



Ses dalgaları ile mikroorganizmaların kontrolü

Control of microorganisms with sound waves

Murat DİKİLİTAŞ^{1*} , Vehbi BALAK² , Eray ŞİMŞEK¹ , Sema KARAKAŞ³ 

¹Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Şanlıurfa

²Harran Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Makine Mühendisliği Bölümü, Şanlıurfa

³Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak ve Bitki Besleme Bölümü, Şanlıurfa

To cite this article:

Dikilitaş, M., Balak, V., Şimşek, E. & Karakaş, S. (2018). Ses dalgaları ile mikroorganizmaların kontrolü. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(3): 431-444. DOI: 10.29050/harranziraat.345131

Address for Correspondence:

Murat DİKİLİTAŞ

e-mail:

m.dikilitas@gmail.com

Received Date:

19.10.2017

Accepted Date:

15.12.2017

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

ÖZ

Ses dalgası, enerji yüklü bir madde olup, uygulama koşullarına göre organizmanın büyüme ve gelişimini arttırdığı gibi azaltma potansiyeline de sahiptir. Ses dalgası organizmalarda fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yapıda değişikliklere neden olur. Yüksek güç ve frekanslarda uygulandığında, hücre membranlarında incelmeye, savunma enzimlerinin seviyelerinde artışa, solunum ve stres metabolitlerinin seviyesinde yükselişe ve genomik yapıda değişikliğe yol açabilecek potansiyele sahiptir. Bu derlemede yukarıda bahsedilen özellikler incelenerek patojen mikroorganizmalar üzerinde ses dalgasının etkisi ve mekanizması, ürünlerin mukavemetinin artırılması yanında diğer metotlar ile birlikte kullanımı konuları değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ses dalgası, Desibel, Frekans, Patojen, DNA hasarı

ABSTRACT

Sound wave, loaded with energy, has a potential to increase the growth and development of the organisms as well as it has reducing potential. Sound wave causes physiological, biochemical and molecular changes in the structure of organisms. When applied at high power and frequency, it has potential to result in thinning in cell membrane, increase in levels of defence enzymes, increases in respiration and stres metabolites as well as it has potential to cause in changes in genomic structure. In this review, effect of sound wave and its mode of action on pathogen microorganisms, increases in mantaning postharvest products along with the use of other methods were evaluated on the basis of above parameters.

Key Words: Sound waves, Desibel, Frequency, Pathogen, DNA damage

Giriş

Ses dalgası, enerjisinin bir bölümünü gaz, sıvı veya katı ortamlardan geçtiğinde kaybeder. Kaybedilen bu enerji termodinamik yasalarına göre ortamda bulunan maddeler tarafından absorbe edilir. Absorbe edilen enerjiyi kullanamayan organizmalar ise yıkıma uğrarlar. Ses dalgasının organizmalar üzerinde oluşturduğu etkiler, tarımsal ürünlerin muhafazası ve bitki gelişimi açısından detaylı olarak ele alınmış, ses dalgasının uygulandığı frekans ve şiddetin ürünler üzerindeki olumlu etkileri çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiştir (Awad ve ark., 2012; Bilek ve Turantaş, 2013; Dikilitaş ve ark., 2016). Ses dalgasının frekansı, uygulama sıklığı, organizmaya olan uzaklığı ve yoğunluğu ayarlanarak, tarımsal ürünlerin muhafazasında olumlu gelişmeler kaydedildiği gibi, yine uygun dozlar ile tohum ve fide gelişimi de teşvik edilmiştir (Wang ve ark., 2012; Miano ve ark., 2015; Shekari ve ark., 2015; Liu ve ark., 2016; López-Ribera ve Vicient, 2017). Bazı çalışmalarda ise ses dalgasının tek başına yeterli olmadığı görülmüş, biyolojik veya kimyasal maddeler ile kombine edilerek uygulanması ile kimyasal kullanımının azaltılması hedeflenmiştir (Scouten and Beuchat, 2002; Lee ve ark., 2014; Al-hashimi ve ark., 2015). Örneğin, Khayankarn ve ark. (2013) ultrasonik dalgaların daha üst versiyonu olan megasonik ses dalgaları ve elektrolize edilmiş oksidize (EO) su uygulamasının funguslarda spor çimlenmesini ve miselyal gelişimi tamamen engellediğini ve ananas meyvelerinin 3 gün içinde çürümesini geciktirdiğini rapor etmişlerdir. Megasonik ses dalgası ve EO su ile meyvelerde phenylalanine ammonia-lyase (PAL) ve peroksidaz (POD) enzim seviyelerinde artış teşvik edilerek

dayanıklılığın arttırıldığı rapor edilmiştir (Khayankarn ve ark., 2013).

Ultrases dalgası insanlar tarafından duyulamayan yüksek frekanstaki ses dalgaları olup (16 kHz ve üzeri) yüksek enerji kullanarak oluşturulan dalgalardır (Jayasooriya ve ark., 2004; Dolatowski ve ark., 2007). Biyolojik yapılarda fiziksel ve kimyasal değişikliğe yol açarak organizmanın fonksiyonunu bozarlar. Bu dalgalar ile organizmalar üzerinde süre, doz, frekans ve hedef organizmaya olan mesafe ayarlanarak, istenmeyen patojen organizmaların metabolizmalarını bozmak hatta genomik yapısını değiştirmek mümkündür. Örneğin, ses dalgalarının gücünün doğrusal artışı fungal gelişim ve spor çimlenmesini olumsuz yönde etkilemiş, özellikle kontrolü zor olan nekrotrof yani fakültatif patojenlere karşı yeni bir umut olmuştur (Jeong ve ark., 2013).

Fungusit kullanımının çevre ve insan sağlığına olan olumsuz etkileri bilindiğinden, günümüzde kullanımı hem azaltılmakta hem de uygulama sıklığı daha aşağılara çekilerek çevreye olan etkileri minimum düzeyde tutulmaya çalışılmaktadır. Fungal ve bakteriyel organizmaların kimyasal bileşenlere karşı gösterdiği tolerans da göz önüne alınırsa bu alanda alternatif yollara başvurma zorunluluğu kendiliğinden oluşmuştur. Dolayısı ile çevre dostu olarak kabul edilen her türlü alternatif bitki koruma yöntemleri geliştirilmeye ve incelenmeye değer bulunmalıdır.

Son yıllarda, gıda ve sağlık endüstrileri ultrasonik dalgaları çok çeşitli alanlarda uygulamaya koymuşlardır. Ultrases dalgası teknolojisi, bakterisit, fungusit ve insektisit etkilerine sahip bir mekanizma içermektedir. Temel olarak, ses dalgası ile solüsyon içinde hava kabarcıkları meydana getirilmekte, bu kabarcıkların genişmesi ve çökmesi sonucu

açığa çıkan enerji solusyonda bulunan mikroorganizmaları inaktif hale getirecek seviyeye ulaşmaktadır (Piyasena ve ark., 2003; Valero ve ark., 2007; Dikilitaş ve ark., 2016). Ultrases dalgası, biyolojik yapıların içine nüfuz edebildiği için yüksek miktarda enerji, hücre içinde sıkışma ve depresyona neden olur. Dolayısı ile ses dalgaları ile konukçu doku üzerinde bulunan bazı bakteri ve fungal etmenlerin elemine edilmesi mümkün olabilir, hatta virüslerin inaktivasyonu bile mümkün olabilir (Pinheiro ve ark., 2015). Ultrases dalgası hasat sonrası ürünlerde çürüklüğü gidermek için kullanıldığı gibi sebze ve meyvelerin raf ömrünün uzatılmasında da önemli bir yer tutmaktadır. Su, ses dalgasını iletmek için çok iyi bir iletkenidir. Su içindeki ses hızı havadakinden yaklaşık 4-5 kat daha hızlı olduğundan kontamine olmuş sebze ve meyveleri ultrases dalgaları ile dezenfekte etmek daha etkili olmaktadır. Böylece patojen mikroorganizmalar ile daha etkin mücadele imkanı doğmuştur. Hücre içeriğinin büyük bölümünün su olduğu düşünülürse, ses dalgasının etkinliği daha da belirgin olarak görülecektir (Lestard ve ark., 2013).

