



# 8. Gıda Mühendisliği Kongresi

7-9 Kasım 2013  
Başkent Öğretmenevi  
Ankara

[www.gidamuhendisligikongresi.org](http://www.gidamuhendisligikongresi.org)



**SONERİ İZTÜRK**  
Adres: ...  
Telefon: ...  
Faks: ...  
E-Posta: ...

## Gıdalarda mikroorganizma gelişimi ve inaktivasyonunun modellenmesi

Prof. Dr. F. Nafi Çoksöyler  
YYÜ Mühendislik Mimarlık Fakültesi  
Gıda Mühendisliği Bölümü  
Kasım, 2013 Ankara

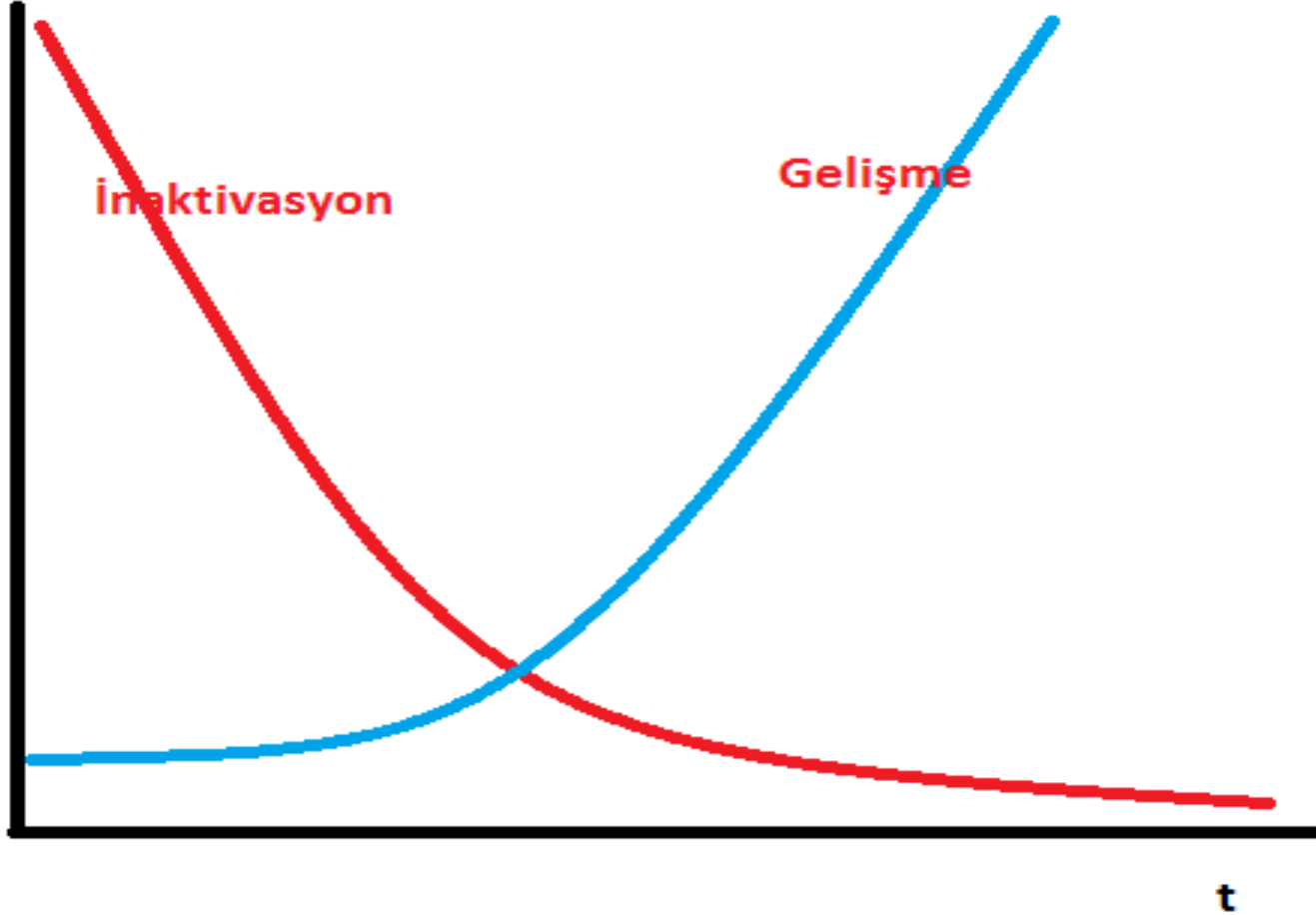
Betimleyici mikrobiyoloji (Predictive Microbiology; PM) ortam şartlarının karşısında mikroorganizmaların tepkisinin modellenmesi olarak tanımlanmaktadır.

