştir. Cihazın sıfırlanmasında %80’lik metanol:su karışımı (80:20, v/v) kullanılmıştır.

2.10.1 Elma Suyu Örneklerinde Antioksidan Aktivite Miktarının Hesaplanması

Elma suyu örneklerinden elde edilen spektrofotometrik absorbans değerleri, standart eğri yardımıyla değerlendirilmiştir. Bu amaçla, 0.005 g troloks (6-Hydroxy-2,5,7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid, 23,881-3, Sigma-Aldrich, ABD) 1 mL etanol içerisinde çözdürülmüş ve 10 mL'lik bir balon jode saf su ile çizgisine tamamlanarak troloks stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden etanolle hazırlanan 0, 0.025, 0.050, 0.062, 0.083 ve 0.125 mg troloks/mL çalışma standartlarına elma suyu örneklerine uygulanan aynı işlemler uygulanarak 515 nm dalga boyunda verdiği absorbanslar ölçülmüştür. Bu absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe aktarılıp troloks kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Elma sularının antioksidan aktivitesi miktarının analizinde kullanılan troloks kalibrasyon eğrisi

Örneklerdeki antioksidan aktivitesi miktarı bu kalibrasyon eğrisinden elde edilmiş ve mg troloks/L elma suyu olarak verilmiştir.

Yukarıda anlatılan yöntemle göre kontrol elma suyu örneği için yapılan hesaplama aşağıda örnek olarak verilmiştir:

Elma suyu örneğinin 515 nm'de verdiği absorbans değeri (y)=0.302

$$y = -8.0126x + 0.9098 \text{ (Şekil 2.4'te verilen kalibrasyon eğrisinin eğimi)}$$

$$= ([0.302-0.9098])/(-8.0126) = 0.076 \text{ mg troloks/mL} = 76 \text{ mg troloks/L}$$

$$=76 \text{ mg troloks/L elma suyu} \times 4 \text{ (seyreltme faktörü)}$$

$$=304 \text{ mg troloks/L elma suyu}$$

2.11 Pestisit Tayini

Farklı sürelerdeki ozonlama uygulamalarının elma sularındaki pestisitlerin düzeyi üzerine etkisi incelenmiştir. 2400 mL ham elma suyu örneği '2.1 elma sularının hazırlanması' başlığı altında anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Başlangıçta pestisit içermediği bilinen bu elma suyu kitlesine, farklı konsantrasyonlarda pestisit etken maddelerini içeren zirai ilaçlar eklenmiştir. Bu pestisitlerin ticari isimleri: Mostar (20 g/100 L Acetamiprid, Koruma klor, Kocaeli, Türkiye), Scoop (10 mL/100 L Difenconazole, Safa Tarım A.Ş, Konya, Türkiye), Korumagor (100 mL/100 L Dimethoate, Koruma klor, Kocaeli, Türkiye), Luna (35 mL/100 L, Fluopyram, Bayer, Leverkusen, Almanya), Confidor (2.5 L/100 L, Imidacloprid, Bayer, Leverkusen, Almanya), Uphold (25 mL/100 L, Methoxyfenozide, Corteva, Indiana, ABD), Pyricose (50 mL/100 L, Pyrimethanil, Koruma klor, Kocaeli, Türkiye), Postman (40 mL/100 L, Thiachloprid, Ertar Kimya, Adana, Türkiye), Flint 50 WG (%50 Trifloxystrobin, Bayer CropScience, Monheim, Almanya)'dır. Ürün etiketlerinde belirtilen konsantrasyonlarda hazırlanan 9 adet pestisit stok çözeltisinin her birinden 24 mL otomatik pipet ile çekilip, hazırlanmış olan elma suyu kitlesine (2400 mL) eklenmiştir. Bu ekleme sonrasında elma suyu örneği iyice çalkalanmıştır. Pestisit etken maddelerini içeren bu örnek, her biri 200 mL olacak şekilde 12 eşit porsiyon şeklinde cam şişelere alınmıştır. Bu porsiyonlardan 3 adedi kontrol örneği olarak belirlenmiş, diğer 9 tanesi ise farklı sürelerde (30, 60 ve 90 dakika) ozonlanmak üzere ayrılmıştır. '2.3 ozon uygulamaları' başlığı altında anlatıldığı şekilde ozonlanan örnekler ve başlangıçta ayrılan kontrol numuneleri pestisit analizi yapılması için özel bir laboratuvara gönderilmiştir.

Pestisitlerin analizi için hizmet alımı uygulamasına gidilmiştir. Söz konusu laboratuvarında kullanılan yöntem bir ekstraksiyon prosedürü ve sonrasında ultra performans sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi (Liquid chromatography–mass spectrometry, UPLC-MS/MS) ile tayin basamağından ibarettir. Pestisitlerin elma suyunda ekstraksiyonunda Quechers yöntemi (AOAC Official Method 2007.01) kullanılmıştır. Buna göre elma suyu örneğinden, 3 g numune bir Falcon tüpüne (50 mL) aktarılmış ve üzerine 12 mL damıtılmış su ilave edilmiştir. Tüp bir vorteks karıştırıcı kullanılarak çalkalanmıştır. Daha sonra tüpe 1.5 g susuz sodyum asetat, 6 g susuz magnezyum sülfat ve %1’lik asetik asit (v/v) içeren 15 mL asetonitril ilave edilmiştir. Tüp çalkalandıktan sonra, 2 dakika boyunca 2016 x g’da santrifüjlenmiştir (Rotofix 32, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Almanya). Sekiz mililitre süpernatant başka bir tüpe aktarılıp, 1.2 mg magnezyum sülfat ve 0.4 g birincil-ikincil aminler ilave edilmiştir. Aynı koşullar altında çalkalama ve santrifüjlemeden sonra, 1 mL süpernatant ışık geçirmeyen kahverengi vialle aktarılıp, 4 mL metanol-su karışımı (85:15, v/v) ile seyreltilmiştir. Bu çözeltiliden 20 µL örnek UPLC-MS/MS içine enjekte edilmiştir. Analizler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Pestisit analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerde kullanılan kromatografi şartları Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1: Pestisit analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerde kullanılan kromatografi şartları

HPLC	Thermo Ultimate 3000 UPLC
Pompa	Thermo Ultimate 3000
Kolon	Agilent Poroshell 120 (EC-C18 / 2.7um / 3x150mm)
Kolon fırını	35 °C
Dedektör	Thermo TSQ ALTIS MSMS
Mobil faz	A (su): 5mM Amonyum format, %0.1 Formik asit, 2L mobil faz içeriği: 1 mL Amonyum Format + 2 mL Formik asit B (metanol): 5mM Amonyum format, %0.1 Formik asit, 2L mobil faz içeriği: 1 mL Amonyum Format + 2 mL Formik asit Akış rejimi: 0-2 dakika: %80A, %20B 2.01-13.50 dakika: %60A, %40B 13.51-16.00 dakika: %5A, %95B 16.01-21.00 dakika: %80A, %20B
Akış hızı	0.6 mL/dakika

2.12 İstatistiksel Analizler

Çalışmamızdaki istatistiksel değerlendirmeler ‘Minitab 16 Statistical Software’ ve ‘MSTAT-C Statistical Software’ programları kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen veriler Minitab programındaki ‘Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA)’ yöntemi ile değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Tukey testi ile karşılaştırılmış olup karşılaştırma gruplarına ait veriler $\alpha=0.05$ güven aralığına göre test edilmiştir. Daha sonra ortalamalar, MSTAT-C programındaki ‘Duncan Çoklu Aralık Testleri ($p \leq 0.05$)’ kullanılarak karşılaştırılmıştır.

3. BULGULAR

3.1 Pastörizasyon ve Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Sularındaki Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

Elma suyu örneklerinde doğal olarak bulunan mikroorganizma grupları üzerine pastörizasyon ve farklı sürelerde gerçekleştirilen ozon uygulamaları sonucunda elde edilen bulgular Tablo 3.1’de verilmiştir.

Meyve sularının raf ömrünün belirlenmesinde en önemli etkenlerden biri, ürünün bozulmasına neden olan ‘mikroorganizmalar’dır. Patojen bakteriler gıda kaynaklı hastalık vakalarının %32’sine, ölümcül gıda kaynaklı hastalıkların ise %84’üne neden olmaktadır. Bununla birlikte, meyve sularındaki patojenler birçok salgına neden olmuştur. 1996’da, pastörize edilmemiş ticari elma suyuna kadar izlenen büyük bir *E. coli* O157:H7 salgını olmuş hatta bir ölüm vakasıyla sonuçlanmıştır (Charfi ve ark. 2023; Cody ve ark. 1999).

Ozonlama ve pastörizasyon işlemleri uygulanacak kontrol örneklerindeki, *E. coli*, koliform, TAMB ve maya-küf sayılarının sırasıyla 0.56, 3.69, 3.82 ve 3.92 log kob/mL olduğu gerçekleştirilen mikrobiyolojik analizlerle tespit edilmiştir. Pastörizasyon ve farklı süreler gerçekleştirilen ozon uygulamalarının incelenen tüm mikroorganizma grupları üzerinde genellikle etkili olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda incelenen tüm ozonlama işlemleri ile *E. coli* ve onun dahil olduğu grup olan koliform grubu bakterilerin tamamen inhibe olduğu tespit edilmiştir. Bu durum ozonlama işleminin koliform grubu bakteriler üzerinde oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Tarafımızdan uygulanan en kısa ozonlama süresi olan 15 dakikalık uygulama sonunda dahi *E. coli* ve koliform grubu mikroorganizmaların tamamen inhibe olması, daha kısa süreli ozon uygulamalarının bu mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında yeterli olabileceği fikrini doğrulamaktadır.

Tablo 3.1: Pastörizasyon ve farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu içeriğindeki mikroorganizmalar üzerine etkisi*

Mikroorganizma (log kob/mL*)	Ozon Uygulaması (dakika)						
	Kontrol	15	30	45	60	90	Pastörizasyon
<i>E. coli</i>	0.56±0.22 A	TE B	TE B	TE B	TE B	TE B	TE B
Koliform	3.69±1.69 A	TE B	TE B	TE B	TE B	TE B	TE B
TAMB	3.82±1.0 A	1.23±0.46 B	0.40±0.30 C	TE C	TE C	TE C	TE C
Maya-küf	3.92±0,0 A	1.95±1.85 B	0.34±0.52 C	0.34±0.09 C	0.23±0.20 C	TE C	TE C

*: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).

TE: Tespit edilemedi.

Nitekim, Patil ve ark. (2010) ve Song ve ark. (2015), elma sularında *E. coli* sayısını sırasıyla 5 ve 4 dakikalık ozon uygulaması sonunda tespit edilebilir seviyenin altına düştüğünü bildirmişlerdir.

Scott ve Leshner (1963) ozonun, Gram negatif bakteriler üzerine etkisini, sahip olduğu lipopolisakkarit ve lipoprotein tabakaları gibi hücresel elementlerine verdiği hasar ile hücrenin geçirgenliğini bozarak hücre ölümüne sebep olduğundan kaynaklandığını ileri sürmüştür. Bu grup mikroorganizmaların ozona karşı çok hassas olduğu tespit edilmiştir.

Bu patojen grubu mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında; pastörizasyon bilinen en eski ve etkili yöntemlerden biridir. Bizim yaptığımız çalışmada pastörizasyon uygulaması sonucunda bahsi geçen mikroorganizma grupları tespit edilebilir seviyenin altına düşmüştür.

Oksijen bulunan ortamlarda varlıklarını devam ettirebilen aerobik mezofilik bakteriler; gıdalarda bozulmaya neden olan ve gıda kaynaklı hastalıklara yol açan patojen mikroorganizmaların çoğunluğunu kapsamaktadır (Gönül ve Kışla, 2009). Hijyenik üretim hakkında da fikir veren mikroorganizma grubu olan bu bakterilerden kaynaklı olarak; sıcak iklime sahip, gelişmekte olan ülkelerde yapılan bazı araştırmalarda, pastörize edilmemiş, endüstriyel meyve ve sebze sularındaki toplam bakteri sayısının sokakta satılan taze meyve suları ile benzer seviyede olduğu belirtilmiştir (Berthold-Pluta ve ark. 2017). Bu hijyenik olmayan koşulların önüne geçmek ve ürünün raf ömrünü uzatmak için meyve sularında geleneksel olarak pastörizasyon uygulaması yapılmaktadır.

Gıdaların mikrobiyolojik kalitesinin ölçülmesinde temel parametrelerden birini oluşturan TAMB sayısı, pastörizasyon ve ozon uygulaması yapılan elma suyu örneklerinde belirlenmiştir. Yaptığımız çalışma sonunda, ham elma suyunda 3.82 log kob/mL bulunan TAMB, pastörizasyon işlemi sonrasında tespit edilebilir limitin altına düşmüştür. 15 dakika ozon uygulaması sonunda 1.23 log kob/mL seviyesine düşerken, 30 dakika ozon uygulaması sonrasında tespit edilebilir limitin altına düştüğü görülmüştür.