Ses dalgaları, mikrobiyal inaktivasyonu hücre membranlarında incelleme ve bölgesel ısınma ile sağlamaktadır. Bu bölgelerde oluşan serbest oksijen radikalleri (OH^\cdot , HOO^\cdot , O^\cdot , O_2^\cdot) ve H_2O_2 oluşumu hücrede stres seviyesini arttırdığından, hedef organizmaların biyokimyasal ve fizyolojik yapıları bozulmaktadır. Ses dalgası ile mikroorganizmaların inaktif hale getirilmesi son yıllarda yaygınlık kazanmış, kimi çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilirken bazı araştırmacılar bu konuya daha temkinli yaklaşmışlardır. Ancak genel kanaat ses dalgasının uygulandığı ürünler üzerinde kalite parametrelerini bozmayacak uygun doz, süre

ve mesafe içinde kullanıldığında ürünleri daha uzun süre muhafaza edebilecek potansiyele sahip olduğudur. Burada dikkat edilecek husus, ses dalgasının frekansı, süresi, şiddeti (dB, desibel değeri) ve uygulanacağı organizmanın özellikleri olmalıdır. Uygulamanın ayrıca başka bir uygulama (biyokontrol etmeni, sıcaklık, tuz, manyetik alan, UV ışık, pestisit vb.) ile nasıl uyum içinde kullanılacağı da göz ardı edilmemelidir.

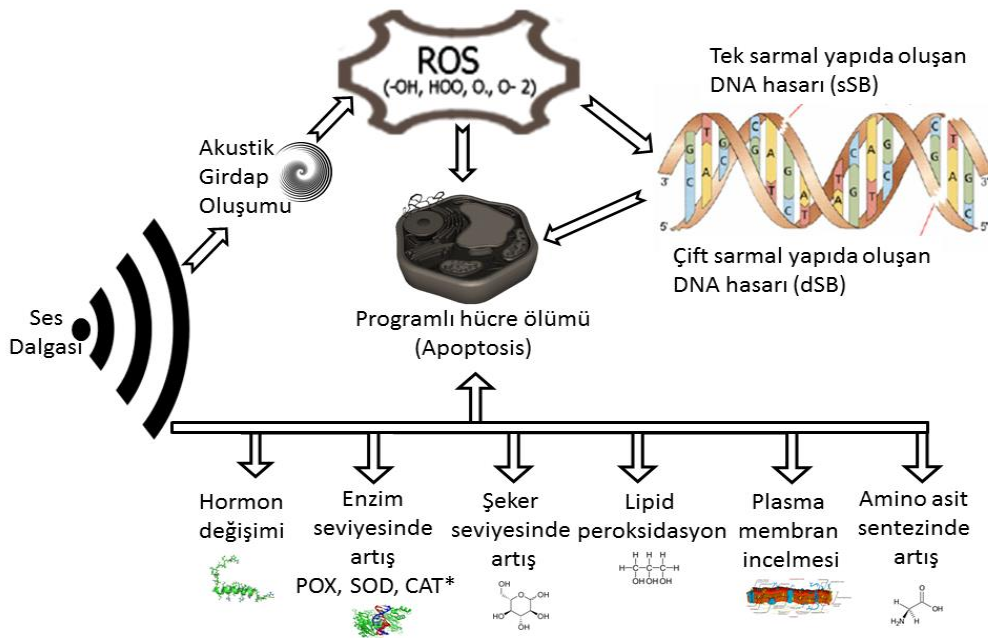
Bu derlemede, ses dalgasının organizmalar üzerinde yol açtığı olumsuz değişikliklerin mekanizması ve patojen kontrolünde kullanılabilme potansiyeli değerlendirilmiştir. Derleme iki ana kısımdan oluşmuş, birinci bölümde ses dalgalarının etki mekanizması, ikinci bölümde ise diğer metodlar ile kullanımı ele alınmıştır. Ses dalgaları ve ultrases dalgalarının organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri ziraat açısından değerlendirildiğinde ürünlerin muhafazası yanında mikroorganizmaların kontrolünün de mümkün olabileceği biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler çalışmalar ışığında değerlendirilmiştir.

Ses Dalgalarının Etki Mekanizmaları

Stres faktörleri (kimyasal, biyolojik ve fiziksel) DNA molekülünün sarmalındaki tek iplikçığı kırabilecek potansiyele sahip olduğu gibi yüksek dozlarda uygulandığında sarmal yapının çift iplikçiklerini kırması da mümkündür (Kubota ve ark., 2017). Stres faktörünün hücrede yol açtığı etkiler Şekil 1'de gösterilmiştir. Hücrede veya DNA yapısında oluşan hasarın tamiri mümkün olduğu gibi DNA üzerinde oluşan kırık veya kırıkların yeri ve sayısı arttırılarak DNA tamiri imkansız hale getirilebilir ya da yanlış tamir mekanizmaları sonucu (mismatch repair-yanlış eşleşme) hücre ölümü hatta mutasyon oluşabilir. Hücrenin, hasarlı DNA molekülünün

tamir edemediği durumlarda ortaya çıkan mekanizmalardan biri olan apoptosis veya nekroz oluşumu ile ilgili yayınlara ses dalgası ile ilgili çalışmaların yeni olmasından dolayı istenilen düzeyde yer verilememiştir. Özellikle, ziraat ve biyoloji alanlarında ses dalgası ile ilgili çalışmalarda membran deformasyonu rapor edilmesine rağmen, henüz yeterli sayıda moleküler düzeyde çalışmalara ulaşamamıştır. Bundan dolayı, ses dalgasının hücre ve DNA üzerindeki etkisini tartışmak için yer yer tıp ve diğer

alanlardan alıntılar yapılmış ve potansiyel olarak bitki koruma açısından patojenik mikroorganizmaların kontrolünün nasıl sağlanacağı konusu, bu konular ile ilişkilendirilerek açıklanmıştır. Ses dalgaları ile yapılan medikal çalışmaların çoğunluğunu insan ve gürültü odaklı çalışmalar oluşturmuş, gürültünün insan ve diğer memeliler üzerinde yol açtığı biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler konu alınmıştır. Ziraat ve biyoloji alanlarında yapılan çalışmalar ise hem yeni hem de az denebilecek düzeydedir.



Şekil 1. Ses dalgasının hücre metabolizmasına etkileri. (Kim ve ark., 2015; Ermolaeva ve ark., 2015; Milowska ve Gabryelak, 2007; Dikilitaş ve ark., 2016).

Figure 1. Effects of sound wave on the cell metabolism. (Kim et al., 2015; Ermolaeva and ark., 2015; Milowska and Gabryelak, 2007; Dikilitaş et al., 2016).