Gıda mühendisleri için ortam esas olarak gıdadır.

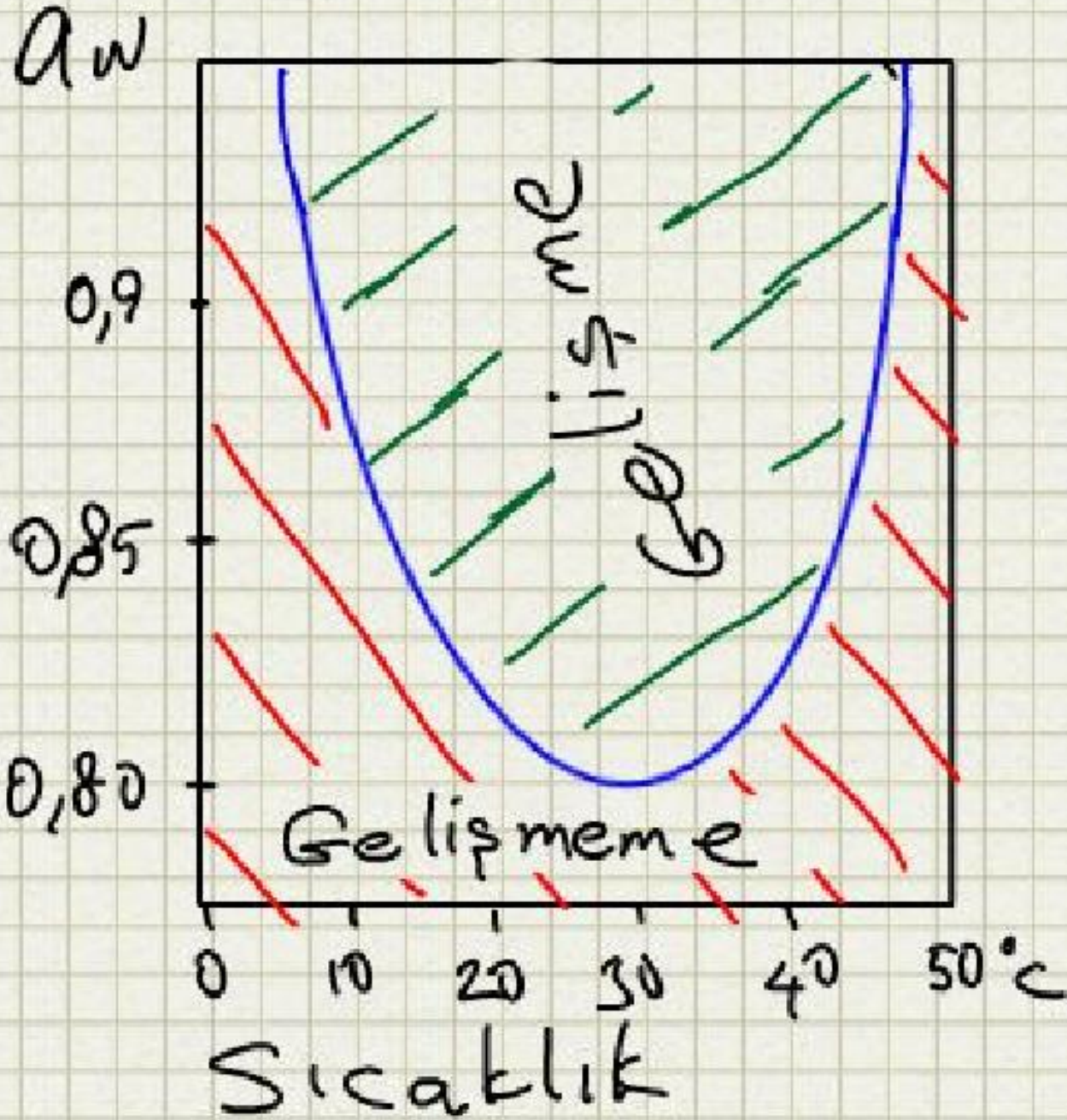
Mikroorganizmaların ölçebildiğimiz tepkileri ise çoğalma ve azalmadır (inaktivasyon).