Arı ve ark. (2020), pastörize edilmemiş ham elma suyunda 3.70 log kob/mL tespit edilen TAMB sayısının, 85 °C’de 10 dakika pastörize edilen örneklerde tespit

edilebilir limitin altına düştüğünü, 2 dakika ozon uygulaması sonunda 1 log, 5 dakika ozon uygulaması sonrasında 2 log seviyesinde azaldığını bildirmişlerdir. Tarafımızdan kullanılan ham elma suyu örneğinde yakın miktarda TAMB sayısı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda uygulanan 15 ve 30 dakika ozonlama işlemleri sonucunda elma suyundaki TAMB sayısının sırasıyla yaklaşık 2.5 ve 3.5 log birim azaldığı tespit edilmiştir.

Ozon uygulaması yapılan elma suyu örneklerinde, koliform grubu mikroorganizmaların ve TAMB sayılarının tespit edilebilir seviyelerin altına sırasıyla 15 ve 30 dakikalık uygulamalar sonucunda düştüğü tespit edilmiştir. Bu bulgu TAMB grubu mikroorganizmaların koliform grubuna kıyasla ozona karşı daha dirençli olduğunu göstermektedir. Bu durum bakteri türlerinin hücresel yapıları oldukça farklı olduğundan, farklı bakteri türlerinin ozona karşı heterojen duyarlılığı ile açıklanabilir (Tabakoğlu, 2016). Mikroorganizmaların hücrelerini parçalayarak hücre yapısına zarar veren ozon, bu sırada hücrenin enzim sistemini etkileyip hücre solunumunu durdurması ile mikroorganizma ölümünün gerçekleşmesine neden olmaktadır (Alparslan ve ark. 2012).

Sınırlı bir grup maya-küf, düşük pH aralığına sahip olduğu bilinen meyve sularında hayatta kalabilir. Meyve sularının sahip olduğu asitlik, diğer mikroorganizma gruplarının yaşam rekabetini sınırlayarak bu mikroorganizmaların gelişimi için elverişli olabilir (Elez-Martínez ve ark. 2005; Jacoba ve ark. 2010). Meyve suları genellikle basit karbonhidratlar ve kompleks azot kaynakları açısından zengindir ve bu nedenle mayalar için ideal substratlardır (Patil ve ark. 2011).

Ozonlama ve pastörizasyon işlemleri uygulanacak kontrol örneğinde 3.92 log kob/mL olan maya-küf miktarı 15 ve 30 dakikalık ozon uygulamaları sonunda sırasıyla 1.95 ve 0.34 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. 30, 45 ve 60 dakikalık ozon uygulamaları sonrası örneklerin maya-küf değerleri arasında istatistiksel fark olmadığı görülmüştür. 90 dakika ozon uygulaması yapılan örneklerde ise, pastörizasyon uygulamasında elde edilen sonuca ulaşılmış ve maya-küf sayısı tespit edilebilir seviyenin altında bulunmuştur.

Jacoba ve ark. (2010), ham elma suyu örneklerinde yaptığı çalışmada, maya-küf miktarını 3.5 log kob/mL tespit ederken, 90 °C, 4 dakika pastörizasyon işlemi sonucu tespit edilebilir seviyenin altına düştüğünü belirtmişlerdir. Söz konusu

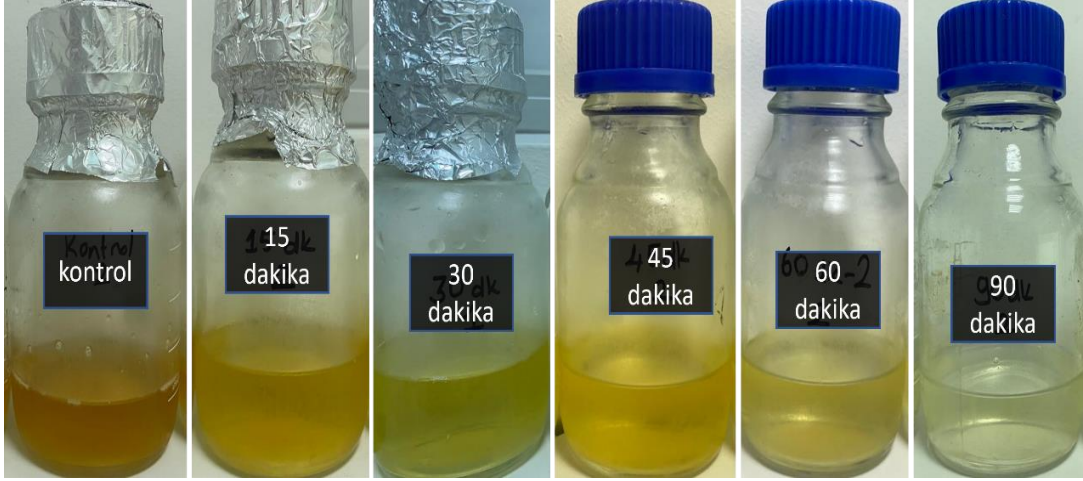
çalışmanın bulgularına paralel olarak, bu tez çalışmasında kullanılmış olan elma suyu örneklerinin maya-küf miktarı 3.92 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda yaklaşık 3.5 log'luk azalma 60 dakika ozon uygulamasından sonra gerçekleşmiştir.

Ozon gazının küf gelişimini önlemedeki etki mekanizması, küfün koruyucu membranına verdiği hasar ile açıklanmaktadır. Bazı küf türlerinin membran yapılarının farklılığı sonucu ozon gazının farklı küf türlerine karşı etkinliği değişebilmektedir ve ozon gazına olan dirençleri artabilmektedir (Awuchi ve ark. 2021).

Ozonun, hücresel bileşenlerin oksidasyonu ile mikroorganizmaları etkisiz hale getirdiği bilinmektedir (Karaca ve Velioğlu, 2007). Bizim çalışmamızın sonuçlarına paralel olarak, ozonlama süresi arttıkça ozonun mikrobiyolojik etkinliğinin arttığına dair benzer sonuçlar literatür çalışmalarında görülmüştür (Arı ve ark. 2020; Jacoba ve ark. 2011). Araştırma bulgularımızdan; uygulama süresinin artırılması halinde, ozonlama işleminin mikrobiyal inhibisyon amacıyla, pastörizasyon uygulaması yerine kullanılabilir bir işlem olduğu sonucu çıkarılabilir (Arı ve ark. 2020; Güzel-Seydim, 2004).

3.2 Pastörizasyon ve Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Suyunun Genel Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi

Elma sularında gerçekleştirilen pastörizasyon ve ozon uygulaması gibi işlemler, ürünün kalite parametrelerinde bazı önemli değişikliklere sebep olabilmektedir. Pastörizasyon ve farklı sürelerde ozon uygulamaları ile elma sularının kalite parametrelerinde meydana gelen değişim Tablo 3.2'de görülmektedir. Ayrıca, tez çalışmasında gerçekleştirilen ozon uygulamalarının elma sularının renginde yol açtığı değişimleri gösteren görsel Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1: Farklı sürede ozon uygulaması yapılmış örneklerin görseli

Pastörizasyon ve farklı sürelerde ozonlama işlemleri uygulanan kontrol örneklerinde, Briks, pH, toplam asitlik, renk ve bulanıklık değerlerindeki değişimler analizlerle tespit edilmiştir. Pastörizasyon işlemi ve farklı süreler gerçekleştirilen ozon uygulamalarının incelenen örneklerde bazı kalite parametrelerinde değişiklikler meydana getirdiği gözlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada pastörizasyon ve ozon uygulaması sonucunda örneklerin Briks değerinde istatistiksel olarak fark görülmüş olsa da, büyük bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Ozon uygulamasının oksidasyona neden olurken herhangi bir fermentasyon ürünü oluşmadığı ve ortamdaki şekerin tüketilebileceği bir faaliyet olmamasından dolayı bu farkın sadece cihazın okuma yaptığı sapma değerinden kaynaklandığı düşünülebilir. Yapılan literatür çalışmalarında da uygulanan ozonlama işlemi sonrası elma suyu (Diao ve ark. 2018b) ve karpuz suyu (Lee ve ark. 2022) örneklerinde Briks değerinde kayda değer bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir.

Tablo 3.2: Pastörizasyon ve farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyunun kalite parametreleri üzerine etkisi*

Uygulama	Briks	pH	Toplam Asitlik (g/kg malik asit)	Renk (%T)	Bulanıklık (NTU)
Kontrol	13.09±0.05 A	3.56±0.01 A	22.04±0.05 E	26.7±0.2 F	70.7±0.4 A
Pastörizasyon	13.07±0.02 A	3.56±0.01 A	22.53±0.15 D	25.0±0.1 G	67.2±0.2 B
15 dakika ozon	13.00±0.03 BC	3.56±0.01 A	23.00±0.17 C	50.1±0.6 E	46.0±0.5 C
30 dakika ozon	12.99±0.01 C	3.56±0.01 A	23.53±0.26 B	70.2±0.7 D	22.2±1.8 D
45 dakika ozon	13.05±0.02 AB	3.56±0.01 A	23.57±0.03 B	73.4±0.4 C	19.8±0.2 E
60 dakika ozon	13.08±0.04 A	3.54±0.01 B	24.13±0.07 A	80.3±1.8 B	13.7±1.5 F
90 dakika ozon	13.05±0.01 AB	3.52±0.01 C	24.10±0.01 A	84.2±0.2 A	6.7±1.1 G

*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).

Çalışmamızda pastörizasyon ve ozon uygulaması yapılan örneklerin pH değeri ölçülmüştür. pH değerinin kontrol ve pastörizasyon örneklerinde istatistiksel olarak fark olmadığı gözlenmiştir. Ozon uygulaması yapılan örneklerde ilk 45 dakikada istatistiksel olarak fark olmadığı, 60 ve 90 dakika uygulamalarda küçük bir azalma meydana geldiği gözlenmiştir. Pastörize edilen ve ozonlanan örneklerin toplam asitlik değerlerinin kontrol örneğine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Lee ve ark. (2022) yaptığı karpuz suyu örneklerinde, Tiwari ve ark. (2009) domates suyu örneklerinde yaptıkları çalışmada, ozonlama uygulaması ile örneklerdeki pH değerinin azalırken, toplam asitlik değerinin, 5 ve 25 dakika arasında değişen ozon uygulama süresi boyunca önemli ölçüde arttığını belirtmişlerdir. pH'daki bu düşüşün, ozon uygulaması ile meyve suyundaki malik asit artışından kaynaklanıyor olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca, Jaramillo-Sanchez ve ark. (2018) da şeftali suyu örneklerinde ozon uygulaması sonrasında malik asit değerinde benzer şekilde hafif bir artış gözlemlemişlerdir. Yapılan bazı çalışmalarda pH ve toplam asitlik değerinin değişmediği çalışmalar da mevcuttur (Özen ve ark. 2022 ve Karaca, 2019).

Yaptığımız çalışmada spektrofotometrede 440 nm'de gerçekleştirilen ölçümlere göre renk değerlerinin (% transmittans cinsinden) kontrol örneklerinde 26.7 ± 0.2 , pastörizasyon uygulaması sonrası 25.0 ± 0.1 olduğu tespit edilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda pastörizasyon uygulaması ile renkte tespit edilen bu düşüşün, elma suyuna uygulanan ısıl işleme birlikte esmerleşme reaksiyonu (Maillard reaksiyonu) ile ortaya çıkan hidroksimetilfurfural (HMF)'dan kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Filiz ve Seydim, 2018; Arı ve ark. 2020). Yaptığımız çalışmanın devamında incelenen tüm ozonlama süreleri (15-90 dakika) sonunda meyve sularının % transmittans değerinin önemli ölçüde arttığı, yani renkte açılma olduğu tespit edilmiştir. Bu durum ozonlanan örneklerin görsel olarak incelenmesi sonucunda da bariz bir şekilde farkedilmiştir. Farklı sürelerde ozonlanan elma suyu örneklerinde tespit edilen bu durum Şekil 3.1'de görülmektedir. Ozon, çoğu organik bileşiğin bozunmasına neden olan yüksek bir oksidasyon potansiyeline (2.07 V) sahiptir. Bu sebeple ozonun, meyve sularında pigmentlerin parçalanmasına neden olduğu ve dolayısıyla üründe renk kaybına yol açtığı bildirilmiştir (Tiwari ve ark. 2009). Ozonun oksitleyici özelliği yeni oluşan oksijen atomundan kaynaklanmaktadır. Yine başka bir çalışmada benzer şekilde, ozonun portakal

suyunun renk pigmentinden sorumlu olduğu bilinen karotenoidlerin içerdiği aromatik halkaları açıp, organik asitler, aldehitler ve ketonlar gibi ürünlerin oksidasyonuna sebep olduğu bildirilmiştir (Cullen, 2013).