*POX: Peroksidaz, SOD: Superoxide dismutase, CAT: Katalaz

Ses dalgası ile organizmaların hücre duvarlarında strese yol açabilecek reaktif oksijen türleri (ROS) üretmek mümkündür. Ses dalgasının frekansını, süresini ve organizmaya olan uzaklığını ayarlayarak hedef organizmanın ROS üretimini arttırmak suretiyle DNA molekülünün yapısını bozmak mümkün olduğu gibi çok hızlı ve yüksek şiddette oluşturulacak reaksiyonlar ile ROS

üretilmesine fırsat vermeden de DNA molekülünün yapısını tamir edilemeyecek şekilde bozmak mümkündür (Prof. Dr. Abdurrahim Koçyiğit ile kişisel görüşme, Bezm-i Alem Üniversitesi-Tıp Fakültesi/İstanbul 2017; Prof. Dr. John Einset ile kişisel görüşme, Navarra Üniversitesi, İspanya, 2017). Bu durum patojenlerde dayanıklılık ve tolerans durumunu ortadan

kaldırmak için önemli bir adımdır. Canlı doku üzerinde stres yapıcı faktörün etkisi öncelikle hücre duvarında algılanır. Burada savunma mekanizması devreye girmesine rağmen sitoplazma içinde stresin etkisi, onun gücüne, süresine ve organizmanın genetik yapısına bağlı olarak değişir. Stresin devam etmesi ise hücre içinde oluşturulan ROS çeşidine ve konsantrasyonuna bağlıdır (Gill ve Tuteja 2010; Petrov ve ark., 2015; Liu ve He 2016). ROS seviyesi hücre içinde kontrol altına alınmaz ise iyon dengesi yanında metabolitlerin fonksiyonlarında da bozulmalara yol açar. Bu durum hastalığa neden olduğu gibi, DNA hasarına da yol açabilir.

Ses dalgası organizmalar üzerinde fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler yanında gen ekspresyonunda da değişikliğe neden olabilecek potansiyele sahiptir. Örneğin, touch (*TCH*) genlerinin, mekanik uyarılma sonucu ortaya çıkan genlerden olduğu belirlenmiştir (Braam, 2005; Chehab ve ark., 2009). Çeltik bitkilerinde ise GUS mRNA seviyesi 125, 250 Hz ve 1 kHz frekanslarda artış gösterirken 50 Hz frekansda düşüş göstermiştir (Jeong ve ark., 2008). Hongbo ve ark. (2008) Krizantem çeliklerinin (*Chrysanthemum* spp.) 1 kHz frekansta 100 dB gücünde bir ses dalgasına 9 gün süre ile günde 60 dakika maruz bırakıldığında, DNA içeriğinin herhangi bir değişiklik olmadığını fakat RNA ve çözünebilir protein seviyesinde artış kaydedildiğini belirlemişlerdir. Bu sonuçlar, ses dalgasının farklı genleri uyarak gen ekspresyon seviyesinde değişikliğe neden olabileceğini göstermektedir.

Yukarıda görüldüğü üzere, ses dalgalarının gücü ve frekansı arttığında organizmalar üzerine olan etkilerinin de arttığı bilinmektedir. Bu durumdan yola çıkarak yüksek frekans üreten sistemler geliştirilerek

ultrases dalgaları üretilmiştir. Ancak ultrases dalgalarının frekansı yanında gücünü de dikkate almak gerekir. Çünkü, düşük yoğunluklu ultrasonik ses dalgasının *Saccharomyces cerevisiae*'nin gelişimini arttırdığı rapor edilmiştir (Jomdecha ve Prateepasen, 2010). Yine aynı şekilde, düşük yoğunluklu ses dalgasına maruz kalan *Staphylococcus aureus*'un koloni sayısında azalma, hücre duvarlarında yıkım ve parçalanma görülmesine rağmen, bakteri hücre duvar kalınlığında önemli derecede artış bulunmuştur. Enfeksiyon yapıcı bakteri popülasyonunda azalma sağlanmasına ve enfeksiyondan daha çabuk iyileşme olanağı görülmesine rağmen canlı kalabilen bakteri kolonilerinin dolaylı yollardan antibiyotik direnci oluşturabileceğini de unutmamak gerekir (Ayan ve ark., 2008). Ses dalgasının düşük frekans ve gücünün hücrede oksijen ve besin elementi taşınımını arttırdığı tahmin edilmektedir. Böylece artış gösteren metabolik faaliyetler ile mikroorganizmaların dayanıklılığının arttığı düşünülmektedir. Ses dalgasının yüksek doz ve sürelerde kullanımı da sakıncalı olabilir. Bakteriler küresel yapıda bir salkım oluşturduğunda ve bazı kil gibi çok ince partiküller kolonilerin etrafını kapladığı durumlarda konvansiyonel pestisitler veya antibiyotikler her zaman etkili olmayabilir. Bu durum kirli suların ya da bulaşık yüzeylerin temizlenmesini güçleştirir. Böyle koşullarda ultrases dalgasının kullanımı önerilmiştir. Örneğin, *Bacillus subtilis* türünün elemine edilmesi için artan ultrases dalgaları frekansı (20-38 kHz) ve uygulama süresi ile bakteri inaktivasyonu doğrusal olarak başarılı ise de uygulanan çok daha yüksek frekanslar (512 ve 850 kHz) bakteri koloni sayısını arttırmıştır. Bu uygulama, bakterileri öldürmekten ziyade kümelerinin ayrıştırılmasına yol açmıştır (Joyce ve ark.,

2003). Dolayısı ile doz iyi ayarlanmaz ise, patojen gelişimini durdurmak yerine sporulasyonu teşvik eden ve patojenisiteyi arttıran kayıtlarla karşılaşmak kaçınılmaz olur.

Her ne kadar ses dalgasının olumsuz etkisinin hücre duvarında ve sitoplazmada artan ROS konsantrasyonundan ileri geldiği bilinse de bu durum her zaman geçerli olmayabilir. Örneğin; Milowska ve Gabryelak (2007) ultrases dalgasının (1 MHz, 0.61-2.44 W cm⁻²) eritrosit hücrelerinde H₂O₂ ve OH⁻ radikallerinin üretimini arttırdığını, yüksek dozda üretilen H₂O₂ ve ROS'un DNA hasarına yol açtığını belirlemişlerdir. Hücre ortamına dışarıdan CAT uygulaması ile H₂O₂ radikallerinin oluşumu elimine edilmek istenmiş, ancak DNA hasarı devam etmiştir. Dolayısı ile DNA hasarının sadece H₂O₂ artışı ile ilgili olmadığı açıkça görülmektedir. Bu durum ses dalgasının doğrudan DNA üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir.