Diğer önemli bir tepki ise kalitatif bir şekilde çoğalma veya çoğalmama durumudur. Bu son tepki ve buna bağlı olarak modelleme kavramı bize gıdada şartların kombinasyonlarını Güvenli/güvensiz ayrımlarını oluşturacak Çoğalma/çoğalmama eğrilerini çizmemize imkan verecek yeni bir kavramdır.

$\text{Log}(X); \text{Ln}(X),$   
 $X, X/X_0$



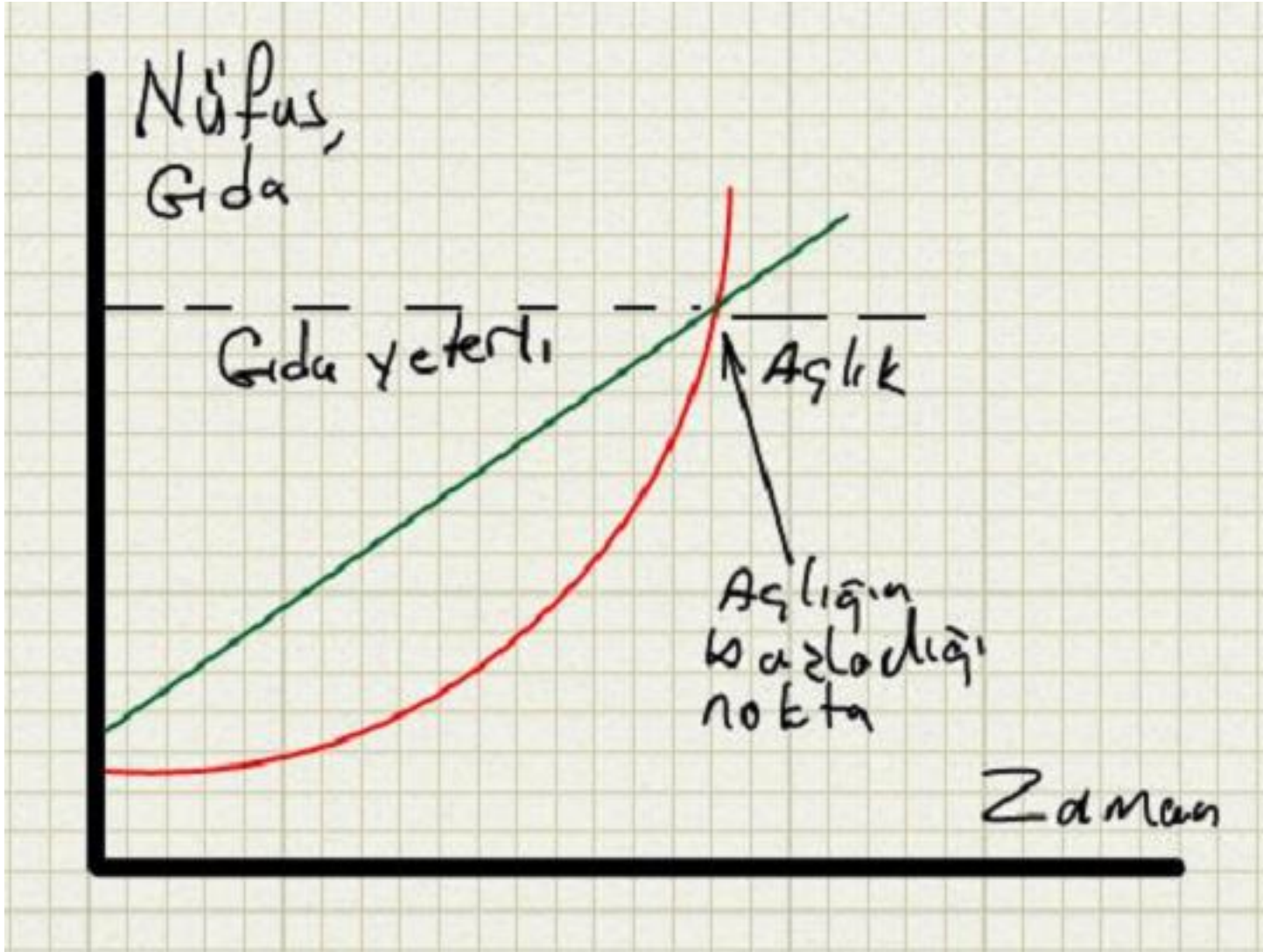
Gelişme ve inaktivasyon eğrileri



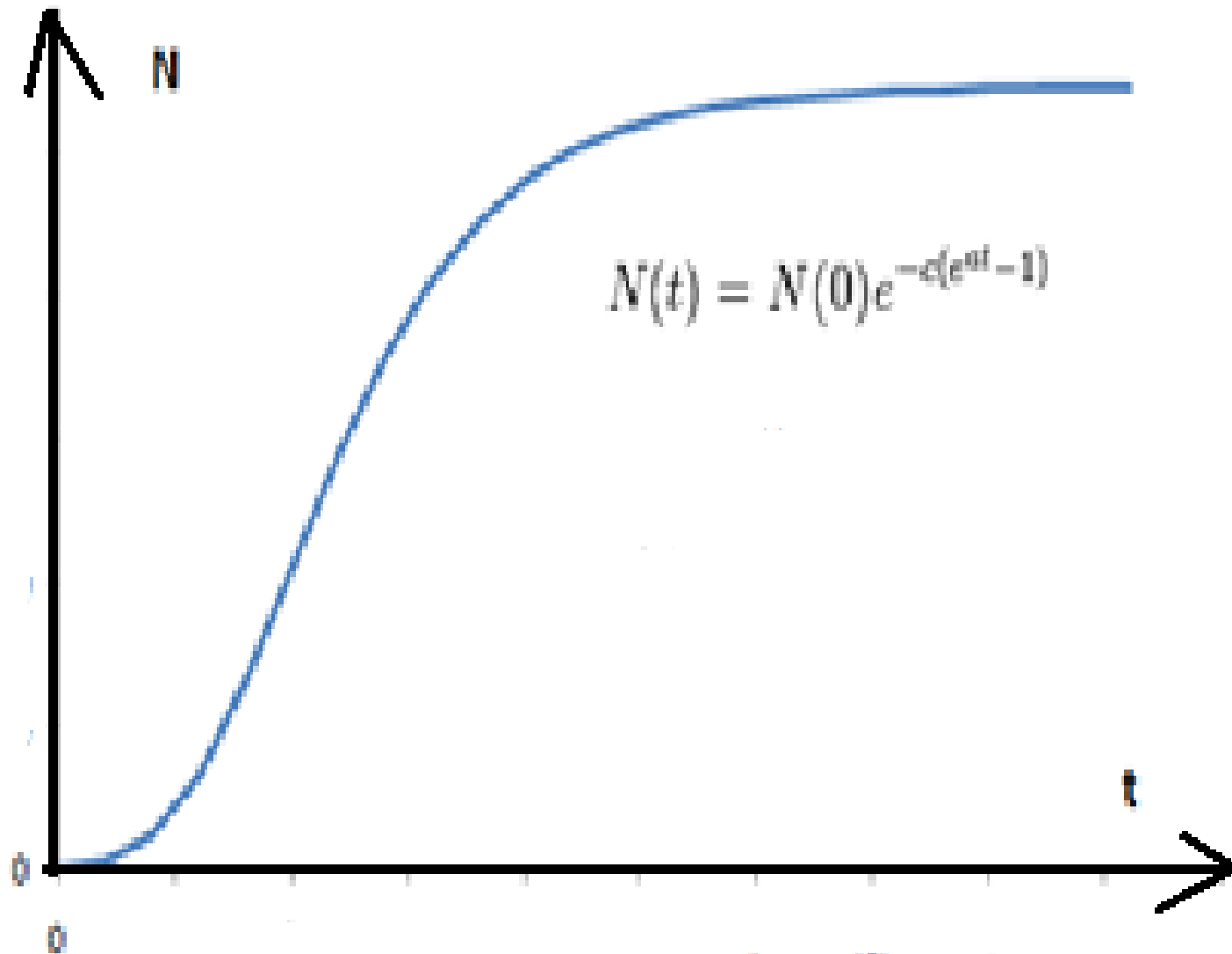
Gelişme/gelişmemeye Eğrileri veya ara yüzü (Mavi çizgi)