Yaptığımız çalışmada kontrol örneklerinde 70.7 ± 0.4 NTU olarak ölçülen bulanıklık değerinin, pastörizasyon uygulaması sonrası %5 oranında, 15 dakika ozon uygulaması sonunda ise %35 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Bu değer, 90 dakika ozon uygulaması sonrası ise %90 oranında azalmıştır. Ozonlama süresi arttıkça NTU değeri kademeli olarak azalmıştır. Ozonlama işlemiyle; şeker kamışı suyu (Rodrigues ve ark. 2017), turunçgil suları (Shah ve ark. 2019) ve mango suyunda (Supian ve ark. 2022) da NTU değerlerinin azaldığı bildirilmiştir. Elma sularındaki bulanıklığı oluşturan etmenler arasında pektin molekülü, proteinler, mikroorganizmalar ve fenolik bileşikler bulunmaktadır. Elma suyu örneklerinde ozonlama işlemi sonucu bulanıklık değerinde gözlenen azalma, ozonun söz konusu moleküllerle reaksiyona girmiş olabileceği fikrini akla getirmektedir. Nitekim tez çalışmamızın sonuçlarına göre, ozon uygulaması ile elma suyunun mikrobiyal yükünün azaldığı ve fenolik bileşiklerde kayıplar meydana geldiği tespit edilmiştir.

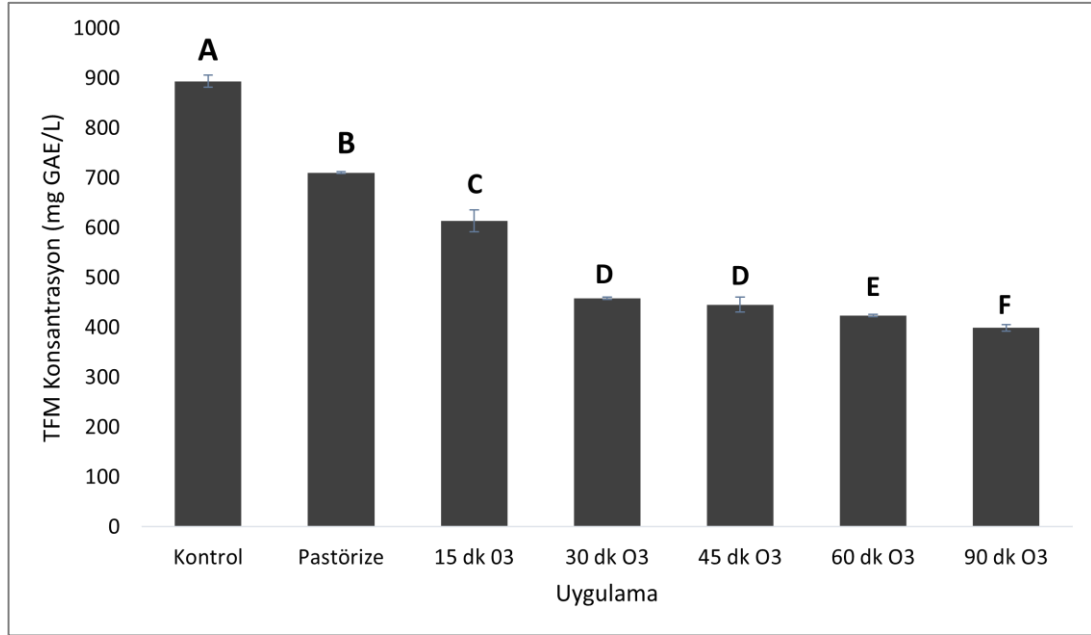
3.1 Pastörizasyon ve Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Suyunun Toplam Fenolik Madde Üzerine Etkisi

Pastörizasyon ve farklı sürelerde ozon uygulaması ile elma sularının TFM içeriğinde meydana gelen değişimler Şekil 3.2’de görülmektedir.

Pastörizasyon ve ozon uygulaması yapılmayan kontrol örneklerinde TFM içeriği 894 mg GAE/L olarak belirlenmiştir. Literatür çalışmalarında da bizim çalışmamızla benzer şekilde Torlak, 2014; Nayak ve ark. 2020; Torres ve ark. 2011; Diago ve ark. 2018, ham elma suyu örneklerinde TFM konsantrasyonu sırasıyla 571 mg GAE/L, 407.91 mg GAE/L, 63.8 mg GAE/L, 54.8 GAE/L olarak tespit etmişlerdir. Ham elma sularının TFM içeriğindeki farkların, üretimde kullanılan elmanın cinsi ve yetiştirilme şartlarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmada, pastörizasyon uygulaması (92 °C, 30s) yapılan elma suyu örneklerinde TFM içeriğinin 710 mg GAE/L, 90 dakika ozon uygulaması

yapılan örneklerde ise 399 mg GAE/L olduğu belirlenmiştir. Pastörizasyon uygulaması ile kontrol örneğindeki TFM içeriğinde %20, 15 dakika ozon uygulaması sonucunda ise %31 oranında azalma tespit edilmiştir. 90 dakika uygulama sonucunda bu kayıp %55.4 olarak bulunmuştur. Pastörizasyon ve ozon uygulaması yapılan örneklerde tespit edilen TFM içeriği istatistiksel olarak kontrol grubundan farklıdır ($p<0.05$).



Şekil 3.2: Pastörizasyon ve farklı süre ozon uygulamalarının elma sularındaki toplam fenolik madde içeriği üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$).

Gerçekleştirdiğimiz çalışmaya benzer bir şekilde, Alongi ve ark. (2019), 90 °C’de, 14.8 dakika pastörizasyon uygulaması yaptığı elma suyu (Golden delicious) örneklerinde, işlem sonucunda TFM içeriğinde %27 azalma meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada 90 °C’de, 60 saniye pastörizasyon işlemi sonucu elma sularının TFM içeriğinde %7 oranında azalma tespit edilmiştir (Nayak ve ark. 2020). Yapılan çalışmalardan anlaşıldığı üzere ısı işlem uygulaması, sıcaklık ve süreye bağlı olarak TFM içeriğinde belli bir düşüşe neden olmaktadır. Literatürden elde edilen bu sonuç tezimizin bulgularıyla uyumludur. Buna karşın yaptığımız çalışmadaki sonuçtan farklı olarak, Baltacıoğlu ve ark. (2021), elma suyunda gerçekleştirdikleri bir çalışmada, 80 °C’de 20 dakika pastörizasyon işlemi sonunda TFM miktarını 668.41 ± 12.70 mg GAE/kg yaş ağırlık olarak belirlemiştir. Yüksek sıcaklık uygulamaları sonucu toplam fenolik madde değişimi incelendiğinde ısı

işlem görmemiş taze elma suyu örneğine kıyaslanınca artış olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeninin sıcaklık ile birlikte elma suyunda yeterli enzim inaktivasyonunun sağlanmasından dolayı, fenolik bileşiklerin substrat olarak kullanılamaması olabileceği iddia edilmiştir.

Farklı sürelerde ozon uygulaması ile yaptığımız çalışmada, elma suyu örneklerindeki TFM içeriğindeki önemli azalmanın ilk 15 dakikada gerçekleştiği, 30 dakika ve sonraki uygulamalarda bu azalmanın daha yavaş olduğu gözlenmiştir. 90 dakika uygulama sonunda ise TFM içeriğindeki azalma %55.4'e ulaşmıştır.

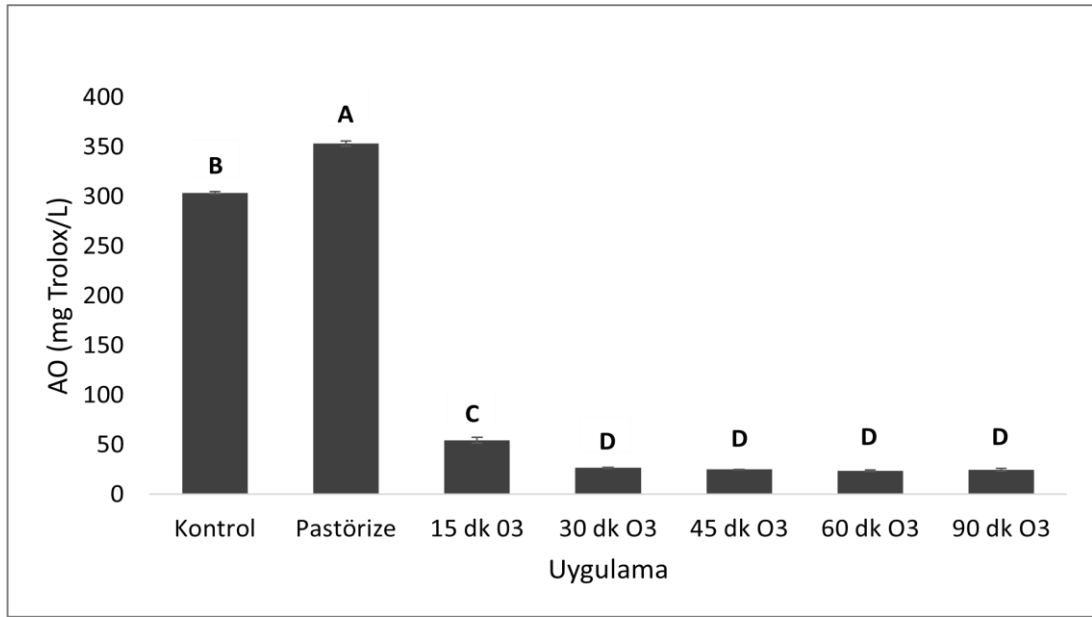
Bizim bulgularımıza paralel olarak, elma sularında farklı ozon akış hızı ve sürelerde yapılan çalışmalarda, ozon uygulaması ile TFM içeriğinde azalmalar meydana geldiği bildirilmiştir. Örneğin Torlak (2014) elma suyu örneklerinde 30 dakika, 0.4 L/dakika ozon akış hızı ile yaptığı uygulama sonunda TFM içeriğinde %18.7 oranında azalma olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, Diago ve ark. (2019) 3 L/dakika ozon akış hızı ile 30 dakika yaptığı uygulama sonunda elma sularının TFM içeriğinde %80 azalma olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da 2 L/dakika ozon akış hızı ile 30 dakikalık uygulama sonunda elma suyunun TFM içeriğinde %48 oranında bir azalma meydana gelmiştir. Ozon akış hızları arttıkça, TFM miktarında azalmanın daha fazla olduğu sonucu görülmektedir.

Ozonlama sırasında elma suyundaki fenolik bileşiklerin parçalanmasının, moleküler ozonun meyve suyundaki serbest radikallerle doğrudan reaksiyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir (Torlak, 2014; Tiwari ve ark, 2009). Serbest radikaller, aromatik bileşiklerle meydana gelen elektrofilik ve nükleofilik reaksiyonlara yol açabilir.

3.2 Pastörizasyon ve Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Sularının Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi

Pastörizasyon ve farklı sürelerde ozon uygulaması ile elma sularının AO değerinde meydana gelen değişimler Şekil 3.3'te görülmektedir.

Pastörizasyon ve ozon uygulaması yapılmayan kontrol örneklerinde AO miktarı 304 ± 1.04 mg troloks/L olarak belirlenmiştir. Pastörize edilmiş elma suyu örneklerinde AO madde miktarının 353 mg troloks/L, 90 dakika ozon uygulamasını sonunda ise 25 mg troloks/L olduğu belirlenmiştir. Pastörizasyon uygulaması ile kontrol örneğindeki AO değerinde %16 oranında artış gözlenirken, 15 ve 30 dakika ozon uygulamaları sonunda sırasıyla %82 ve 91.2 oranında azaldığı, daha uzun süre ozon uygulaması yapılan (45-90 dakika) örneklerde ise istatistiksel olarak fark yaratmadığı görülmüştür.



Şekil 3.3: Pastörizasyon ve farklı süre ozon uygulamalarının elma sularının antioksidan aktivitesi üzerine etkisi*

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).