Ses Dalgalarının Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri

Ses dalgaları, fungal etmenlerin sporulasyonunu ve miselyal gelişimi, misel uçlarında şişkinliğe neden olarak azaltmakta, dolayısı ile konidi oluşumu evresinde deformasyona neden olmaktadır. Örneğin, Jeong ve ark. (2013) 5 kHz frekansında bir ses dalgasının *Botrytis cinerea*'nın gelişimini ve sporulasyonunu önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir. Ses dalgası, hiflerin çeperlerini incelterek metabolit kaybını hızlandırmıştır. Bu sonuçlar, ses dalgasının misel gelişimini gerilediğini ve bundan dolayı spor çimlenmesinin engellediğini göstermiştir. Jeong ve ark. (2013) ayrıca 5 kHz'den daha düşük frekansların misel gelişimi üzerinde azalan etkiye sahip olduklarını rapor etmişlerdir. Saigusa ve ark. (2013) ise Koji piriçlerinde 1 kHz'lik ses dalgasının protease

aktivitesini, 6.3 kHz'in glukoamilaz aktivitesini, 16 kHz ses dalgasının ise peptidaz aktivitesini azalttığını rapor etmişlerdir. Yüksek sesli gürültünün sinir, endokrin ve kalp damar sistemleri üzerinde stres etkisi yaptığı da bilinmektedir. Örneğin, 12 saat boyunca 100 dB lik bir gürültünün sıçanlarda DNA bütünlüğünü bozduğu rapor edilmiştir (Frenzilli ve ark., 2004). Hatta, bu seviyede bir ses dalgası 24 saat süre ile durdurulsa bile DNA hasarının bu süre boyunca artarak devam ettiği görülmüştür. Genetik ve metabolik hasar ile ilgili olarak şunu ifade etmek önemlidir; DNA sarmalındaki tek iplikçik kırıldığında bunun tamiri genellikle 15 dakika içinde olurken, çift sarmal kırılmasında tamir, 2 saati aşkın bir sürede ancak yapılabilmektedir (Plappert ve ark., 1997). Bundan dolayı yüksek strese kısa süreli de olsa maruz kalan bir organizmanın tamir durumu daha uzun süreli olabilmektedir (Prof. Andrew R. Collins ve Prof John Einset ile kişisel görüşme, Oslo Üniversitesi, Norveç, 2013). Örneğin, kohlea (iç kulağın görünen yapısı), bir saat süre ile 110 dB şiddetinde gürültüye maruz kaldığında ROS üretiminde önemli ölçüde artışlar kaydedilmiş, gürültü sonlanmasına rağmen ROS'deki artış devam etmiştir (Ohlemiller ve ark., 1999).

Yine, ses dalgaları ile istenmeyen bakterilerin hücre duvarlarına ısı yüklemesi sağlanmış ve ortamda oluşan stres sonucu ROS üretilmesi başarılmış, böylece hücre duvarlarında oluşan aşınma ve peroksidasyon, bakterilerin hücre duvarlarını incelterek onların inaktivasyonunu sağlamıştır (Piyasena ve ark., 2003). Bir diğer çalışmada ise 5 kHz den 15 kHz'e kadar artan frekans, fungusların (*Aspergillus* spp.) koloni çapı, kondi oluşumu ve misel gelişimini olumsuz etkilemiş, frekans yükseldikçe fungus gelişimi ve sporulasyonunda azalma belirlenmiştir

(Karippen, 2009).

Ses dalgası etkisi ile hücrede oluşan ROS, oksidatif DNA hasarına yol açarak DNA sarmalındaki tek iplikçığı rahatlıkla kırabilecek potansiyele sahiptir (Nawaz ve Hasnain, 2013). Oksidatif DNA hasarı, DNA hasarı biomarkeri olan 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8OHdG) ile ölçüldüğünden, bu molekülün (hidroksil iyonlarının guanine ile etkileşimi sonucu üretilir) DNA hasarının arttığı bölgelerde yoğunlaştığı belirlenmiştir (Collins, 2013).

Böcekler ile ilgili çalışmalarda da benzer sonuçlar alınmıştır. Örneğin, Liu ve ark (2012) ses dalgasının *Drosophila* spp.'nin beslenmesini % 22 oranında azalttığını belirlemişlerdir. Yine aynı şekilde, *Tetranychus citri* (turingil sineği) 0.055 kHz frekans ve 120 dB ses basıncı altında 30 dakika bırakıldığında, böceklerin ömrününün kısaldığı ve ölüm oranının % 42.8 oranında arttığı belirlenmiştir (Chen ve ark., 2013). Zha ve Lei (2012) ultrases dalgasının *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) kelebeklerine 40 dakika süre ile uygulandığında böceklerde POX aktivitesinin hem larva hem de erginlerde antioksidant enzim sistemini değiştirdiğini belirlemişlerdir.

Yine, Jin-lian ve Yong (1998) *Aspergillus flavus* ve *Fusarium* spp.'nin 26 kHz'de sporlarının tamamınının çimlenme yeteneğini kaybettiğini, Herceg ve ark. (2012) ise 20 kHz ses frekansının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'nin inaktivasyonunu sağladığını rapor etmişlerdir. Aggio ve ark. (2012) sıvı ortamda yüksek ve düşük frekansa maruz bırakılan maya hücrelerinin % 12 daha hızlı büyümesine rağmen biomas üretiminin % 14 azaldığını göstermişlerdir. Yine, Scherba ve ark. (1991) 26 kHz'de fungusları (*Trichophyton mentagrophytes*) kısmen inaktif hale getirmeyi başarırken, Dehghani ve

ark. (2007) ise fungal popülasyonun derecesi ne olursa olsun 42 kHz frekansında bir ses dalgasının 15 dakika süre ile fungal solusyona uygulandığında popülasyonu % 90 azaltabilecek potansiyele sahip olduğunu, artan dezenfeksiyon süresinin popülasyonun azalmasına katkı sağladığını belirlemişlerdir. Yine, ultrases dalgası ile *Saccharomyces cerevisiae*'nin lag dönemde büyümesinin önüne geçilmiş ve bu dönemin kısalması sağlanarak *S. cerevisiae*'nin inaktivasyonu başarılmıştır (Jomdecha ve Prateecpasen, 2010).

Ses Dalgasının Diğer Metotlar ile Birlikte Kullanımı

Ses dalgası tek başına kullanıldığında doza ve süreye bağlı olarak etkili bulunmasına rağmen diğer metotlar ile kullanıldığında çok daha etkili bulunmuştur. Örneğin, normal büyüme koşullarında (37°C), *E. coli* (90 dB/1-10 kHz) ile 24 saat süreyle muamele edildiğinde hücre çoğalması teşvik edilmiş, ancak ortama osmotik stres yaratabilecek şeker ilave edildiğinde, *E. coli*'nin gelişimi hemen inhibe edilmiştir (Shaobin ve ark., 2010). Çünkü, ses dalgasına maruz kalan hücrelerin membran bütünlüğü bozulduğundan sahip olduğu organelleri kaybederler. Bu aşamada kullanılacak ilave bir dezenfektant ya da düşük toksisiteye sahip kimyasallar mikroorganizmalar üzerinde daha ölümcül etki yapabilirler (Phull ve ark., 1997). Örneğin, ultrases dalgası ile (25-70 kHz) ile klorlanmış suyun kombine edilmesi etkili bir dezenfektant oluşturmuştur (Seymour ve ark., 2002). Yine aynı şekilde, salisilik asit (SA) ile ultrases dalgası kombine edilerek SA'in doku içine penetrasyonu arttırılarak dayanıklı dokular oluşturulmuş, meyve ve sebzelerin çürümesi engellenmiştir

(Yao ve Tian, 2005; Yang ve ark., 2011). Yao ve ark., (2004) ultrases dalgası ve SA'ı ayrı ayrı ve birlikte şeftali ve armutlarda mavi çürüklük etmeni *Penicillium expansum* üzerinde denemişler, SA'ın tek başına mavi çürüklüğü azalttığı fakat ultrasesin tek başına böyle bir etkisinin olmadığını ancak her ikisinin kombinasyonunun daha etkili bir kontrol yöntemi olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, kombine etki, kitinaz, β -glukanaz ve Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) gibi savunma enzimlerinin seviyelerinin artmasına da neden olmuştur. Yine, Yang ve ark. (2011) ultrasonik dalgaların (40 kHz, 10 dakika) ve SA (0.05 mM) uygulamalarının şeftaliler üzerinde çürüklüğe neden olan *Penicillium expansum* fungusunu önemli derecede kontrol ettiğini ifade etmişlerdir. Benzer olarak, Rivera ve ark. (2011) NaOCl (500 ppm), H₂O₂ (500 ppm) veya 70% (v/v) etanol'u ultrases dalgası (35 kHz, 10 dakika, 4 °C) ile kombine ederek yer mantarı üzerinde test etmişlerdir. Ultrases dalgası meyveler üzerinde 1.6 log₁₀ cfu g⁻¹ *Pseudomonas* spp., ve 1.6 log₁₀ cfu g⁻¹ Enterobacteriaceae popülasyonu azaltmıştır. Ultrases dalgası çamaşır suyu veya H₂O₂ ile kombine edildiğinde ilave bir 1 log₁₀ cfu g⁻¹ azalma görülmüştür. Yine, Sanchez-Rubio ve ark., (2016) portakal ve nar meyve sularında *S. cerevisiae* inaktivasyonunu ultrases ve sıcaklık (50°C) uygulaması ile başarmışlardır.

