

**Yüksek Durgun-Sıvı Basınç (YDB) uygulamasıyla sütte etkisizleştirilen
Escherichia coli ve *Listeria innocua*'nın yaşam eğrilerinin tanımlanması**

Sencer Buzrul, Hami Alpas*

ODTÜ. Gıda Mühendisliği Bölümü, 06531, Ankara

*imah@metu.edu.tr

Özet

Süte ekilen *E. coli* ve *L. innocua* bakterileri oda sıcaklığında (20-25 °C) YDB uygulamasıyla (400, 450, 500, 550 and 600 MPa) etkisizleştirilmiş ve uygulanan basınç arttıkça yaşam eğrilerinde doğrusallıktan sapma (kuyruklu eğriler) gözlenmiştir. Bu nedenle çoğunlukla tercih edilen geleneksel (doğrusal) taslam yerine, ilgili bakterilerin yaşam eğrilerini tanımlamak için iki değişkenli (şekil ve zaman sabitleri) Weibull taslamı kullanılmıştır. Taslam değişkenleri değişkenler arası etkileşimi azaltmak amacıyla -bir miktar uyum kaybı gözönüne alınarak- ikiden bire indirilmiştir (şekil değişkeni sabitlenmiştir). Elde edilen sonuçlar indirgenmiş Weibull taslamının doğrusal taslama göre daha yüksek saptama katsayısı (R^2) ve daha düşük ortalama hata verdiğini (MSE) göstermiştir. Önerilen taslamla 600 MPa'da 6 \log_{10} azalma için gereken süre *E. coli* ve *L. innocua*'da sırasıyla 11,7 ve 10,5 dakika olarak hesaplanmıştır. Önerilen taslam kullanılarak *E. coli* ve *L. innocua*'nın 400-600 MPa arasındaki herhangi bir basınç değerindeki (örn: 475 MPa) yaşam eğrilerinin tahmin edilmesi mümkün görünmektedir. Zaman sabitinin logaritması basınca göre doğrusal olarak değişmektedir böylece bu taslam için tıpkı geleneksel taslam gibi bir z değeri tanımlanabilir.

Anahtar kelimeler: Yüksek durgun-sıvı basıncı, Süt, *E. coli*, *L. innocua*, Betimleyici mikrobiyoloji

Giriş

Günümüzde doğrusal olmayan yaşam eğrilerini tanımlamak için en çok kullanılan ve belki de en gözde olan taslam Weibull taslamıdır. Değişik şekillerde yazılmış Weibull taslamları mevcuttur ancak aşağıda yazılan taslamdaki [Denklem (1)] değişkenlerin anlamlı olması bunu diğerlerinin önüne geçirmiştir:

$$\log_{10} S(t) = -\left(\frac{t}{D_1(P)}\right)^{n(P)} \quad (1)$$

Burada $S(t)$ hayatta kalma oranı yani t zamanındaki mikroorganizma sayısının [$N(t)$] başlangıçtaki mikroorganizma sayısına (N_0) bölümüdür [$S(t) = N(t)/N_0$]. D_1 zaman değişkeni olup, başlangıçtaki mikroorganizma sayısını 10'da birine indirmek ($N_0/10$) için (1 \log azalma için) gereken süredir. D -değerinden farklı olarak olasılıksal bir anlam taşımaktadır. n ise şekil değişkenidir; eğer birden

büyükse ($n > 1$) yaşam eğrisi aşağı doğru içbükey, birden küçükse ($n < 1$) yukarı doğru dışbükeydir. Şekil değişkenin bir olduğu durumlarda ($n = 1$) ise Weibull taslamı [Denklem (1)] geleneksel (doğrusal) taslama dönüşmektedir. Hem zaman hem de şekil değişkeni basınca (P) (kullanılan ölümcül işleme göre sıcaklığa, derişime veya hem sıcaklık hem basınca) bağlıdır. Denklem (1) son derece basit ve kullanışlı olmasına rağmen üç önemli eksiği bulunmaktadır. Birincisi bu denklemi kullanmak için doğrusal olmayan dönüş çözümlmesine ihtiyaç vardır ki bunu günümüzde değişik bilgisayar yazılımlarıyla gerçekleştirmek mümkündür. İkinci sorun ise bu taslamadaki değişkenlerin birbirleriyle yapısal olarak bağlantılı olmasıdır. Bu durum D_1 değerindeki herhangi bir hatanın n değerindeki bir hata tarafından dengelenmesine neden olabilir. Bu sorunu engellemek için MAFART ve ark. (4) n değişkenini etkisizleştirilen mikroorganizmaya bağlı olarak sabitlemeyi [$n(P) = n_{sabit}$] önermişlerdir [Denklem (2)]. Bu durumda Weibull taslamı tıpkı doğrusal taslam gibi tek değişkenli bir denkleme dönüştürülmektedir. Üçüncü sorun bu taslamın “S” şeklindeki yaşam eğrilerini (yani yukarı doğru içbükey başlayıp aşağı doğru içbükey biten ya da aşağı doğru içbükey başlayıp yukarı doğru içbükey biten) tanımlayamamasıdır. Bu sorunun çözümü en az üç değişkenli başka bir taslam kullanmaktır (1, 2).