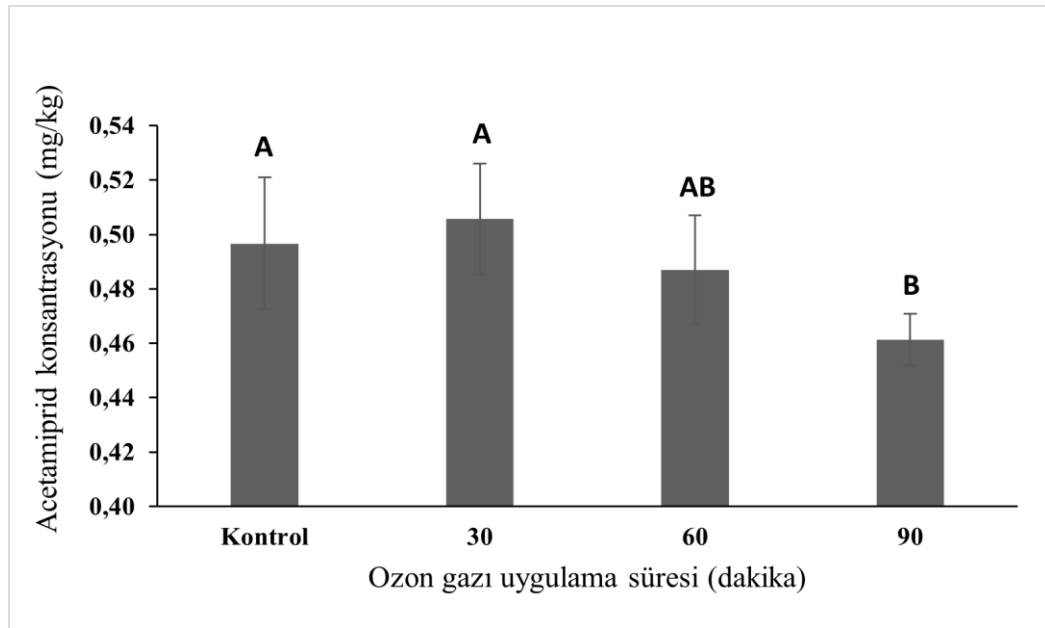
Pastörizasyon uygulaması sonucunda AO değerinde tarafımızdan tespit edilen %16 oranında artış, 90 °C’de, 4 dakikada elma sularını pastörize eden Jacoba (2011) tarafından tespit edilen %19’luk artışla paralellik göstermektedir.

Yaptığımız çalışmanın sonuçlarında, antioksidan miktarındaki ilk önemli azalışın 15 dakika ozonlama sonucunda gerçekleştiği, 30-90 dakika ozonlama aralığında AO aktivite değerinde fark olmadığı gözlenmiştir. Evrendilek ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada ozon uygulamasının meyve suyundaki AO aktivitesindeki bu düşüşü, oksidatif ajanların meyve suyundaki konjuge çift bağların parçalanmasına neden olarak, renk bileşiklerinin bozulmasına yol açtığı ve bunun da

biyoaktif özelliklere sahip kromoforların oksidatif bölünmesine neden olması şeklinde açıklamışlardır. Arı ve ark. (2020) elma sularında yaptıkları ozon uygulaması ile ozonlama süresine bağlı olarak AO içeriğinin düştüğünü bildirmişlerdir. AO içeriğindeki bu düşüşün elma sularında yoğun bulunan klorojenik asit maddesinin ozondan etkilenip düşmesinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

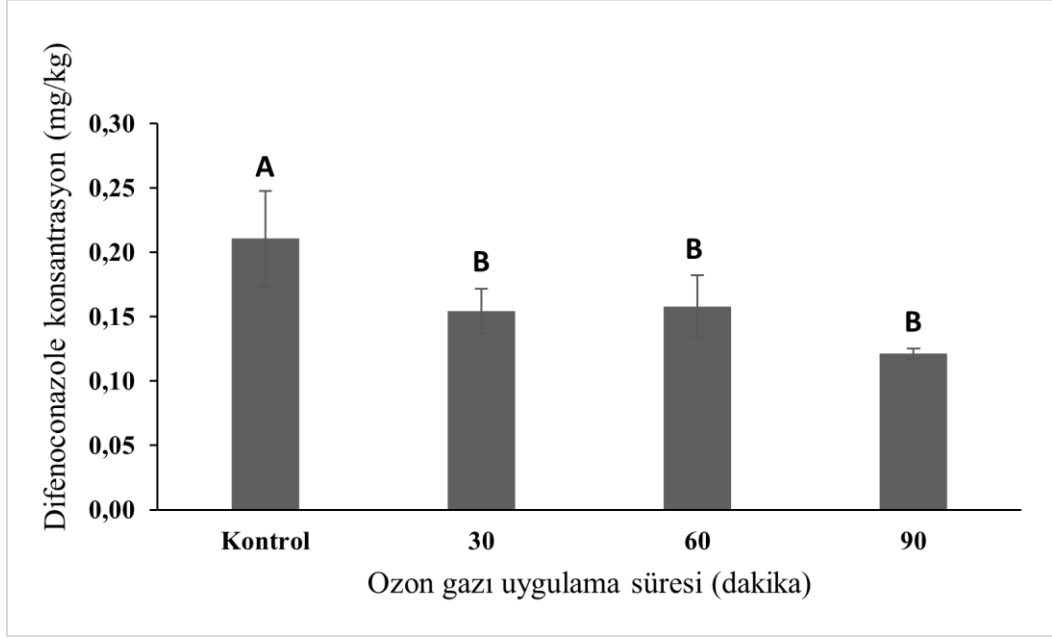
3.3 Farklı Sürelerde Ozon Uygulamalarının Elma Sularındaki Pestisitler Üzerine Etkisi

Meyvelere uygulanan pestisitler, gerçekleştirilen işlemlere rağmen bazı meyve sularına geçebilmektedir. Zaman zaman meyve sularında pestisit kalıntılarına rastlandığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (José ve ark. 2004; Bolles ve ark. 1999; Albero ve ark. 2003). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada farklı sürelerdeki ozon uygulamalarının elma sularındaki bazı pestisitler üzerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.4-3.12’de verilmiştir.



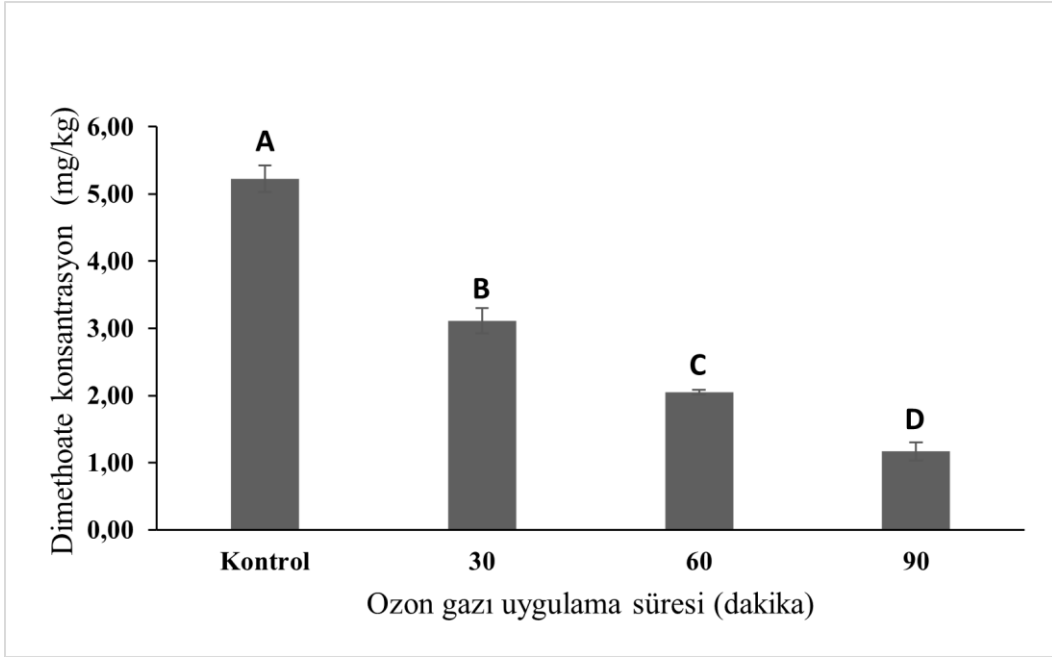
Şekil 3.4: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Acetamiprid pestisiti üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).



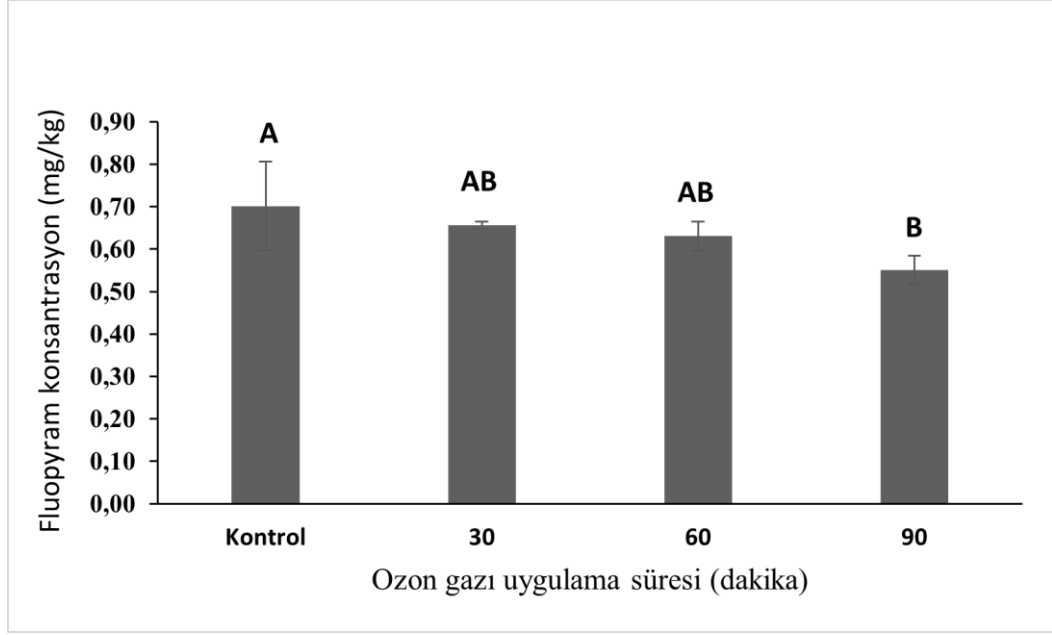
Şekil 3.5: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Difenoconazole pestisiti üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).



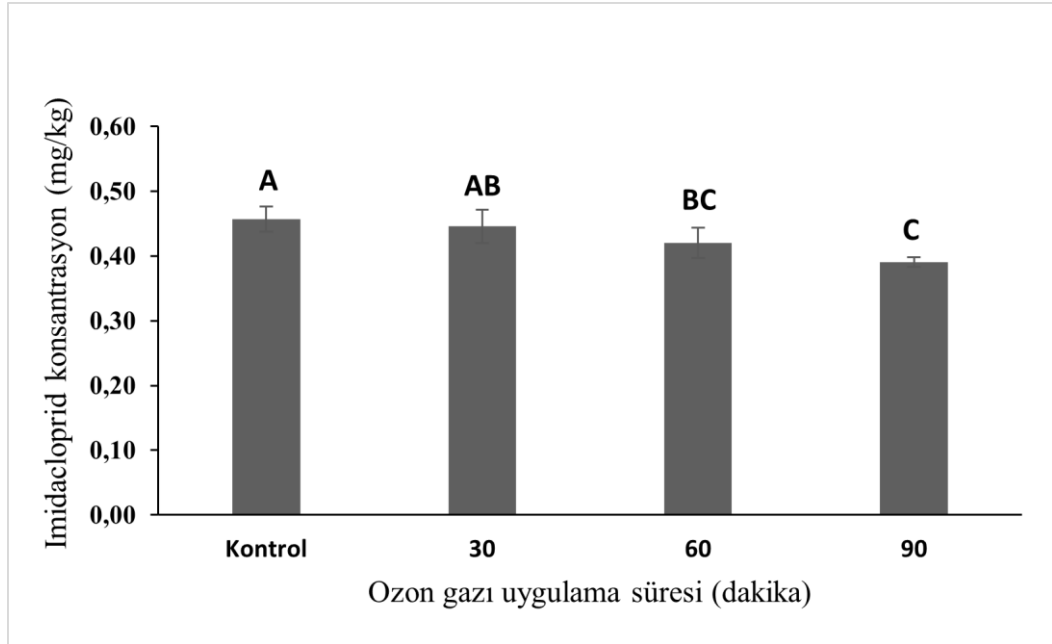
Şekil 3.6: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Dimethoate pestisiti üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).