Sao Jose ve Vanetti (2012) cherry domateslerde ultrases dalgası (45 kHz, 10 dakika) ile ticari olarak kullanılan temizleyici maddelerin [(20-200 mg l⁻¹ sodium dichloroisocyanurate), (%5, v/v, H₂O₂), (10 mg l⁻¹ klorindioksit, ClO₂) ya da (40 mg l⁻¹ perasetik asit)] birlikte kullanımı ile domates yüzeyinde doğal olarak bulunan mikroorganizmaların ve suni olarak inokule edilen *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

bakterisinin uzaklaştırılmasını test etmişler, en başarılı sonucun 3.9 log₁₀ cfu g⁻¹ azalma ile 40 mg l⁻¹ perasetik asit ile kombine edilen ultrases dalgası uygulaması olduğunu belirlemişlerdir. Sagong ve ark. (2011) ultrases (30 W l⁻¹, 40 kHz, 5-10 dakika) ve organik asit (malik, laktik ve sitrik asit) kombinasyonunun depolanmış marulun kalite ve yapısal parametrelerini etkilemeden *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* ve *Listeria monocytogenes* popülasyonunun azaltılmasında önemli rol oynadığını rapor etmişlerdir. Benzer sonuçlar, Kim ve ark. (2006) tarafından da elde edilmiş, bir çok dezenfektant maddenin ultrases dalgası ile kullanımının yonca ve brokoli tohumlarının *E. coli* O157:H7 bakterisinin sterilizasyonunda önemli bir etken olduğunu ifade etmişlerdir.

Dezenfektantlar içinde en önemli olanları klor içeren kimyasallardır. Ancak deri ve solunum yollarında açtığı tahribat ve çevreye olan zararından dolayı bu kimyasalların kullanımı başta Hollanda, İsveç, Almanya ve Belçika gibi ülkelerde yasaklanmıştır (Sao Jose ve Vanetti, 2012). Ancak, çok düşük klor dozu ile ultrases kombinasyonu, elemine edilmesi zor olan kontaminantların (*E. coli* ve toplam koliform) etkisiz hale getirilmesini mümkün hale getirmiştir. Örneğin, Huang ve ark. (2006) klorindioksitin ile ultrases dalgası uygulanmasının elma ve marullarda *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 konsantrasyonunu 1.2-1.9 log₁₀ cfu g⁻¹ daha azalttığını belirtmişlerdir.

Ayyıldız ve ark. (2011) ultrases (150-300 W l⁻¹) ile klorindioksit (2 mg l⁻¹) uygulamasının atık suların dezenfeksiyonunda *E. coli* ve toplam koliform inaktivasyonunu sağlamakta çok başarılı olduğunu göstermişlerdir. Atık sular birçok gelişmekte olan ülkelerde yeterli arıtma yapılmadan yüzey sularına karışmakta ve çevreyi tehdit etmektedir. Bu gibi atık

sularda dezenfeksiyon stratejisi en az kimyasal muamele ile bakteriyel gelişimi engellemek olmalıdır. Birçok dezenfektant madde (klorine, kloramine, klorinedioksit ya da ozon) normal ve atık suları dezenfekte etmek için kullanılmakta olup çok yüksek dozlara gereksinim duyulmaktadır. Bu dozlar solüsyonda klorit ve klorat iyonlarının artmasına neden olduğundan maksimum konsantrasyonu 0.7 mg l⁻¹'yi geçmemelidir. Her iki yöntemin birlikte kullanılması ile atık sularda *E. coli* ve toplam koliform sayısında 3.5 log₁₀ cfu ml⁻¹ azalma belirlenirken, ayrı ayrı kullanım durumunda bu oran, 1.4-1.9 log₁₀ cfu ml⁻¹ arasında değişmiştir. Ayrıca, klor içeren bileşiklere tolerans gösteren patojenlerin ortaya çıkması, klor içerikli bileşiklerin kullanımında dikkatli olunması gerektiğini de ortaya koymuştur (Allende ve ark., 2008; Alvaro ve ark., 2009; Dikilitaş ve Karakas, 2012).

Son yıllarda ultrases dalgası ile EO da kullanılmaya başlanmıştır. EO su, klorlanmış suya alternatif olarak Japonya'da geliştirilmiş, tarım ve gıda endüstrisinde ve hasat sonrası hastalıkların kontrolünde hızla yayılan teknolojik bir ürün olmuştur. EO su, seyreltilmiş NaCl solüsyonunun elektrolize edilmesi ve ion ayrıştırıcı bir membran yardımı ile anot ve katot'un birbirinden ayrılması ile elde edilmektedir. Anot tarafında toplanan su, HOCl içeriği ve düşük pH seviyesi sayesinde son derece etkili bir temizleyici ve dezenfektant özelliğe sahip olup, normal yollar ile elde edilen OCI⁻¹ den daha güçlü etkiye sahiptir. Negatif yüklü iyonlar (Cl⁻, OH⁻), anot kısmına doğru hareket ederek elektronlarını bırakırlar ve gaz haline (O₂, Cl₂) geçerek HOCl asit oluşturarak pH 4.0 seviyesinde bir su oluştururlar. Bu su, yüksek oksidasyon özelliğine sahip olup mikrobiyal organizmaların hücre membranlarını

parçalayarak hücre içi metabolitlerin fonksiyonunu bozabilecek potansiyele sahiptir. EO su (100-, 200-, 700 ppm serbest Cl) ile ultrases dalgası (108, 400, 700 kHz, 1 MHz), 0-, 10-, 30-, ve 60 dakika boyunca 27 °C'de ananas meyveleri üzerinde bulunan *Fusarium* sp. için test edilmiştir. Megasonifikasyon ve EO su kombinasyonu 10 dakika süre ile uygulandığında spor çimlenmesini ve misel büyümesini 3 gün boyunca tamamen durdurmuştur. Ultrases ve EO su uygulaması bitkide PAL ve POD enzimlerinin seviyesini arttırarak savunmaya önemli katkıda bulunmuşlardır. EO su ultrases ile birlikte kullanıldığında ananas meyvelerinin raf ömrünü de 20 güne çıkartmıştır. Analizler, meyvelerde titretable asit, toplam çözünen katı madde, pH ve vitamin C içerikleri bakımından herhangi bir kaybın yaşanmadığını göstermiştir (Khayankarn ve ark., 2013; 2014). EO ve ultrases dalgası oda sıcaklığında 5 dakika süre ile kombine edildiğinde, marul yaprakları üzerinde bulunan bakteri sayısı 2.3 log₁₀ cfu g⁻¹ azalırken, 40 °C sıcaklıkta 3.8 log₁₀ cfu g⁻¹ azalmıştır. Bu durum sadece mikrobiyal emniyeti arttırmamış, marul bitkisinin 10 °C'de depolama ömrünü de arttırmıştır (Forghani ve Oh., 2013).

