

Gıdalarda Mikroorganizmaların İnaktivasyonunun Modellenmesi

Nafi Çoksöyler

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Müh. Bölümü, Van
coksoyler@hotmail.com

Özet

Gıdalarda mikroorganizmaların inaktivasyonlarının modellerle ifade edilmesi, bu modellerin daha sonra benzeri durumlarda deney yapmadan tahminde bulunulmasına imkan verdiği için çok önemlidir. Bu alanda ilk defa modellerin, grafikler halinde konservelede sporların inaktivasyonunun tanımlanmasında kullanıldığı söylenebilir. Bu modellerin parametreleri F , z ve D değerleridir. Bigelow modeli canlı kalanların zamana bağlı azalışını tanımlayan doğrusal bir modeldir. Model parametresi (k) D değerinin hesaplanmasında kullanılabilir. Weibull dağılımı ve modifiye Gompertz modelleri de doğrusal olmayan modeller olarak kullanılmaktadır. Modellerin karşılaştırılmasında F testi ve R^2 değerleri kullanılır. Modellerin doğrulanması deneysel çalışmalarla, önceden yapılan çalışmaların sonuçları ile yapılabilir.

Anahtar kelimeler: Betimleyici mikrobiyoloji, inaktivasyon, D değeri, z değeri, Weibull dağılımı, aktivasyon enerjisi

Giriş

Gıdaların muhafazası ve güvenliğinin sağlanması, güvenli bir raf ömrü elde edilmesinde başta ısı işlem olmak üzere birçok faktör birlikte kullanılmaktadır. Bu faktörlerin düzeylerinin, ayarlanarak belirtilen güvenilirliğe ulaşılması ve bunun doğrulanması deneysel olarak yapılabilir. Ancak günümüzde yeni ortaya çıkan ve/veya fark edilen mikrobiyolojik riskler, her gün birçok yeni gıdanın piyasaya girme baskısı, yeni ambalaj, sunum ve tüketim gereksinimleri bu deneysel talebi karşılanmasını mümkün olmayacak düzeylere yükseltmektedir. Bu durumda eski bilgi birikiminin yeni çeşitliliğin sorunlarına cevap verecek şekilde yeniden düzenlenmesi, bu alandaki bilgilerin daha yaygın bir ihtiyacı karşılayacak şekilde üretilmesi, yeni ihtiyaçlarda örnek olarak veya doğrudan sorunu gidermede kullanılacak veri tabanlarının oluşturulması deneysel ihtiyacın düzeyini azaltacaktır.

Betimleyici mikrobiyoloji mikroorganizmaların çeşitli etken ve ortam şartları karşısında davranışlarının matematiksel ifadelerle açıklanması, tanımlanması olarak tarif edilebilir. Mikrobiyolojinin bu yeni alanı, gıdalarda

mikroorganizmaların gelişimi, inaktivasyonu, risklerin hesaplanması ve güvenli raf ömrü gibi konularla ilgilenmektedir.

Betimleyici mikrobiyolojide kullanılan 1. tip modeller belli şartlar altındaki mikro-organizma kültüründeki zamana bağlı olarak değişimi matematiksel olarak ifade etmeye çalışır. Bu değişim modelinin parametreleri, maksimum popülasyon yoğunluğu, maksimum gelişme hızı, lag fazı süresi, inaktivasyon hızı vb. parametreler veya bunlara çevrilebilen katsayılardır. 2. tip modeller ise bu parametrelerin ortam şartlarına bağlı olarak değişimini ortaya koyan modellerdir. Bu modellerin bağımsız değişkenleri, sıcaklık, su aktivitesi, pH vb ortam şartlarıdır ve bağımlı değişkeni ise, inaktivasyon katsayısı, maksimum gelişme hızı, lag fazı süresi gibi birinci tip modellerin parametreleridir. İyi planlanmış bir çalışma ile, çeşitli ortam şartları hazırlanarak bu ortamlarda incelenen mikroorganizmanın zaman içinde değişimini ortaya koyacak örnekler alınır. Bu örneklerden alınan verilerle her ortam şartı kombinasyonunda değişimin (gelişim veya inaktivasyonun) parametreleri belirlenir. Bu parametrelerin değerlerin ilgili faktörlerin düzeylerine bağlı olarak değişimi de ikinci tip modellerle ifade edilir. Bu yeni modellerin parametrelerinin geçerliliği, yeni testler veya daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırılarak doğrulandıktan sonra, benzeri ortam şartlarında bu deneyleri yapmadan sadece etkenlerin düzeylerini modellerde kullanarak değişim parametreleri ve buna bağlı olarak mikroorganizma sayısının ne zaman güvenli düzeye düşebileceği (inaktivasyon için) veya güvenli raf ömrü (gelişim için) hesaplanabilir.