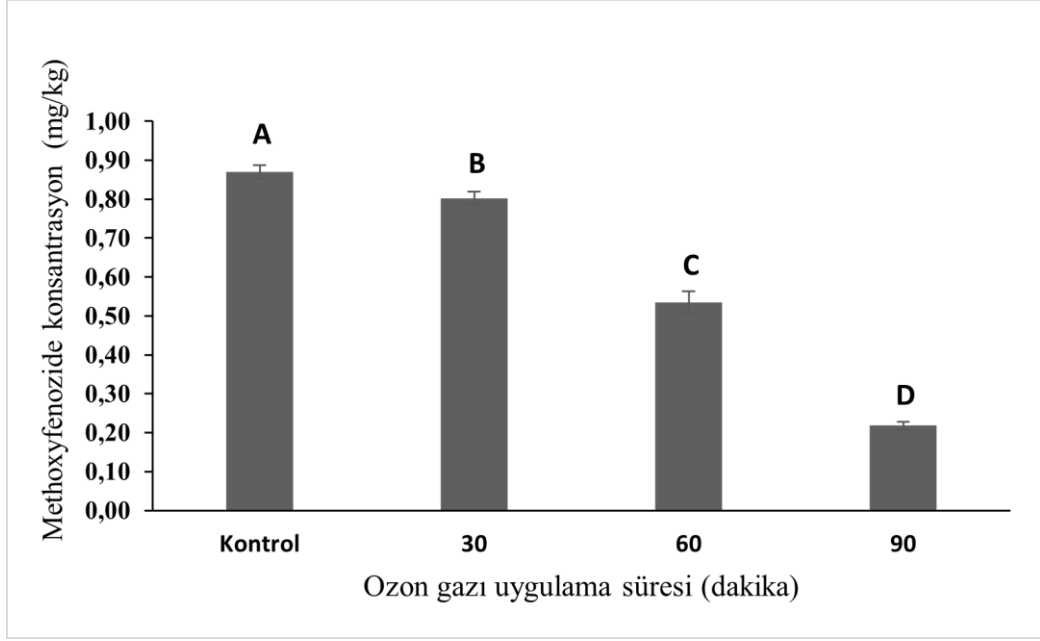
Şekil 3.7: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Fluopyram pestisiti üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).



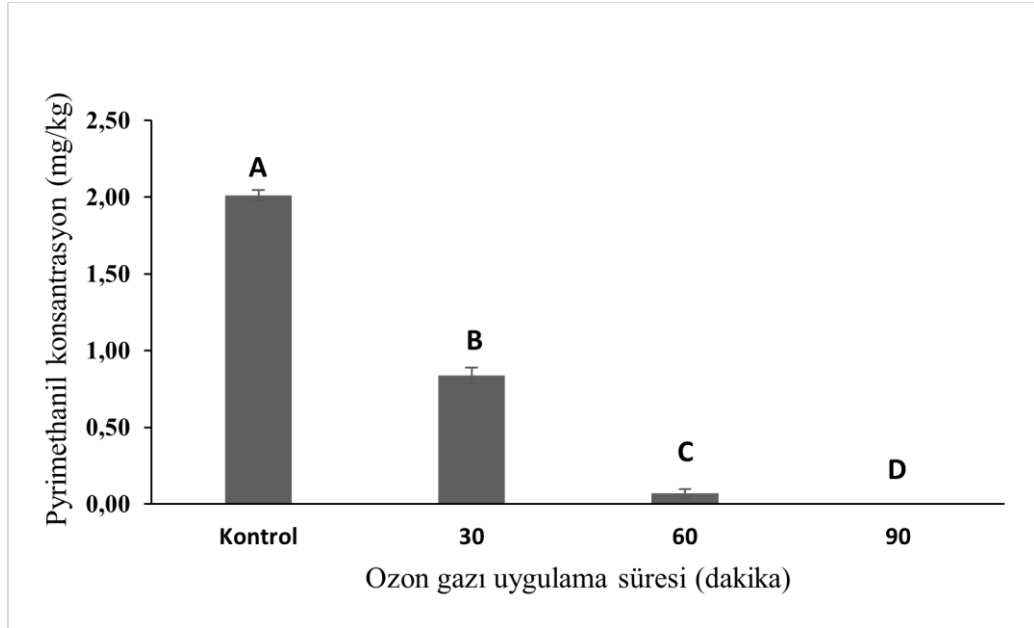
Şekil 3.8: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Imidacloprid pestisiti üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).



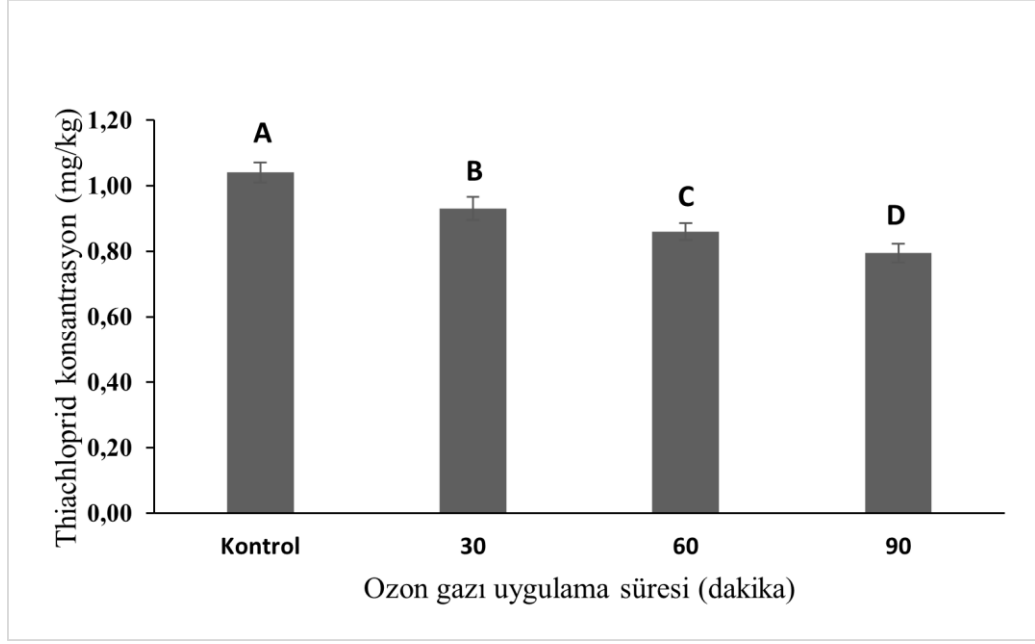
Şekil 3.9: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Methoxyfenozide pestisiti üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).



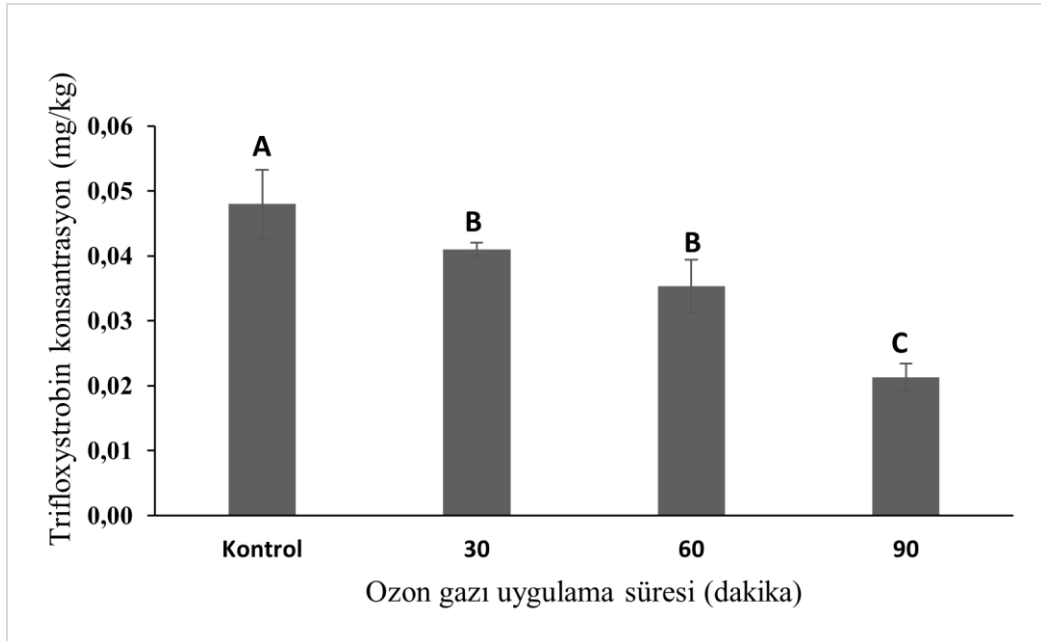
Şekil 3.10: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Pyrimethanil pestisiti üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).



Şekil 3.11: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Thiachloprid pestisiti üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).



Şekil 3.12: Farklı sürelerde ozon uygulamasının elma suyu örneklerindeki Trifloxystrobin pestisiti üzerine etkisi

*: Farklı harflerle gösterilen ortalamalar (n=3) istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).

Ozonlama işleminin incelenen pestisitlerin degradasyonunda genel olarak etkili olduğu görülmüştür.

Yaptığımız çalışmada ozonun pestisitlerde farklı oranlarda degradasyonlara yol açtığı görülmüştür. 90 dakika ozon uygulaması sonunda başlangıç miktarlarına göre pestisit konsantrasyonunda meydana gelen degradasyon oranları; Acetamiprid'te %7.1, Difeconazole'de %42.4, Dimethoate'ta %77.7, Fluopyram'da %21.5, Imidacloprid'te %14.5, Methoxyfenozide'te %74.9, Pyrimethanil'de %100, Thiachloprid'te %23.7, Trifloxystrobin'de %55.5 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada Acetamiprid, Fluopyram, Imidacloprid ve Thiachloprid pestisit etken maddelerinin ozon uygulaması sonrasında degradasyonlarının en az olduğu görülmüştür. Acetamiprid ve Fluopyram etken maddeleri için 30 ve 60 dakikalık ozon uygulamalarının istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı, bu pestisitlerin istatistiksel olarak anlamlı bir seviyede parçalanma için 90 dakikalık uygulamalar gerektiği tespit edilmiştir. Bu durum, bu pestisitlerin ozona karşı dirençli olduğunu göstermektedir.

Velioğlu ve ark. (2016), insektisit grubundan olan Acetamiprid'in de içinde bulunduğu 8 farklı pestisit üzerinde doğrudan gazlama (bubbling) yöntemiyle ozon uygulaması yapmışlardır. Diğer 7 pestisitte %80'den fazla bozunma olurken, Acetamiprid bozunmasının çok sınırlı bir şekilde olduğu ve bu pestisitinin en fazla %2.6 oranında parçalanabildiği belirtilmiştir. Pitam ve ark. (2013), Acetamiprid'in alkali koşullara kıyasla, asidik ve nötr koşullarda nispeten daha stabil olduğunu bildirmişlerdir. Elma suyunun asidik nitelikte bir gıda olması bu durumu destekler niteliktedir. Cruz-Alcalde ve ark. (2017), Acetamiprid'in de içinde olduğu bilinen neonikotinoid pestisit grubunun moleküllerinde, böceklere karşı yüksek seçici etkiyi sağlamak için, pozitif yüklü amino asit kalıntısına bağlanmak üzere elektronegatif bir bölge bulunmaktadır. Bu bölge nedeniyle, ozonun molekülle temasının sınırlı düzeyde kalmış olabileceği düşünülebilir.

Ergen ve ark. (2015), domateste yaptığı çalışmada Imidacloprid üzerine ozon uygulaması yapmış ve olumlu sonuçlar almıştır. 30 dakika uygulaması sonucunda %43 gibi bir degradasyon olduğu belirtilmiştir. Ozonun Imidacloprid degradasyonu

üzerine etkisinin, ozon uygulama süresi, konsantrasyonu ve başlangıç Imidacloprid konsantrasyona bağlı olarak artırılabilceği belirtilmiştir (Kırış, 2016; Veliolu ve ark, 2017). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada da ozonlama süresinin artmasıyla Imidacloprid pestisitinde kademeli bir degradasyon gerçekleştiği tespit edilmiştir. Imidacloprid'in ozona karşı dirençli olduğu ve esas olarak OH• radikali tarafından indirekt mekanizma yoluyla giderildiği öne sürülmüştür (Sönmez, 2019). Imidacloprid'in ozon uygulaması ile parçalanması sırasında kimyasal yapısında bulunan azot bileşiklerini (NO₂ ve HNO₂) kaybettiği gösterilmiştir (Sönmez, 2019).

Yaptığımız çalışmada, incelenen pestisitlerin hepsinde 90 dakikalık uygulamalarla istatistiksel olarak önemli pestisit parçalanma oranları elde edilmiştir. Hatta Pyrimethanil pestisitinin 90 dakikalık uygulama sonunda tespit edilebilir seviyenin altına indiği görülmüştür.