Whangchai ve ark. (2010) ise EO su ve ozon kombinasyonunun hasat sonrası *Penicillium digitatum* ile inokule edilmiş mandalina meyvelerinin 5 °C'de depolama ömrünü 28 güne kadar çıkarttığını rapor etmişlerdir. EO su ve ozon uygulaması mandalina meyvelerinde toplam çözünen madde, titretable asit, ağırlık ve renk kaybı gibi kalite değerlerinde herhangi bir kayba neden olmamıştır.

Khayankarn ve ark. (2013 and 2014) EO su içinde bulunan en düşük konsantrasyon olarak uygulanan 100 ppm serbest klorinin

bile fungal gelişimi durdurmaya yeterli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan hipoklorus asit (klor içeren bileşiklerin en etkili formudur) mikrobiyal hücrenin nükleik asit ve proteinlerinde oksidasyonlara neden olarak hücre ölümünü gerçekleştirmektedir. Düşük pH derecesine sahip EO su, mikrobiyal hücrenin dış kısmı ile temas sağladıktan sonra hipoklorus asit hücre içine daha kolay girer ve hücre ölümüne yol açar. Örneğin, *P. digitatum*'un 1 dakika süre ile EO suya maruz kalması ile de benzer sonuçlar elde edilmiştir (Whangchai ve ark., 2010). Yine, Buck ve ark. (2002) ince-duvarlı fungusların bu yolla 30 saniye, kalın duvarlı fungusların ise 2 dakika içinde inaktivasyonunun sağlandığını bildirmişlerdir. Zou ve Jiang (2016), havuç suyunu ultrases dalgası ile muamele ettiklerinde mikrobiyal kontaminasyon azalırken, meyve suları pH, elektriksel iletkenlik, akışkanlık, toplam çözünen madde, vitamin C ve karetenoid içeriklerinde herhangi bir kaybın oluşmadığını belirlemişlerdir. Benzer sonuçlar, Cruz-Cansino ve ark., (2016), ultrases dalgasının armut meyve suyuna uygulandığında, pH ve toplam çözünen madde miktarında değişiklik olmamasına rağmen *E.coli* bakteri popülasyonu belirlenemeyecek düzeye indirilmiştir.

Yoshida ve ark. (2013) 30 kHz frekansında devamlı olarak uygulanan ultrases dalgasının genomik DNA molekülü üzerinde çift sarmal iplikçikleri kırdığını ifade etmişler, DNA molekülünün kırılması için belirledikleri eşik değerinin aşıldığı durumlarda, kırılmanın doğrusal olduğunu göstermişlerdir. Solüsyon içinde oluşan akustik girdabın (kavitasyon) DNA molekülünün kırılmasında önemli etken olduğunu belirlemişlerdir.

Ultrases dalgası ile spor canlılığının azaltılması temel olarak serbest oksijen

radikallerinin saldırısı ile açıklanmaktadır. Özellikle hidroksil radikallerinin saldırısı ve hücre membranlarının fiziksel parçalanması, hücre ölümünde önemli rol oynamaktadır (Dehghani ve ark., 2007). Ultrases dalgası solüsyon içinde bulunan kimyasal oksidantların hızlı bir şekilde dokuya penetrasyonunu mümkün kılar, bu aşamada oluşan ultrases dalgası ile açığa çıkan yüksek enerji hücre duvarlarının stoplazmik yapıdan ayrılmasına neden olur.

Ses Dalgasının Ürünlerin Korunmasındaki Rolü

Ses dalgası ile ilgili çalışmalarda sadece kontrol edilmesi gereken organizmalar konu alınmamakta aynı zamanda konukçu dokunun hücre duvarlarını sağlamlaştırarak ürünün raf ömrünü uzatılması ve patojen girişi de zorlaştırılmaktadır. Örneğin, Kim ve ark. (2015) domates meyvesinin olgunlaşma sürecinin kontrollü bir şekilde yapılmasının ürünün raf ömrünü uzatacağını ve çürümelere karşı daha dayanıklı olacağını ifade etmişlerdir. Bunun için hasat edilmiş domates meyveleri düşük frekanslı ses dalgaları ile (1 kHz) ile 6 saat muamele edildikten sonra oda sıcaklığında 14 gün boyunca bekletilmişlerdir. Ses dalgalarına maruz bırakılan meyvelerin % 85'i yeşilliğini korurken muamele görmeyen meyvelerin ancak % 50 si yeşilliğini koruyabilmiştir. Ses dalgalarına maruz kalan meyvelerde solunum ve etilen hormon üretimi kontrol meyvelerine göre önemli oranda azalmış, meyvede renk ve sertlik değişimi en az düzeye indirilmiştir. Ses dalgalarının meyve olgunlaşması ve etilen üretimi üzerine olan etkileri etilen ile ilgili genlerin ekspresyonu ile ortaya konmuştur. Etilen üretiminden sorumlu genler (*ACS2*, *ACS4*, *ACO1*, *E4* ve *E8*) ve olgunlaşmayı düzenleyen genlerin (*RIN*, *TAGL1*, *HB-1*, *NOR* ve *CNR*) ses dalgası ile uyarıldığını rapor

etmişlerdir.

Pinheiro ve ark. (2015) domates meyvelerinin 45 kHz frekansta 19 dakika muamele edildiğinde renk değişiminin yavaşladığını tekstür kaybının azaldığını, kalite parametrelerinin korunduğunu rapor etmişlerdir.

Sonuçlar

Ses dalgası çeşitli biyolojik işlemleri ve gen ekspresyonunu etkilemektedir. Ses dalgası ile hücre içinde sinyal iletişim mekanizması uyarılır, düşük doz ve sürede hücre dayanıklılığı mekanizması arttırılırken, yüksek dozda ROS oluşturularak hücrenin yıkımı sağlanabilir. Bu yolla organizmada kalıntı bırakmadan, organizmayı etkisiz hale getirmek mümkündür.

Ses dalgasının dozu ve süresi arttırılarak direkt olarak DNA'da hasar oluşturmak da mümkündür. Böylece hedef organizmanın daha fazla savunma metabolitlerini üretmeden ve dolayısı ile adaptasyon kazanmasına fırsat vermeden kontrol altına alınması mümkün olacaktır. Ses dalgasının organizmalar, özellikle patojen mikroorganizmalar, üzerinde etkisi daha detaylı olarak hem biyokimyasal hem de moleküler düzeyde incelenerek DNA hasarı üzerinde etkilerini konu alan çalışmalar bu yöntemin etkinliğinin belirlenmesinde önemli bir aşama olacaktır.

Kaynaklar

Aggio, R.B.M, Obolonkin, V., Villas-Boas, S.G., 2012. Sonic vibration affects the metabolism of yeast cells growing in liquid culture: A metabolomic study. *Metabolomics*, 8(4):670-678.

Al-hashimi, A. M., Mason, T. J., and Joyce, E., 2015. The combined effect of ultrasound and ozone on bacteria in water. *Environmental Science and Technology*, 49(19): 11697–11702.

Allende, A., Selma, M. V., López-Gálvez, F., Villaescusa, R., and Gil, M. I., 2008. Impact of wash water quality on sensory and microbial quality, including *Escherichia coli* cross-contamination, of fresh-cut escarole. *Journal of Food Protection*, 71(12): 2514-2518.