- Gıda mühendisliği alanında PM özellikle 1980'lerden sonra gelişmiştir. Bu gelişimde bizim mikrobiyoloji bilgimizin artması ve geliştirilen modellerin çalışabilmesi için bilgisayar ve programlarında gelişmeler olmasıdır.
- İlk modelleme alışmalarınının 1900'lerin başlarında geliştirilen inaktivasyon modelleri olduğu genel kanıdır.
- Kanımca ilk modeller kökeni çok daha eskiye dayanan çoğalma veya gelişme modelleridir:

# Maltus'un Nüfus teorisi (1789),



## Gompertz modeli (1825)





- Gompertz modeli meyve, hayvan, kuş gibi birçok canlının biyokütle artışının modellenmesinde, balık popülasyonunun modellenmesinde bazı modifikasyonlar yapılarak kullanılmaktadır.

INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY

ISSN Print: 1560–8530; ISSN Online: 1814–9596

13–143/201x/00–0–000–000

<http://www.fspublishers.org>



**Full Length Article**

## Comparison of Growth Curves by Growth Models in Slow–Growing Chicken Genotypes Raised in the Organic System

Hasan Eleroğlu<sup>1\*</sup>, Arda Yıldırım<sup>2</sup>, Ahmet Şekeroğlu<sup>3</sup>, Fikret Nafi Çoksöyler<sup>4</sup> and Mustafa Duman<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Şarkışla Aşık Veysel Vocational High School, Cumhuriyet University, Şarkışla/ Sivas/Turkey*

<sup>2</sup>*Department of Animal Science, Agriculture Faculty, Gaziosmanpaşa University, Tokat/Turkey*

<sup>3</sup>*Department of Animal Production and Technologies, Agricultural Sciences and Technologies Faculty, Niğde University, Niğde/Turkey*

<sup>4</sup>*Department of Food Engineering, Faculty of Engineering Yüzüncü Yıl University, Van/Turkey*