İnaktivasyon Modelleri:

İnaktivasyonda ilk model çalışmaları olarak 1900'lü yılların başlarında konserve sanayiinde termal ölüm eğrilerini vermek mümkündür. Bu çalışmalarda anlamlı miktara spor cam tüp veya teneke kutular içindeki ortama ilave edilir, değişik sıcaklıklarda ve değişik sürelerde yağ banyosunda veya otoklavda farklı sıcaklıklarda tutularak belli aralıklarla ömeklenir. Her birinde sterilite testi yapılarak sonuç steril (-) veya üreme var (+) olarak değerlendirilir. Bu işaretler her süre ve sıcaklık kombinasyonu için yarı logaritmik bir kâğıda (x- eksenine sıcaklık, y, logaritmik eksene süreler) işlenir. Eksileri yukarıda ve artıları aşağıda bırakacak şekilde çizilen bir doğru (veya sınırda olası 2 doğrunun ortalaması) o mikroorganizmanın o vasatta termal ölüm eğrisidir (TDT). Belli sayıda sporun inaktif olması için gereken sürelerin tahmin edilmesinde kullanılan bu grafik model –kanımca– birincil modeli olmayan ikincil bir model olarak kabul edilebilir. Başka bir deyişle bu modelle belli sayıda mikroorganizmanın inaktif olacağı sürenin (F değeri) sıcaklığa bağlı değişimi elde edilebilir ve belli sıcaklıkta bu süre modelden tahmin edilebilir. Eğer örneklerde canlı kalanların sayımını yapılırsa süspansiyonda canlı spor

veya hücrelerin belli sıcaklıkta bir logaritmik devre (%90 oranında) azalması için geçen süreler (D değerleri) hesaplanarak aynı yarı logaritmik kâğıda, sıcaklığa karşı işlenebilir. Bu durumda D değerlerini birleştiren veya temsil eden doğru, Termal ölüm eğrisinin altından ve ona paralel olarak geçer ve "Gölge Termal Ölüm Eğrisi" olarak adlandırılır. Her iki eğrinin de bir log devreyi aşması için gereken sıcaklık farkı aynı olup z değeri olarak adlandırılır, zamandan bağımsız bir parametredir (1).

Bigelow modeli de yukarıdaki gibi mikroorganizmaların bir ısı etken karşısında inaktivasyonun birinci derece reaksiyon kinetiğine uygun olduğunu, başka bir deyişle canlı kalanların logaritmasının zamanla düzgün doğrusal olarak azaldığını kabul eder. $[Ln(N) = Ln(N_0) - kt]$. Bu durumda iki model parametreleri çok kolaylıkla birbirine çevrilebilir ($D = 2.303/k$ veya $Log(N/N_0) = -t/D$). Bigelow modelinde inaktivasyon hızı katsayısının sıcaklıkla değişimi genellikle Arrhenius denkliği ile açıklanmaktadır. Bu durumda Arrhenius denkliği ısıl işlemde inaktivasyon hızının (canlı sayısının zamana bağlı değişimi, birinci tip model) sıcaklığa bağlı değişimi, yani ikinci tip modeli oluşturmaktadır. Termal ölüm eğrisinden hesaplanan z değeri de böyle bir modeldir ve z ile aktivasyon enerjisi arasındaki ilişkide bir birine çevrilebilir şekildedir ($z = 2.303RT^2 / E_a$). Proses modelleri de bir ısıl işlem sürecinde elde edilen sterilite düzeyini hesaplamakta kullanılmaktadır