Karaca ve ark. (2012) ve Gabler ve ark. (2009), fungusit kalıntı çeşiti olan Pyrimethanil pestisitini üzümün üzerine püskürtmüş ve depolama sürecinde ozon uygulaması yapmışlardır. Ozon atmosferinde depolama sonunda Pyrimethanil düzeylerindeki azalma oranları sırasıyla %51.6 ve %83.7 olarak verilmiştir. Bu çalışmalarda da Pyrimethanil'in diğer bazı pestisitlerden daha fazla bozunduğu ve ozona karşı direncinin daha zayıf olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ozonlama işlemi doğrudan meyve suyuna uygulanarak, Pyrimethanil'in tespit edilebilir seviyenin altına düşmesi sağlanmıştır. Bu yüksek parçalanma oranının meyvenin meyve suyuna dönüştürülmesi ile bütünlüğünün bozulması ve ozonla pestisit molekülünün meyve suyu gibi homojen bir ortamda reaksiyona girmesi sonucu elde edildiği düşünülmektedir.

Ozonlama süresi arttıkça Dimethoate, Methoxyfenozide, Thiachloprid, Trifloxystrobin pestisitlerinin degradasyonu da kademeli olarak artmıştır. Örneğin Thiachloprid pestisitinin 30, 60 ve 90 dakikalık uygulamalar sonunda parçalanma oranları sırasıyla %10.6, 17.5 ve 23.7 olarak tespit edilmiştir. Literatürde de Krohn ve Hellpointner (2002) yaptıkları çalışmalarda, Thiachloprid'in suda pH 5.0-9.0 arasında nispeten uzun bir süre stabil olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da Veliolu ve ark. (2019)'un yaptığı çalışmaya benzer şekilde, kademeli bozunma olmasına rağmen, bu pestisitinin bozunması nispeten sınırlı kalmıştır.

Çalışmamızda Trifloxystrobin degradasyonuna bakıldığında, 30 ve 60 dakika ozonlama arasında istatistiksel olarak fark olmamasına rağmen, 90 dakika ozonlama sonunda, meyve suyunda bulunan Trifloxystrobin konsantrasyonunda %60 azalma meydana gelmiştir. Ozonlama süresinin artırılmasıyla Trifloxystrobin degradasyonunun arttığı literatürde daha önce de bildirilmiştir. Örneğin, Karaca (2018) üzümleri depolayarak yaptığı çalışmada, ozon gazı ile Trifloxystrobin degradasyonunun depolamanın ilerleyen zamanlarında (ozon uygulama süresinin artmasıyla) %50'ye kadar vardığını belirtmiştir. Yine diğer bir çalışmada da (Sadlo, 2016) soğuk hava deposunda ozon uygulaması yapılan elmalarda, %45 Trifloxystrobin degradasyonu tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda da ozonlama süresinin artırılarak, Trifloxystrobin degradasyonunun kademeli olarak arttığı gözlenmiştir. Yaptığımız çalışmada Difeconazole pestisitinin ilk 30 dakika ozon uygulaması ile %29 oranında azaldığı gözlenirken, 30, 60 ve 90 dakikalık uygulamalar arasında istatistiksel olarak fark görülmemiştir.

Kuşvuran ve ark. (2012), pestisit kalıntılarının giderilmesinde, pestisitlerin ve gıda matrislerinin yapısal özelliklerinin çok etkili olduğunu bildirmiştir. Pestisitlerin reaktivitelerinin, kimyasalların işgal ettiği en yüksek moleküler orbitalin enerjisi kullanılarak tahmin edilebileceği belirtilmiştir (Wu ve ark. 2009). Tarafımızdan gerçekleştirilen ozon uygulamalarının farklı pestisitler üzerine etkilerinin farklı olmasını açıklayan bu durum yaptığımız çalışmalarda da gözlenmiştir.

Literatürde incelenen çalışmalarda, çeşitli gıda ürünlerinden pestisitlerin giderilmesinde ozon uygulaması farklı yöntemlerle denenmiştir. Bu yöntemlere örnek olarak; meyvelerin yıkanması sürecinde içinde ozon gazı çözdürülmüş olan su ile yıkanması veya depolanan meyvelerin depo atmosferine ozon gazının dahil edilmesi verilebilir. Akla gelebilecek bir diğer uygulama da meyve sularının doğrudan ozonlanmasıdır. Çalışmamızla benzer yöntem olarak ürünün direkt ozonlanması uygulaması domates suyu (Al-Antary ve ark. 2015; Al-Antary ve ark. 2016; Al-Antary ve ark. 2018) ve vişne suyu (Evrendilek ve ark. 2019) örneklerinde denenmiştir. Bu çalışmalarda Karbosülfan, Chlorfenapyr, Methomyl, Chlorpyrifos ethyl, τ -fluvalinate, Cyprodinil, Pyraclostrobin ve Malathion gibi pestisit etken maddeleri üzerine farklı ozon uygulamalarının etkileri incelenmiştir. Ozon uygulaması sonucunda bahsi geçen tüm pestisitlerde farklı oranlarda degradasyon

gerçekleştirdiği ve ozonun pestisitlerin uzaklaştırılmasında etkili bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

Organik bileşiklerin ozon tarafından oksidasyonu, iki spesifik reaksiyonla gerçekleşebilir. Bunlar: ozon molekülünün organik bileşiklerin molekülleri ile reaksiyonu ve ozon ayrışması ile oluşan serbest radikallerin (O) organik bileşiklerle reaksiyonu şeklindedir. Sulu çözeltilerde organik bileşikler, çözeltilerdeki serbest hidrojen atomları ile ozon bozunmasından kaynaklanan oksijen atomlarından oluşan hidroksil radikali etkisiyle oksitlenir (Chiron ve ark. 2000 ve de Souza, 2017) ve pestisitlerin degradasyonu bununla açıklanabilmektedir.

Meyve ve sebzelerin verimini artırmak ve onları zararlılardan korumak için pestisitler yaygın şekilde kullanılmaktadır. Kullanılan bu pestisitler yerine ozon uygulamasının yapılabileceği ve ozonun fungusit vb. etki gösterdiğini bildiren literatür çalışmaları mevcuttur (Bus ve ark. 1991). Oksidasyon potansiyeli yüksek olan ozon, birçok toksik pestisitlerin yerine geçebilecek iyi bir alternatif olarak görülmektedir. Bu sayede, pestisitlerin yaygın kullanımı nedeniyle dirençli mantar patojenlerinin çoğalması ile ilgili mevcut endişeler azaltılacaktır. Ayrıca ozonlama, pestisit kalıntısı sorununu çözmek için kilit bir teknoloji gibi görünmektedir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Meyve sularında rastlanabilecek önemli sağlık risklerinin kaynaklarından biri mikroorganizmalar, bir diğeri ise pestisitlerdir. Son yıllarda özellikle gelişmiş ülkelerde pastörize edilmemiş meyve sularına talep artması ile ısıtma işlemine maruz kalmamış ürünler piyasaya sürülmektedir. Bu ürünlerde *E. coli* ve *Salmonella* gibi patojen mikroorganizmalar canlı kalabilmektedir. Ayrıca taze meyve ve sebzelerde zaman zaman yüksek seviyelerde tespit edilebilen pestisit kalıntıları toplumda sağlık endişelerine neden olmaktadır. İşte bu problemlerin çözümünde ozon uygulaması ile ürünün ısıtma işlemi görmeden güvenli hale getirilebileceği öngörülmektedir. Ozon uygulamasının üründe kalıntı bırakmaması ve gıda güvenliği açısından uygun olması gibi nedenlerle meyve suyundaki birçok problemin çözülmesinde de alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında, meyve sularında bozulmalara neden olup, ürünün genel mikrobiyolojik kalitesine etki eden, insan sağlığına tehdit oluşturabileceği konusunda fikir verebilecek bazı mikroorganizmaların ve ürünün pazarlanmasında problemlere yol açabilen, toplumda sağlık endişelerine neden olan pestisit kalıntılarının meyve suyundan uzaklaştırılmasında, farklı süre ozon uygulamalarının etkinliğinin incelenmesi amaçlanmıştır. Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

1. Ozon gazı uygulamasının, elma sularında bulunabilecek *E. coli*, Koliform, TAMB ve maya-küf gibi mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında genel olarak etkili olduğu gözlemlenmiştir. *E. coli*'nin ozona karşı daha dirençsiz olduğu, TAMB ve maya-küf grubu mikroorganizmaların ise elma sularından inhibe edilmesi için daha uzun sürede ozon uygulaması yapılması gerektiği sonucu çıkarılmıştır.
2. Ozon uygulamasının elma sularındaki bazı kalite parametreleri üzerine etkisi incelenmiştir. Ozon uygulamasının, elma suyunun Briks değerini değiştirmezken, renk ve bulanıklık değerlerinde önemli değişiklikler

meydana getirdiği görülmüştür. Renk değerinde önemli bir açılma gözlenmiştir. Üründeki bu renk açılması elma sularında istenilen bir özellik olmasına rağmen, kırmızı renkli ürünlerde tercih edilmemektedir. Ticari üretilen elma sularında renk açma işlemi için klasik yöntem olan durultma ajanları (aktif kömür, kizelsol, jelatin, bentonit vb.) kullanılmaktadır. Bu ajanlar son üründe kalıntı bırakıp ağır metal gibi problemlere yol açmaktadır. Limit üzerinde çıkan ağır metalli ürünler ihracatta problem teşkil etmektedir. Bu klasik yöntemler dışında, renk açmak için reçine sistemleri kullanılmaktadır. Reçinelerin belli bir tonajda kullanımından sonra yüksek miktarda kimyasallar ile rejenerasyonu yapılmaktadır. Bu işlem sırasında fazla miktarda kimyasal kullanımı olmaktadır. Ozon, üründe herhangi bir kalıntı bırakmaması ve kimyasal kullanımını azaltması gibi olumlu özellikleri ile meyve suyu endüstrisi için umut vadetmektedir.

3. Meyve suyu endüstrisinde elma sularının berraklaştırılması için ultrafiltrasyon makineleri kullanılmaktadır. Makinada akışı sağlamak için, meyve sularında bulunan ve sonradan da bulanıklığa yol açan pektin, araban gibi bağların depektinizasyonu için enzim uygulamaları yapılmaktadır. Enzim uygulaması ile pektin molekülündeki bağların kırılması filtrasyon uygulamasını kolaylaştırmaktadır. Enzimasyon uygulaması sonrasında elma suları filtre edilmekte ve NTU değeri 1'in altında olan berrak ürünlerin eldesi sağlanmaktadır. Yapılan tez çalışmasında ozon uygulama süresi arttıkça elma sularının bulanıklık değerinin azaltıldığı tespit edilmiştir. NTU değerü ultrafiltrasyonda alınan sonuç kadar olmasa da, önemli düzeyde azaltılmış ve 7 değerinin altına kadar düşürülebilmektedir. Ozonun, enzim gibi durultma yardımcı malzemelerinin yerine kullanılabilceği ya da ön filtrasyon uygulaması olarak değerlendirilebileceği ve böylece ticari üretimlerde fayda sağlayacağı düşünülebilir. Ticari satılan berrak elma sularının üretiminde düşük NTU'lu spesifikasyondaki ürünlerin üretimi hedeflenmektedir. Sanayide kullanılan ultrafiltrasyon makineleri ve durultma ajanlarının

yerine ozon uygulamasının alternatif bir işlem olabileceği düşünülmektedir.

4. Ozon uygulaması meyve sularının besleyici özelliklerinde önemli değişiklikler meydana getirmiştir. Ürünün TFM ve AO içeriğinde azalmalar gözlenmiştir. Bu değişimler ozon uygulama süresine bağlı olarak farklı düzeylerde gerçekleşmiştir. Ozon uygulama süresinin doğru seçilmesi ile bu kayıpların düşük düzeylerde tutulması sağlanabilir.
5. Bu tez çalışmasında ülkemizin önemli bir ihracat ürünü olan elma suyu üretiminde söz sahibi bölgelerinden Denizli'nin Çivril ilçesi ve civarındaki elmalarda yaygın şekilde kullanılan pestisitler ile çalışılmıştır. Söz konusu pestisitlerin elma suyundaki kalıntı seviyelerinin azaltılmasında ozon uygulamasının etkili olduğu görülmüştür. Çalışılan pestisitlerin ozona karşı dirençlerinin farklı olduğu, ozon uygulama süresinin arttırılmasıyla pestisitlerdeki degradasyon oranının da arttığı görülmüştür.
6. İnsan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri sebebiyle patulin gibi mikotoksinlerin gıda maddelerindeki varlığına, ulusal ve uluslararası düzeydeki düzenlemelerle elma sularında 50 ppb olarak kısıtlama getirilmiştir. Elma sularında patulin problemine sıklıkla rastlanmaktadır. Ozon uygulamasının patulin degradasyonunda etkili olduğu ile ilgili literatür çalışmaları mevcuttur (Diao ve ark. 2018a, 2019 ve Cataldo, 2008). Bu tez kapsamında ozonun patulin üzerine etkisi çalışılmamış olup, bu konunun uygulanabilirliğinin endüstriyel ölçekte denemesi önerilmektedir.