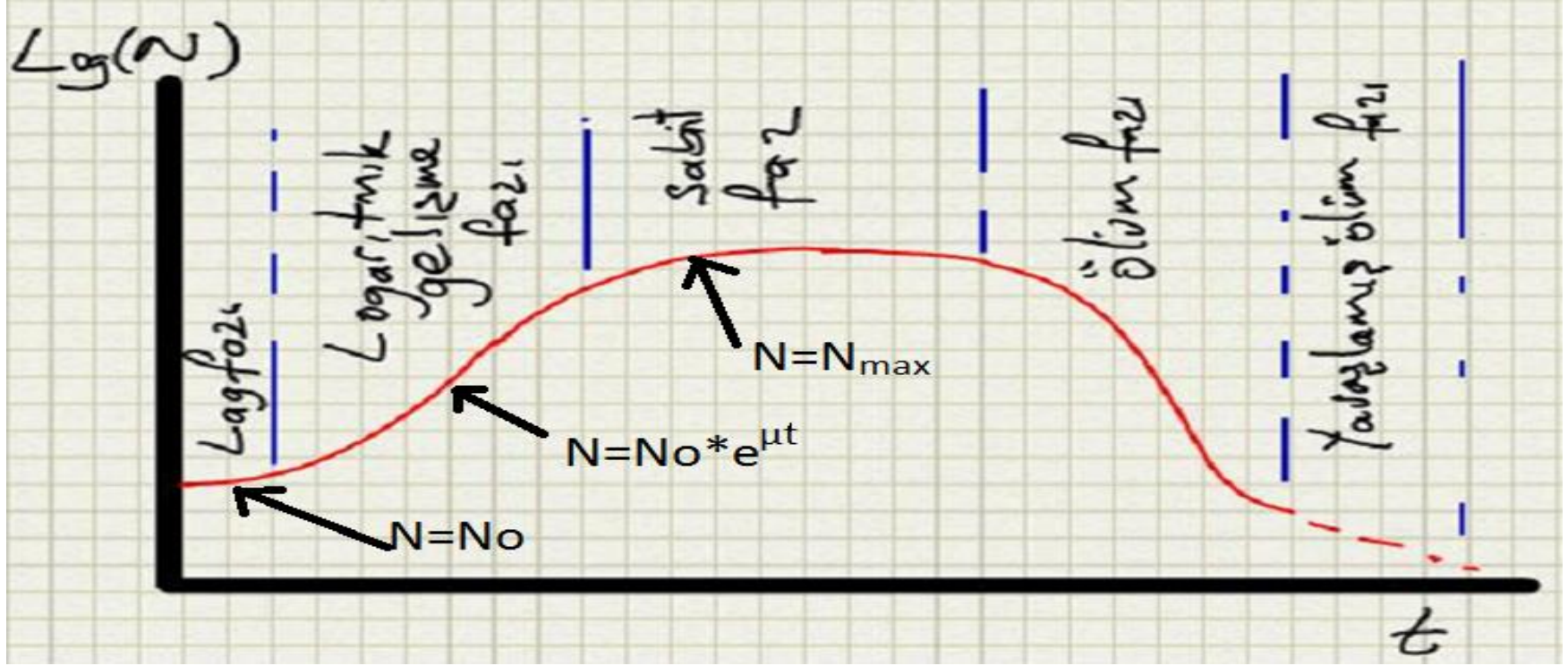
\*For correspondence: [eleroglu@cumhuriyet.edu.tr](mailto:eleroglu@cumhuriyet.edu.tr)

### Abstract

Two hundred and forty slow–growing chickens consisting of equal numbers of Hubbard S757 (S757) and Hubbard Grey