$$(F = \int 10^{\frac{T(t)-T(Ref.)}{z}} dt).$$

İnaktivasyon eğrileri incelendiğinde çoğunlukla orta kısmı doğrusal veya doğrusala oldukça yakın olmakla birlikte üst kısımda bir omuz ve/veya alt kısmında bir kuyruk görülebilmektedir. Üst kısımdaki omuz çoğunlukla, etkene karşı bir direnç ve belli miktarda hasar birikiminden sonra ölümün başladığı şekilde yorumlanır. Bu durumda ölüm zaman içinde hızlanmaktadır. Alt kısımdaki kuyruk ise popülasyonda dayanıklı bireylerin bulunduğu ve bunların inaktivasyonun daha uzun süreli etki gerektiği anlamına gelmektedir. Birinci durumda inaktivasyon eğrisi aşağıya, ikinci durumda yukarıya doğru konkavlık göstererek doğrusallıktan sapar. Bu durumdaki eğrilerin değerlendirilmesinde bir dağılım modeli olan Weibull dağılımının kümülatif formu başarı ile kullanılmaktadır $[Log(N) = Log(N_0) - (1/2.303)(t/\alpha)^\beta]$. Hem omuz, hem de kuyruk gösteren inaktivasyon eğilimleri mikroorganizma gelişimi için oluşturulan Gompertz modeline uygunluk gösterebilmektedir [modifiye model ile bu amaçla düzenlenen model;

$$\text{Log}(N / N_o) = C \exp(-\exp(A + Bt)) - (C \exp(-\exp(A)))$$

kullanılabilmektedir]. Bu modellerin dışında da çok sayıda model inaktivasyon kinetiğinin modellenmesi için kullanılmaktadır. Verilerin modellenmesinde, linear modeller için doğrusal regresyonu yapabilen bir hesap makinesinden istatistik paket programlarına kadar çok sayıda imkândan yararlanılabilir. Doğrusal olmayan iki ve üç parametrelili modellerde, MS Excel programının çözücü modülü ve istatistik paket programlarının doğrusal olmayan regresyon seçeneği kullanılabilmektedir. Deneysel verileri hangi modelin daha iyi temsil ettiğinin, bazı itirazlar olsa da, en basit yolu determinasyon katsayılarının (R^2) karşılaştırılmasıdır. Ancak parametre sayısının aynı olmaması durumunda daha farklı yöntemler (F testi) kullanılır (2).

İnaktivasyon kinetiği parametrelerinin (k, D vb.) etken/kombinasyonlarının düzeylerine bağlı değişiminde kullanılan 2. tip model sayısı çok fazla değildir. Bunlara çoğunlukla D değeri ve Arrhenius denkliği gibi klasik yaklaşımlardan yararlanılmaktadır. Örneğin basınç ile inaktivasyonda

$\text{Log}(D / D_R) = -(P - P_R) / z_R$ denkliği kullanılabilmektedir (2). Formülde D'ler basınç etkisi ile nontermal D değerleri, P'ler basınç ve R referans değer anlamındadır. Modellerin doğrulanması deneysel çalışmalar yaparak, yapılmış ve yayınlanmış deneysel çalışmaların verileri kullanılarak, çeşitli kuruluşlar tarafından kullanıma sunulan (<http://wyndmoor.arserrc.gov/combase/default.aspx>) betimleyici mikrobiyoloji veritabanlarını kullanarak test edilebilir. Doğrulanmış modellerden belli şartlarda ve belli sürelerde popülasyon yoğunluklarının tahmininde (betimlenmesinde) fonksiyonel bir hesap makinesinden bilgisayara kadar çok sayıda araç yararlı olabilmektedir.

Kaynaklar

1. Anonymous 1968.Laboratory Manual for Food Canners and Processors.Vol.:1-Microbiology and Processing.The AVI Pub. Com. Inc.. Wesport, Connecticut. 336 sa
2. McKellar, R.C., Lu, X. 2004. Modelling Microbial Responses in Food. CRC PressWashington D.C. 343 sa.