Alvaro, J. E., Moreno, S., Dianez, F., Santos, M., Carrasco, G., and Urrestarazu, M., 2009. Effects of peracetic acid disinfectant on the postharvest of some fresh vegetables. *Journal of Food Engineering*, 95(1): 11-15.

Ayan, İ., Aslan, G., Comelekoglu, U., Yılmaz, N., Colak, M., 2008. The effect of low-intensity pulsed sound waves delivered by the Exogen device on *Staphylococcus aureus* morphology and genetics. *Acta Orthopaedica Et Traumatologica Turcica*,42(4): 272-277.

Ayyıldız, O., Sanık, S., and İleri, B., 2011. Effect of ultrasonic pretreatment on chlorine dioxide disinfection efficiency. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(2): 683-688.

Awad, T., Moharram, H., Shaltout, O., Asker, D. and Youssef, M. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48 (2): 410-427.

Bilek, S.E. ve Turantaş, F. 2013. Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry, a review. *International Journal of Food Microbiology* 166, 155–162.

Braam, J., 2005. In touch: Plant responses to mechanical stimuli. *New Phytologist*, 165: 373–89.

Buck, J. W., Iersel, M. W., Oetting, R. D., and Hung, Y. (2002). In Vitro Fungicidal Activity of Acidic Electrolyzed Oxidizing Water. *Plant Disease*, 86(3): 278-281.

Chehab, E.W., Eich, E., and Braam, J., 2009. Thigmomorphogenesis: A complex plant response to mechano-stimulation. *Journal of Experimental Botany*, 60(1): 43–56.

Chen, X.Q., Liu, Y.K., Liu, J.C., Wang, Z.Q., Yan, F.T., 2013. Experimental study on feasibility of prevention of through resonating acoustic technique. *Journal of China Agricultural University*, 18: 159-164.

Cruz-Cansino, N., Reyes-Hernández, I., Delgado-Olivares, L., Jaramillo-Bustos, D., Ariza-Ortega, J. and Ramírez-Moreno, E., 2016. Effect of ultrasound on survival and growth of *Escherichia coli* in cactus pear juice during storage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2):431-437.

Collins, A.R., 2013. Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1840(2): 794-800.

- Dehghani, M.H., Mahvi, A.H., Jahed, G.R., Sheikhi, R., 2007. Investigation and evaluation of ultrasound reactor for reduction of fungi from sewage. *Journal of Zhejiang University Science B* 8 (7): 493-497.
- Dikilitaş M., and Karakas S., 2012. Behaviour of Plant Pathogens for Crops Under Stress During the Determination of Physiological, Biochemical, and Molecular Approaches for Salt Stress Tolerance."Alınmıştır: Crop production for agricultural improvement Chapter 16. (Ed) Ashaf M. Dordrecht, Springer, 417-441pp.
- Dikilitaş, M., Karakas, S., Hashem, A., Abd Allah, E.F. and Ahmad, P., 2016. Oxidative stress and plant responses to pathogens under drought conditions, "Alınmıştır: Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach Vol:2 ch8 (ed) Ahmad, P., John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK. 102-123pp.
- Dolatowski, Z.J., Stadnik, J., Stasiak, D., 2007. Applications of ultrasound in food technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6 (3): 89-99.
- Ermolaeva, M., Dakhovnik, A. and Schumacher, B., 2015. Quality control mechanisms in cellular and systemic DNA damage responses. *Ageing Research Reviews*, 23: 3-11.
- Frenzilli, G., Lenzi, P., Scarcelli, V., Fornai, F., Pellegrini, A., Soldani, P., Nigro, M., 2004. Effects of Loud Noise Exposure on DNA Integrity in Rat Adrenal Gland. *Environmental Health Perspectives*, 112(17): 1671–1672.
- Forghani, F., Oh, D. H., 2013. Hurdle enhancement of slightly acidic electrolyzed water antimicrobial efficacy on Chinese cabbage, lettuce, sesame leaf and spinach using ultrasonication and water wash. *Food Microbiology*, 36 (1): 40-49.
- Gill, S. and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12):909-930.
- Herceg, Z., Jambrak A.R., Lelas, L. And Thagard S.M., 2012. The Effect of High Intensity Ultrasound Treatment on the Amount of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Milk. *Food Technology and Biotechnology*, 50(1): 46–52.
- Hongbo, S, Biao, L, Bochu, W, Kun, T, and Yilong, L., 2008. A study on differentially expressed gene screening of *Chrysanthemum* plants under sound stress. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces* 331: 329–333.
- Huang, T., Xu, C., Walker, K., West, P., Zhang, S., Weese, J., 2006. Decontamination efficacy of combined chlorine dioxide with ultrasonication on apples and lettuce. *Journal of Food Science* 71(4): 134–139.
- Jayasooriya, S.D., Bhandari, B.R., Torley, P., D'Arcy, B.R., 2004. Effect of high power ultrasound waves on properties of meat: a review. *International Journal of Food Properties*, 7(2): 301-319.
- Jeong, M.J., Shim, C.K., Lee, J.O., Kwon, H.B., Kim, Y.H., Lee, S.K., 2008. Plant gene responses to frequency-specific sound signal. *Molecular Breeding*, 21: 217–26.
- Jeong, M. J., Bae, D. W., Bae, H., Lee, S. I., Kim, J. A., Shin, S. C., Park, S. C. 2013. Inhibition of *Botrytis cinerea* spore germination and mycelia growth by frequency-specific sound. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 56(4): 377–382.
- Jin-lian, R., Yong, N., 1998. Experimental Study of Sterilizing Molds by Ultrasound. *Chinese Physics Letters*, 15(2): 115-116.
- Jomdecha, C. and Prateepasen, A., 2010. Effects of pulse ultrasonic irradiation on the lag phase of *Saccharomyces cerevisiae* growth. *Letters in Applied Microbiology*, 52(1):62-69.
- Joyce, E., Phull, S., Lorimer, J. and Mason, T., 2003. The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured *Bacillus* species. *Ultrasonics Sonochemistry*, 10(6): 315-318.
- Karippen P. M., 2009. Experimental Investigation on the Effects of Audible Sound to the Growth of *Aspergillus* Spp. *Modern Applied Science*. 3(4): 137-141.
- Khayankarn, S., Uthaibutra, J., Setha, S., Whangchai, K., 2013. Using electrolyzed oxidizing water combined with an ultrasonic wave on the postharvest diseases control of pineapple fruit cv. 'Phu Lae'. *Crop Protection* 54: 43-47.
- Khayankarn, S., Jarintorn, S., Srijumpa, N., Uthaibutra, J., and Whangchai, K., 2014. Control of *Fusarium* sp. on pineapple by megasonic cleaning with electrolysed oxidising water. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 8(03): 288-296.
- Kim, H. J., Feng, H., Kushad, M. M., Fan, X., 2006. Effects of ultrasound, irradiation, and acidic electrolyzed water on germination of alfalfa and broccoli seeds and *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Science J Food Science*, 71(6): 168-173.
- Kim, J., Lee, J., Kwon, T., Lee, S., Kim, J., Lee, G., Park, S. and Jeong, M., 2015. Sound waves delay tomato fruit ripening by negatively regulating ethylene biosynthesis and signaling genes. *Postharvest Biology and Technology*, 110: 43-50.
- Kubota, R., Yamashita, Y., Kenmotsu, T., Yoshikawa, Y., Yoshida, K., Watanabe, Y., Yoshikawa, K. 2017. Double-Strand Breaks in Genome-Sized DNA