$$\log_{10} S(t) = -\left(\frac{t}{D_1(P)}\right)^{n_{sabit}} \quad (2)$$

Bu çalışmanın amacı yüksek basınçla etkisizleştirilen mikroorganizmaların yaşam eğrilerini geleneksel taslamadan daha uygun bir taslam olan Weibull taslamıyla tanımlamak ve geleneksel taslamın yerine kullanılabilir yeni bir yöntemi sunmaktır.

Madde ve Yöntem

6 mL’lik plastic tüplerdeki mikroorganizmalar bilgisayar denetimli ve 3 L’lik hacme sahip yüksek basınç düzeneğiyle 400, 450, 500, 550 ve 600 MPa’da basınçlanmıştır. İşlem sırasında hem basınç hem de sıcaklık sürekli olarak denetim altında tutulmuş ve örneklerin sıcaklığı oda sıcaklığında tutulmaya çalışılmıştır (20-25 °C).

Sonuçlar

İlk olarak, Denklem (1) [Weibull taslamı] hem *E. coli*’nin hem de *L. innocua*’nın yaşam eğrilerini tanımlamak için kullanılmıştır. Şekil 1 *E. coli*’nin 400-600 MPa aralığındaki n değerlerini (şekil sabitlerini) göstermektedir; sabit n değeri (*E. coli* için $n_{sabit} = 0,78$) yatay çizgiyle gösterilmiştir ve beş şekil değişkeninin ortalaması alınarak hesaplanmıştır. İkinci olarak, bu bakterilerin yaşam eğrileri Denklem (2) [indirgenmiş Weibull taslamı] kullanılarak tanımlanmıştır. Şekil 2 sütteki *E. coli*’nin (Şekil 2a) ve *L. innocua*’nın (Şekil 2b) yaşam eğrilerinin her iki taslamla

tanımlanmış halini göstermektedir; kesiksiz eğriler Weibull taslamını kesiklilerse indirgenmiş Weibull taslamını belirtmektedir. Bu eğrilerin indirgenmiş Weibull taslamı yaşam eğrilerini tanımlamak için kullanılabilir. Çizelge 1’de belirtilen saptama katsayıları (R^2) ve ortalama hatalarda (MSE) bu gözlemi desteklemektedirler. Çizelge 2’de ise indirgenmiş Weibull taslamı için elde edilen zaman değişkenleri (D_1) sıralanmıştır. Bu değerlerin logaritması basınca doğrusal olarak bağlıdır. Denklem (2) ve Çizelge 2’deki veriler kullanılarak $6 \log_{10}$ (pastörizasyon için gerekli azalma) azalma için gereken süre hesaplanabilir. Önerilen taslamla 600 MPa’da $6 \log_{10}$ azalma için gereken süre *E. coli* ve *L. innocua*’da sırasıyla 11.7 ve 10.5 dakika olarak hesaplanmıştır. Önerilen taslam kullanılarak *E. coli* ve *L. innocua*’nın 400-600 MPa arasındaki herhangi bir basınç değerindeki (örn: 475 MPa) yaşam eğrilerinin tahmin edilmesi mümkün görünmektedir.

Çizelge 1. Weibull [Dk. (1)] ve indirgenmiş Weibull [Dk. (2)] taslamalarının kullanılabilirliği.