Ülkemizde çoğunlukla ihracatta karşılaşılan problemler arasında olan ve vücuda alınması sonucunda farklı toksik etkiler gösterebilen pestisitlerin meyve

sularından uzaklaştırılmasında, ozon gazı ile etkilerinin incelendiği çalışmalar güncel bir konu olarak ne çıkmaktadır.

Ozon gazı uygulaması ile pestisitlerin degradasyonunda etkili sonuçlar elde edilmiş olup, söz konusu uygulamanın ürünün mikrobiyolojik kalitesini düzeltmek, rengini açmak, bulanıklığı azaltmak konusunda olumlu etkileri de gözlenmiştir. Ancak söz konusu uygulamanın ürünün besleyici özelliğinde (TFM ve AO içeriğini) kayıplara yol aması ve bu tez kapsamında incelenmeyen aroma bileşikleri üzerine muhtemel olumsuz etkilerinin azaltılmasına yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

Achen, M., Yousef A. E. (2001). Efficacy of Ozone Against *Escherichia coli* O157:H7 on Apples. *Journal of Food Science*, 66, 1380–1384.

Al-Antary, T. M., Al-Dabbas, M. M., Shaderma, A. M. (2016). Comparison Between Effects of Three Treatments for Different Periods of Time on Methomyl Pesticide in Tomato Juice. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25, 2693-2699.

Al-Antary, T. M., Shaderma, A. M. and Al-Dabbas, M. M. (2018). Ozonation Treatment Effect on Spiked Chlorfenapyr Pesticide on Tomato Fruits. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27, 7822-7826.

Albero, B., S'anchez-Brunete, C. and Tadeo, J. L. (2003). Determination of Organophosphorus Pesticides in Fruit Juices by Matrix Solid-Phase Dispersion and Gas Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 24, 6915–6921.

Alhamid, M. I., Bismo, S., Nainggolan, F. and Yatim, A. (2018) Analysis of The Effectiveness of Ozonation on Corrosion and Bacteria on Closed System Cooling Towers. *The 10th International Meeting of Advances in Thermofluids*.

Alongi, M., Verardo, G., Gorassini, A., Lemos, A. (2019). Phenolic Content And Potential Bioactivity of Apple Juice as Affected by Thermal and Ultrasound Pasteurization. *Food Function*, 10, 7366.

Alparslan Y, Baygar T, Yıldız D. (2012). Su Ürünleri İşleme Tesislerinde Ozon ve Önemi. *Electronic Journal of Food Technologies*, 7: 24-31.

AOAC. Research Institute. (2009). Certificate of Performance Tested Status (Certificate no. 100401)-Nissui Compact Dry Yeast and Mould, Washington.

AOAC. Approval no:110402 (2015a). Compact Dry-EC, Department of Agriculture and Water Resources.

AOAC. Approval no:010404 (2015b). Compact Dry-TC, Department of Agriculture and Water Resources.

Arı, B., Budak, N.H., Seydim, A.C. and Seydim Z.G, (2020). Effects of ozonation on Apple Juice Quality. *International Journal of Fruit Science*, 20, 1570-1578.

Atgüden, A. (2010). İçme Sularının Ozonla Dezenfeksiyonunu Mikrobiyal Analizi. Yüksek Lisans Tezi, *Harran Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü*, Şanlıurfa.

Awuch, C.G., Ondari, E.N., Ogbonna, C.U., Upadhyay, A.K., Baran, K., Okpala, C.O.R., Korzeniowska, m. and Guiné, R. P.F., (2021). Mycotoxins Affecting Animals, Foods, Humans and Plants: Types, Occurrence, Toxicities, Action Mechanisms, Prevention and Detoxification Strategies. *Foods*, 10, 1279.

Baltacıoğlu, H., Doğanay, G. (2021). Isıl İşlemin Elma Suyunda Enzim Aktivitesi ve Fenolik Bileşiklere Etkisi: Ftır ve Hplc Çalışması. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 9(1):14.

Berthold-Pluta, A., Garbowska, M., Stefanska., I. and Pluta, A. (2017). Microbiological Quality of Selected Ready-To-Eat Leaf Vegetables, Sprouts and Non-Pasteurized Fresh Fruit-Vegetable Juices Including the Presence of *Cronobacter* spp. *Food Microbiology*, 65, 221-230.

Beuchat, L., Nail, B., Adler, B. (1998). Efficacy of Spray Application of Chlorinated Water in Killing Pathogenic Bacteria on Raw Apples, Tomatoes, and Lettuce. *Journal of Food Protection*, 61:1305-1311.

Bolles, H. G., Dixon-White, H. E., Peterson, R. K., Tomerlin, J. R., Day, E. W. and Oliver, G. R. (1999). U.S. Market Basket Study To Determine Residues of the Insecticide Chlorpyrifos. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (5):1817-1822.

Bus, V. G., Bongers, A.J. and Risse, L.A. (1991). Occurrence of *Penicillium Digitatum* and *Penicillium Italicum* Resistant to Benomyl, Thiabendazole and Imazalil on Citrus Fruit from Different Geographic Origins. *Plant Disease*, 75:1098–1100.

Cataldo, F. (2008). Ozone Decomposition of Patulin-A Micotoxin and Food Contaminant. *Ozone: Science & Engineering*, 30(3), 197-201.

Charfi, S., Boujida, N., Bouyahya, A. (2023). Mathematical Modeling of *Escherichia coli* O157:H7 Growth in Carrot Juice Influenced by *Thymbra Capitata* Essential Oil, Heat Treatment and Storage Temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 386, 110044.

- Chiron, S., Fernandez-Alba, A.R., Rodriguez, A., Garcia-Calvo, E. (2000). Pesticide Chemical Oxidation: State-of-the-Art. *Water Research*, 34: 366-377.
- Choi, M.R., Liu Q., Lee, S.Y., Jin, J.H., Ryu, S. and Kang, D.H. (2012). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in Apple Juice with Gaseous Ozone. *Food Microbiology*, 32, 191-195.
- Cody, S., Glynn, M., Farrar, J., Cairns, J. (1999). An Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infection from Unpasteurized Commercial Apple Juice. *Annals of Internal Medicine*, 130(3), 210-220.
- Croak, S. and Corredig, M. (2006). The Role of Pectin in Orange Juice Stabilization: Effect of Pectin Methyltransferase and Pectinase Activity on the size of Cloud Particles. *Food Hydrocolloids*, 20, 961-965.
- Cullen, P.J., Valdramidis, V.P., Tiwari B.K., Patil, S., Bourke, P. and O'Donnell, C.P. (2010). Ozone Processing for Food Preservation: An Overview on Fruit Juice Treatments. *Ozone: Science & Engineering*, 32: 166–179.
- Cruz-Alcalde, A., Sans, C., Esplugas, S. (2017). Priority Pesticides Abatement by Advanced Water Technologies: The Case of Acetamiprid Removal by Ozonation. *Science of the Total Environment*, 599–600, 1454–1461.
- De Paula, A.T., Casarotti, S.N., Braga, H.F., Grandia, A.Z. and Rossi, D.A. (2010). Microbiological Evaluation of Fresh Orange Juice by Ready-to-use System Compact Dry. *Paulista Satate University Federal Institute of Education Science and Technology of Triangulo Mineiro*, Brazil.
- De Souza, LP., Faroni, LR., Fernandes, F., Pinto, F. (2017). Ozone Treatment for Pesticide Removal from Carrots: Optimization by Response Surface Methodology. *Food Chemistry*, 17:31610-2.
- Deliu, L., Giosanu, D. and Stanescu, C. (2013). The Microwaves Effects on Liquid Food. *Scientific Bulletin, Series F. Biotechnologies*, 17, 2285-1364.
- Diao, E., Ren, D., Liu, T., Zhang, J., Hu, W., Hou, H. (2018a). Ozone Detoxification of Patulin in Aqueous Solution and Cytotoxic Evaluation Using Human Hepatic Carcinoma Cells. *Toxicol*, 155, 21-26.

Diao, E., Wang, J., Li, X., Wang, X. and Gao, D. (2018b). Patulin Degradation in Apple Juice Using Ozone Detoxification Equipment and Its Effects on Quality. *Food Processing and Preservation*, 42, 13645.

Diao, E., Wang, J., Li, X., Wang, X., Song, H. and Gao, D. (2019). Effects of Ozone Processing on Patulin, Phenolic Compounds and Organic Acids in Apple Juice. *Journal of Food Science and Technology* ,56(2), 957-965.

Elez-Martínez, P., Escolà-Hernández, J., Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O. (2005). Inactivation of *Lactobacillus brevis* in Orange Juice by High-Intensity Pulsed Electric Fields. *Food Microbiology*, 22, 311-319.

Ergen, S., Velioglu, YS., Aksu, PS (2015). Study of Imidacloprid Degradation on Field-treated Tomatoes using Ozonation. *Journal of AgriSearch* 2(1): 33-39.

Erkoç, Ö. (2019). Çiğ Olarak Tüketilen Bazı Salata Malzemelerinin Mikrobiyolojik Yönden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.

Evrendilek, G., Keskin, E., Golge, Ö. (2019). Interaction and Multi-Objective Effects of Multiple Non-Thermal Treatments of Sour Cherry Juice: Pesticide Removal, Microbial Inactivation and Quality Preservation. *Wiley Online Library*.

Fundo, J. F., Miller, F. A., Tremarin, A., Garcia, E. and Brandão, T. R. S., Silva, C. L.M. (2018). Quality Assessment of Cantaloupe Melon Juice Under Ozone Processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47, 461-466.

Gabler, F.M., Smilanick, J.L., Mansour, M.F. and Karaca, H. (2009). Influence of Fumigation with High Concentrations of Ozone Gas on Postharvest Gray Mold, Quality and Fungicide Residues on Table Grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 55(2):85-90.

Garud, S. R., Priyanka, B. S., Rastogi, N. K., Prakash, M. and Negi, P. S. (2018). Efficacy of Ozone and Lactic Acid as Nonthermal Hurdles for Preservation of Sugarcane Juice. *Ozone: Science & Engineering*, 40(3), 198-208.

Gönül, Ş. ve Kışla, D. (2009). Gıda Mikrobiyolojisi- Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Ders Notları, İzmir: *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayınları*, 20-21.

Güzel-Seydim, Z.B., Wyffels, J. T., Greene, A. K. (2000). Removal of Dairy Soil from Heated Stainless Steel Surfaces: Use of Ozonated Water as a Prerinse. *Journal of Dairy Science*, 83(8), 1887–1891.

Hejri, L., Hajeb, P., Ehsani, R. (2020). Application of Ozone for Degradation of Mycotoxins in Food: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1777–1808.

http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=search.dspPage&n_proj_id=2868, 31.12.2019.

<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, 31.12.2019.

http://www.meyed.org.tr/files/bilgi_merkezi/sektorel_veriler/tceb_meyve_suyu_sektoru_raporu_2012.pdf, 20.12.2019.

https://webgate.ec.europa.eu/rasff.window/portal/?event=notificationDetail&NOTIF_REFERENCE=2018.2709, 31.12.2019.

<https://www.goodnature.com/blog/the-war-on-raw-juice/>, 20.12.2019.

Jaramillo-Sánchez, G. M., Loredó, A. B. G., Gómez P. L. and Alzamora, S. M. (2018). Ozone Processing of Peach Juice: Impact on Physicochemical Parameters, Color and Viscosity. *Ozone: Science & Engineering*, 40(4), 305-312.

José, L., Consuelo Sánchez-Brunete, Beatriz Albero, González, L. (2004) Analysis of Pesticide Residues in Juice and Beverages. *Analytical Chemistry*, 34:121–131.

Karaca, H. (2010). Use of Ozone in the Citrus Industry. *Ozone: Science & Engineering*, 32(2), 122-129.

Karaca, H. (2018). The Effect of Ozone-Enriched Storage Atmosphere on Pesticide Residues and Physicochemical Properties of Table Grapes. *Ozone: Science & Engineering*, 41(5).

Karaca, H. and Velioglu, S. (2014). Effects of Ozone Treatments on Microbial Quality and Some Chemical Properties of Lettuce, Spinach and Parsley. *Postharvest Biology and Technology*, 88, 46-53.

Karaca, H. and Velioglu, S. (2007). Ozone Applications in Fruit and Vegetable Processing. *Food Reviews International*, 23:91-106.