- Caused by Ultrasound. *Chemphyschem*, 18(8): 959–964.
- Lee, N. Y., Park, S. Y., Kang, I. S., and Ha, S. D., 2014. The evaluation of combined chemical and physical treatments on the reduction of resident microorganisms and *Salmonella Typhimurium* attached to chicken skin. *Poultry Science*, 93(1): 208-215.
- Lestard, N.D., Valente, R.C., Lopes, A.G., Capella, M.A., 2013. Direct effects of music in non-auditory cells in culture. *Noise Health* 15: 307-14.
- Liu, C., Plaçais, P., Yamagata, N., Pfeiffer, B., Aso, Y., Friedrich, A., Siwanowicz, I., Rubin, G., Preat, T. and Tanimoto, H., 2012. A subset of dopamine neurons signals reward for odour memory in *Drosophila*. *Nature*, 488(7412):512-516.
- Liu, J., Wang, Q., Karagić, Đ., Liu, X., Cui, J., Gui, J., Gu, M. and Gao, W. 2016. Effects of ultrasonication on increased germination and improved seedling growth of aged grass seeds of tall fescue and Russian wildrye. *Scientific Reports*, 6(1): 22403.
- Liu, Y. and He, C., 2016. Regulation of plant reactive oxygen species (ROS) in stress responses: learning from AtRBOHD. *Plant Cell Reports*, 35(5): 995-1007.
- López-Ribera, I. and Vicent, C., 2017. Use of ultrasonication to increase germination rates of *Arabidopsis* seeds. *Plant Methods*, 13:31.
- Miano, A., Forti, V., Abud, H., Gomes-Junior, F., Cicero, S. and Augusto, P., 2015. Effect of ultrasound technology on barley seed germination and vigour. *Seed Science and Technology*, 43(2): 297-302.
- Milowska, K. and Gabryelak, T., 2007. Reactive oxygen species and DNA damage after ultrasound exposure. *Biomolecular Engineering*, 24(2): 263-267.
- Nawaz, S.K. and Hasnain, S., 2013. Occupational Noise Exposure May Induce Oxidative DNA Damage. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(5): 1547-1551.
- Ohlemiller, K.K., McFadden, S.L., Ding, D.L., Flood, D.G., Reaume, A.G., Hoffman, E.K., 1999. Targeted deletion of the cytosolic Cu/Zn-superoxide dismutase gene (*Sod1*) increases susceptibility to noise-induced hearing loss. *Audiology Neuro-otology* 5:237–246.
- Petrov, V., Hille, J., Mueller-Roeber, B., and Gechev, T. S. 2015. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6: 69.
- Phull, S.S., Newman, A.P., Lorimer, J.P., Pollet, T.J., Mason, T.J., 1997. The development and evaluation of ultrasound in the biocidal treatment of water. *Ultrasonics Sonochemistry*, 4(2):157-164.
- Pinheiro, J., Alegria, C., Abreu, M., Gonçalves, E. and Silva, C. 2015. Influence of postharvest ultrasounds treatments on tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. Zinac) quality and microbial load during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27: 552-559.
- Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R.C., 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87 (3): 207–216.
- Plappert, U.G., Stocker, B., Fender, H., Fliedner, T.M., 1997. Changes in the repair of blood cells as a biomarker for chronic lowdose exposure to ionizing radiation. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 30:153–160.
- Rivera, C.S., Venturini, M.E., Oria, R., Blanco, D., 2011. Selection of a decontamination treatment for fresh *Tuber aestivum* and *Tuber melanosporum* truffles packaged in modified atmospheres. *Food Control*, 22 (3–4): 626–632.
- Sagong, H.G., Lee, S.Y., Chang, P.S., Heu, S., Ryu, S., Choi, Y.J., 2011. Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. *International Journal of Food Microbiology* 145 (1): 287–292.
- Sánchez-Rubio, M., Taboada-Rodríguez, A., Cava-Roda, R., López-Gómez, A. and Marín-Iniesta, F., 2016. Combined use of thermo-ultrasound and cinnamon leaf essential oil to inactivate *Saccharomyces cerevisiae* in natural orange and pomegranate juices. *LWT - Food Science and Technology*, 73: 140-146.
- Saigusa, N., Imayama, S., Teramoto, Y. and Aoqui, S., 2013. Control of Microorganism by Sound Wave -- Effects of Sound Wave on Enzyme Balance in Rice Koji. Second IIAI International Conference on Advanced Applied Informatics, August 31 - September 4, 112-115pp. Kunibiki Messe, Matsue, Japan.
- Sao Jose, J.F.B., Vanetti, M.C.D., 2012. Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *Salmonella enterica Typhimurium* on cherry tomatoes. *Food Control* 24 (1–2): 95–99.
- Seymour, I., Burfoot, D., Smith, R., Cox, L. and Lockwood, A., 2002. Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(5):547-557.
- Scherba, G., Weigel, R.M., O'Brien, W.D., 1991. Quantitative assessment of the germicidal efficacy of ultrasonic energy. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(7): 2079-2084.
- Scouten, A. and Beuchat, L., 2002. Combined effects of chemical, heat and ultrasound treatments to kill

- Salmonella and Escherichia coli O157:H7 on alfalfa seeds. *Journal of Applied Microbiology*, 92(4): 668-674.
- Shaobin, G., Wu, Y., Li, K., Li, S., Ma, S., Wang, Q. and Wang, R., 2010. A pilot study of the effect of audible sound on the growth of Escherichia coli. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 78(2): 367-371.
- Shekari, F., Mustafavi, S. And Abbasi, A., 2015. Sonication of seeds increase germination performance of sesame under low temperature stress. *Acta agriculturae Slovenica*, 105(2): 203-212.
- Valero, M., Recrosio, N., Saura, D., Muñoz, N., Martí, N. and Lizama, V. 2007. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*, 80(2): 509-516.
- Wang, Q., Chen, G., Yersaiyiti, H., Liu, Y., Cui, J., Wu, C., Zhang, Y. and He, X. (2012). Modeling Analysis on Germination and Seedling Growth Using Ultrasound Seed Pretreatment in Switchgrass. *PLoS ONE*, 7(10), p.e47204.
- Whangchai, K., Saengnil, K., Singkamanee, C., Uthaibutra, J., 2010. Effect of electrolyzed oxidizing water and continuous ozone exposure on the control of *Penicillium digitatum* on tangerine cv. 'Sai Nam Pung' during storage. *Crop Protection* 29: 386–389.
- Yang, J., Dugrawala, H., Hua, H., Manukyan, A., Abraham, L., Lane W., Mead H., Wright, J. and Schneider, B.L., 2011. Cell size and growth rate are major determinants of replicative lifespan. *Cell Cycle*, 10:1, 144-155.
- Yao, G., Craven, M., Drinkwater, N., Bradfield, C.A., 2004. Interaction Networks in Yeast Define and Enumerate the Signaling Steps of the Vertebrate Aryl Hydrocarbon Receptor. *PLOS Biology*, 2(3): 355-367.
- Yao, H.J., and Tian, S.P., 2005. Effects of a biocontrol agent and methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved. *Journal of Applied Microbiology* 98:941–950.
- Yoshida, K., Ogawa, N., Kagawa, Y., Tabata, H., Watanabe, Y., Kenmotsu, T., Yoshikawa, Y. and Yoshikawa, K., 2013. Effect of low-frequency ultrasound on double-strand breaks in giant DNA molecules. *Applied Physics Letters*, 103(6): 063705.
- Zha, Y. and Lei, C., 2012. Effects of Ultrasound-Stress on Antioxidant Enzyme Activities of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 28(1):34-41.
- Zou, Y. and Jiang, A., 2016. Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology (Campinas)*, 36(1):111-115.