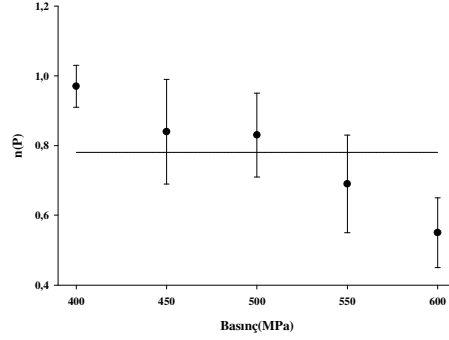
Mikroorganizma	P (MPa)	R^{2a}		MSE ^b	
		Dk. (1)	Dk. (2)	Dk. (1)	Dk. (2)
<i>E. coli</i>	400	0,99	0,98	0,008	0,07
	450	0,98	0,98	0,07	0,07
	500	0,99	0,99	0,06	0,06
	550	0,98	0,98	0,17	0,20
	600	0,99	0,93	0,12	0,50
<i>L. innocua</i>	400	0,99	0,98	0,03	0,06
	450	0,99	0,99	0,03	0,04
	500	0,99	0,99	0,05	0,09
	550	0,99	0,99	0,04	0,12
	600	0,98	0,92	0,28	0,75

^aSaptama katsayısı

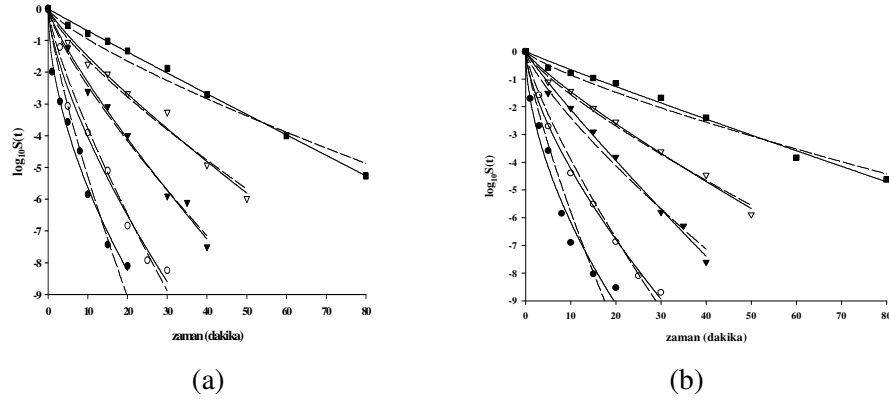
^bOrtalama hata

Çizelge 2. İndirgenmiş Weibull taslamının [Dk. (2)] her iki bakteri için zaman değişkenleri (D_1) \pm % 95 güven aralığı ve sabitlenmiş şekil değişkenleri (n_{sabit})

P (MPa)	<i>E. coli</i>		<i>L. innocua</i>	
	n_{sabit}	D_1 (dakika)	n_{sabit}	D_1 (dakika)
400	0,78	10,5 \pm 1,1	0,79	12,2 \pm 1,3
450		5,4 \pm 0,5		5,7 \pm 0,4
500		3,2 \pm 0,2		3,3 \pm 0,2
550		1,8 \pm 0,2		1,8 \pm 0,1
600		1,2 \pm 0,2		1,1 \pm 0,2



Şekil 1. Yaşam eğrileri Weibull taslamıyla [Denklem (1)] tanımlanmış *E. coli*'nin şekil değişkenleri \pm % 95 güven aralığı. Yatay çizgi indirgenmiş Weibull taslamı [Denklem (2)] için sabitlenmiş n değerini ($n = 0,78$) göstermektedir.



Şekil 2. Sütteki *E. coli* (a) ve *L. innocua* (b)'nin yaşam eğrileri; (■): 400, (○): 450, (▼): 500, (○): 550 and (●): 600 MPa. Kesiksiz eğriler Weibull taslamını [Denklem (1)] kesiklilerse indirgenmiş Weibull taslamını [Denklem (2)] belirtmektedir. (*E. coli* için $n_{sabit} = 0,78$, *L. innocua* için $n_{sabit} = 0,79$).

Kaynaklar

- 1.Avsaroglu MD, Buzrul S, Alpas H, Akcelik M. 2007. Hypochlorite inactivation kinetics of lactococcal bacteriophages. LWT – Food Sci. & Technol. 40, 1369-1375.
- 2.Buzrul S. 2007. Gıdalarda etkisizleştirilen mikroorganizmaların etkisizleştirilmesi 1: Doğrusal taslam ve eksiklikleri. Dünya Gıda Dergisi 8, 61-64.
- 3.Buzrul S, Öztürk P, Alpas H, Akcelik M. 2007. Thermal and chemical inactivation of lactococcal bacteriophages. LWT – Food Sci. & Technol. 40, 1671-1677.
- 4.Mafart P, Couvert O, Gaillard S, Leguerinel I. 2002. On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. Int. J. Food Microbiol. 72, 107-113.