- Karaca, H. and Velioglu, S. Y. (2009). Effects of Some Metals and Chelating Agents on Patulin Degradation by Ozone. *Ozone: Science & Engineering*, 31(3), 224-231.
- Karaca, H., Walse, S., Smilanick J. (2012). Effect of Continuous 0.3 L/L Gaseous Ozone Exposure on Fungicide Residues on Table Grape Berries. *Postharvest Biology and Technology*, (64)154-159.
- Khadre, M. A. and Yousef, A. E. (2001) Decontamination of a Multilaminated Aseptic Food packaging Material and Stainless Steel by Ozone. *Journal of Food Safety*, 21, 1-13.
- Khanali, M., Kokei, D., Aghbashlo, M., Nasab, F. (2020). Energy Flow Modeling and Life Cycle Assessment of Apple Juice Production: Recommendations for Renewable Energies Implementation and Climate Change Mitigation. *Journal of Cleaner Production*, 246: 118997.
- Kırış, S. and Velioglu, Y. S. (2016). Reduction in Pesticide Residue Levels in Olives by Ozonated Tap Water Treatments and Their Transfer into Olive Oil. *Food Additives & Contaminants: Part A* 33: 128-136.
- Kodaka, H., Mizuochi, S., Teramura, H. and Nirazuka, T. (2005). Comparison of the Compact dry TC Method with the Standard Pour Plate Method (AOAC Official Method 966.23) for Determining Aerobic Colony Counts in Food Samples. *Journal of AOAC international*, 88(6), 1702–1713.
- Kuşvuran, E., Yildirim, D., Mavruk, F. and Ceyhan, M. (2012). Removal of Chloropyrifos Ethyl, Tetradifon and Chlorothalonil Pesticide Residues from Citrus by Using Ozone. *Journal of Hazardous Materials*, 241-242: 287-300.
- Krohn, J. and Hellpointner, E. (2002). Environmental Fate of Imidacloprid. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 55:3-25.
- Lagerwall, E. (2020). Evaluation of Detection Methods for *Alicyclobacillus spp*, Aerobic Mesophilic Microorganisms and Yeasts and Moulds. Master Thesis, *Division of Applied Microbiology Lund University*, Sweden.
- Lagrange, F., Reiprich, W., Hoffman, M. (2004). CIP-Cleaning and Disinfection with Ozoned Water. *Fleischwirtschaft*, 84(2), 112-114.
- Lauana, P., Faroni, L., Fernandes, F., Heleno. (2017). Ozone Treatment for Pesticide Removal from Carrots: Optimization by Response Surface Methodology. *Food Chemistry*, 243, 435–441.

Lee, B., Ting, A., Thoo, Y. (2022). Impact of Ozone Treatment on the Physico-Chemical Properties, Bioactive Compounds, Pectin Methyltransferase Activity and Microbiological Properties of Watermelon Juice. *Journal Food Science Technology*, 59:979–989.

Liao, X., Li, J., Muhammad, A.I., Suo, Y., Chen, S., Ye, X., Liu, D. and Ding T. (2018). Application of a Dielectric Barrier Discharge Atmospheric Cold Plasma (Dbd-Acp) for *Escherichia coli* Inactivation in Apple Juice. *Journal of Food Science*, 83(2), 401-408.

Loredo, A. B. G., Guerrero, S. N. and Alzamora, S. M. (2015). Inactivation Kinetics and Growth Dynamics During Cold Storage of *Escherichia coli* ATCC 11229, *Listeria innocua* ATCC 33090 and *Saccharomyces cerevisiae* KE162 in Peach Juice Using Aqueous Ozone. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 271-279.

Mustapha, A. T., Zhou, C., Wahia, H., Amanor-Atiemoh, R., Otu, P., Qudus, A., Abiola, O. (2020). Sonozonation: Enhancing the Antimicrobial Efficiency of Aqueous Ozone Washing Techniques on Cherry Tomato. *Ultrasonics-Sonochemistry*, 64, 105059.

Nayak, P.K., Basumatary, B., Chandrasekar, C.M., Seth, D., Kesavan, R.K. (2020). Impact of Thermosonication and Pasteurization on Total Phenolic Contents, Total Flavonoid Contents, Antioxidant Activity and Vitamin C Levels of Elephant Apple (*Dillenia Indica*) Juice. *Food Process Engineering*. 43, 13447.

Oğuz, E. ve Çelik, Z. (2001) Suların Ozonlanmasındaki Gelişmeler. *Mühendislik Bilimleri Dergisi* ,7 (3): 367-372.

Oliveira, A. F. A., Mar, J. M., Santos, S. F., Júnior, J. L. S., Kluczkovski, A. M., Bakry, A. M., Campelo, P. H. (2018). Non-Thermal Combined Treatments in the Processing of Açai (*Euterpe oleracea*) Juice. *Food Chemistry*, 265, 57-63.

Öz, P. (2015). ATP Yoluyla Biyoluminesans Hijyen Monitör Sisteminin Performansının Klasik Mikrobiyolojik Metot (Swap) ile Karşılaştırmak Suretiyle Ölçülmesi. Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.

Özen, E., Kumar, G., Mishra, A. (2022). Inactivation of *Escherichia coli* in Apple Cider Using Atmospheric Cold Plasma. *International Journal of Food Microbiology*, 382, 109913.

Özkan, M., Yemenicioğlu, A., Asefi, N., Cemeroğlu, B. (2002). Degradation Kinetics of Anthocyanins from Sour Cherry, Pomegranate and Strawberry Juices by Hydrogen Peroxide. *Journal of Food Science*, 67:2, 525-529.

Özkan, M., Yemenicioğlu, A., Çıtak, B., Cemeroğlu, B. (2000). Effect of Hydrogen Peroxide on Sour Cherry Anthocyanins. *Journal of Food Quality*, 23, 421-428.

Park, M., Anumol, T., Simon, J., Zraick, F., Snyder, S. A. (2016). Pre-Ozonation for high Recovery of Nanofiltration (NF) Membrane System: Membrane Fouling Reduction and Trace Organic Compound Attenuation. *Journal of Membrane Science*, 7388(16), 30857.

Pascual, A., Llorca, I. and Canut, A. (2007). Use of Ozone in Food Industries for Reducing the Environmental Impact of Cleaning and Disinfection Activities. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 29-35.

Paterson, C. and Britten, N. (2003). Acupuncture for People with Chronic Illness: Combining Qualitative and Quantitative Outcome Assessment. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 9, 671-681.

Patil, S., Torres, B., Tiwari, B.K., Wijngaard, H.H., Bourke, P., Cullen, P.J., Donnel, C.P. and Valdramidis V.P. (2010). Safety and Quality Assessment During the Ozonation of Cloudy Apple Juice. *Journal of Food Science*, 75(7), 437-443.

Patil, S., Valdramidis V.P., Cullen, P.J., Frias, J. and Bourke, P. (2010). Inactivation of *Escherichia coli* by Ozone Treatment of Apple Juice at Different pH Levels. *Food Microbiology*, 27, 835-840.

Patil, S., Valdramidis, V.P., Tiwari, B.K., Cullen, P.J. and Bourke, P. (2011). Quantitative Assessment of the Shelf-life of Ozonated Apple Juice. *School of Food Science and Environmental Health, Dublin Institute of Technology*, Dublin.

Pena-Gomez, N., Rico, M.R., Segovia, I.F. and Barat, J.M. (2019). Study of Apple Juice Preservation by Filtration Through Silica Microparticles Functionalised with Essential oil Components. *Food Control*, 106, 106749.

Pluta, A.B., Garbowska, M., Stefanska, I. and Pluta, A. (2017). Microbiological Quality of Selected Ready-to-Eat Leaf Vegetables, Sprouts and Non-Pasteurized Fresh Fruit-Vegetable Juices Including the Presence of *Cronobacter spp.* *Food Microbiology*, 65, 221-230.

- Rodoni, L., Casadei, N., Concello, A., Allicia, R.C. and Vicente, A.R. (2010). Effect of Short-term Ozone Treatments on Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Fruit Quality and Cell Wall Degradation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58, 594–599.
- Rodrigues, R., Sperandio, L. C. C., Andrade, C. M. G. (2017). Investigation of Color and Turbidity in the Clarification of Sugarcane Juice by Ozone. *Food Process Engineering*, 41, 12661.
- Sadlo, S., S. Walorczyk, P. Grodzicki, and B. Piechowicz. (2016). Disappearance of Captan, Boscalid, Pyraclostrobin and Trifloxystrobin Residues in Ripe Apples during Cold Storage under Controlled Atmosphere. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25:1959–65.
- Sartori, J. A. S., Angolini, C. F. F., Eberlin, M. N. and Aguiar, C. L. (2019). Reactions Involved in Phenolics Degradation from Sugarcane Juice Treated by Ozone. *Ozone: Science & Engineering*, 41(4), 369-375.
- Savaş, E., Tavşanlı, H. and Gökgözoğlu, İ. (2014). Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(3), 122-127.
- Scott, D. and Lesher, E. C. (1963). Effect of Ozone on Survival and Permeability of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 85(3): 567–576.
- Shah, N. N. A. K., Supian, N. A. M. and Hussein, N. A. (2019). Disinfectant of Pummelo (*Citrus Grandis* L. Osbeck) Fruit Juice Using Gaseous Ozone. *Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 262-272.
- Shah, N.N.A.K., Sulaiman, A., Sidek, N.S.M. and Supian, N.A.M. (2019). Quality Assessment of Ozone-treated Citrus Fruit Juices. *International Food Research Journal*, 26(5), 1405-1415.
- Song, W. J., Shin, J. Y., Ryu, S. and Kang, D. H. (2014). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in Apple Juice at Different pH Levels by Gaseous Ozone Treatment. *Journal of Applied Microbiology*, 1364-5072.
- Song, W.J., Sung, H.J. and Kang, D.H. (2010). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in Apple Juices with Different Soluble Solids Content by Combining Ozone Treatment with Mild Heat. *Journal of Applied Microbiology*, 118(1):112-122.

Sönmez, B. (2019). Imidakloprid'in Atıksudan Ozonlama ve Foto-Ozonlama ile Uzaklaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, *Orta Doğu Teknik Üniversitesi*, Ankara.

Suárez-Jacobo, Á., Gervilla, R., Guamis, B., Roig-Sagués, A.X. and Saldo, J. (2010) Effect of UHPH on indigenous microbiota of apple juice A preliminary study of microbial shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*, 136, 261-267.

Suárez-Jacobo, Á., Rüfer, c., Gervilla, R. (2011). Influence of ultra-high pressure homogenisation on antioxidant capacity, polyphenol and vitamin content of clear apple juice. *Food Chemistry*, 447–454.

Supian, N. A. M., Shah, N. N. A. K., Shamsudin, R., Sulaiman, A. (2022). Effects of Aqueous Ozone Treatment on the Nutritional Attributes of Mango (*Mangifera indica L.*) Fruit Juice. *International Food Research Journal* 29(5): 1005-1019.

Tabakoğlu, N. (2016) Ozon Gazı Uygulamasının Karadutun (*Morus nigra L.*) Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi, Gıda Mühendisliği*, Denizli.

Tabakoğlu, N. and Karaca, H. (2018) Effects of Ozone-Enriched Storage Atmosphere on Postharvest Quality of Black Mulberry Fruits (*Morus nigra L.*). *LWT-Food Science and Technology*, 276-281.

Torlak, E. (2014). Efficacy of Ozone Against *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores in Apple Juice. *International Journal of Food Microbiology*, 172, 1-4.

Torres, B., Tiwari, B.K., Patras, A., Wijngaard, H. H., Brunton, N., Cullen, P.J., O'Donnell, C.P. (2011). Effect of Ozone Processing on the Colour, Rheological Properties and Phenolic Content of Apple Juice. *Food Chemistry*, 124, 721-726.

Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Brunton, N. P., Cullen, P. J. (2009). Degradation Kinetics of Tomato Juice Quality Parameters by Ozonation. *International Journal of Food Science and Technology*, 44:1199-1205.

Velioğlu, S., Cönger, E., Aksu, P., Ergen, Ş., Yiğit-Baltacı, M. (2016). Ozonlu Suyu Yıkamanın Domateslerde Pestisit Giderimi, Askorbik Asit ve Renk Üzerine Etkileri. *Gıda*, 41(5): 337-344.

Wang, Y., Wang, T., Yuan, Y., Fan, Y., Guo, K. And Yue, T. (2018). Inactivation of Yeast in Apple Juice Using Gas-Phase Surface Discharge

Plasma Treatment with a Spray Reactor. *LWT-Food Science and Technology*, 97, 530-536.

Wu, J., Lan, C., Chan, G. Y. S. (2009). Organophosphorus Pesticide Ozonation and Formation of Oxon Intermediates. *Chemosphere*, 76:1308-1314.

Yıldız, P. O. ve Yangılar, F. (2014). Ozon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1), 94-101.