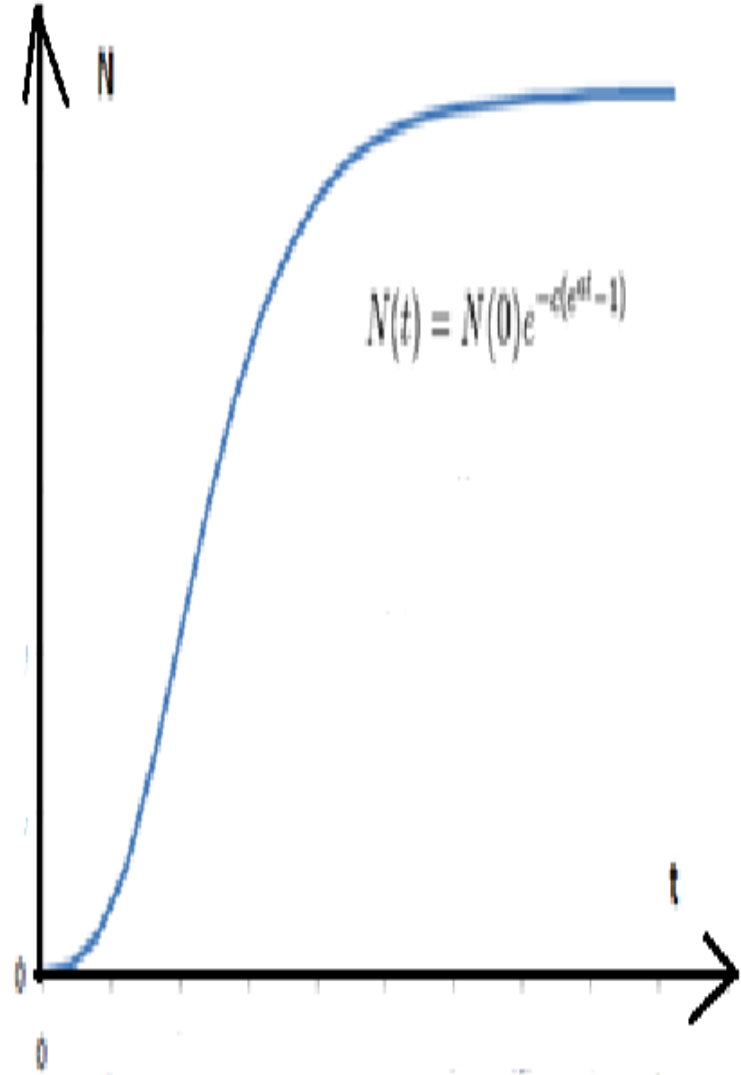
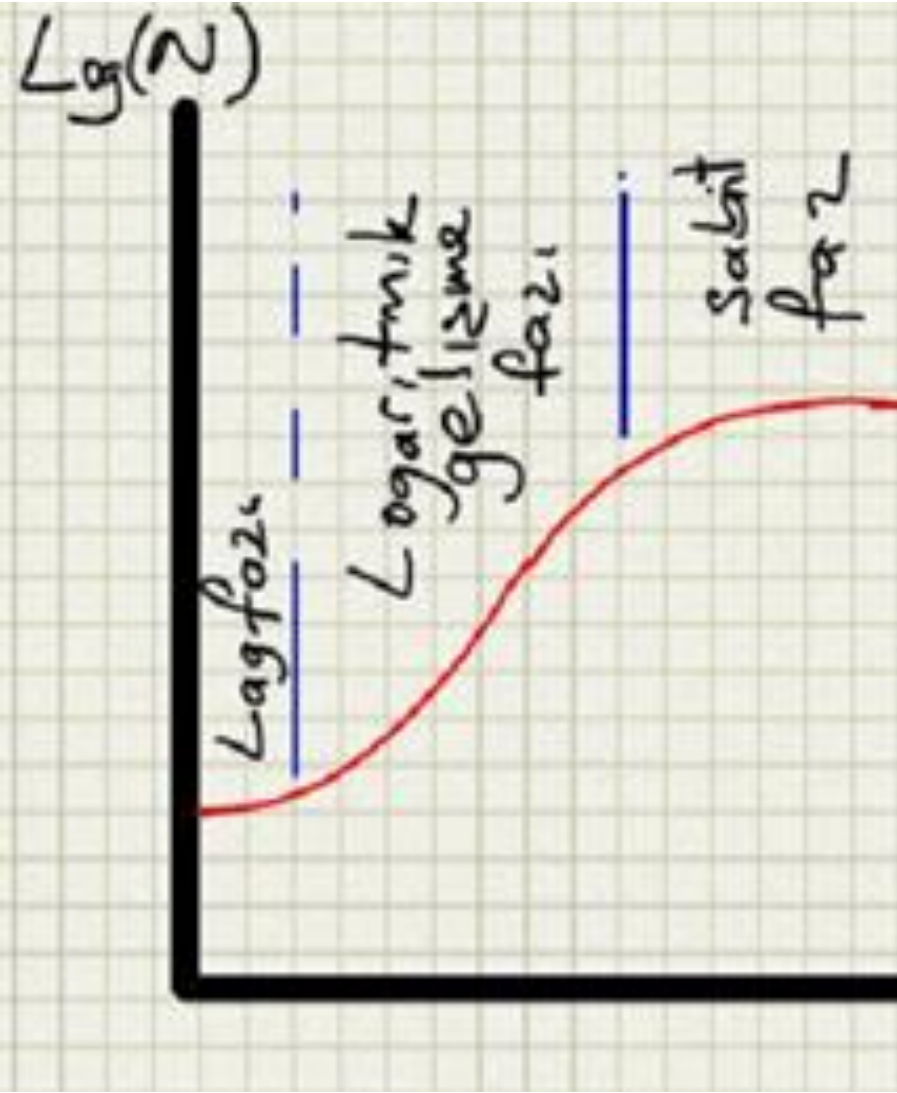


Modelin bakteri gelişimini açıklayıcı olarak kullanılmasına aşağıdaki örneği verebiliriz.

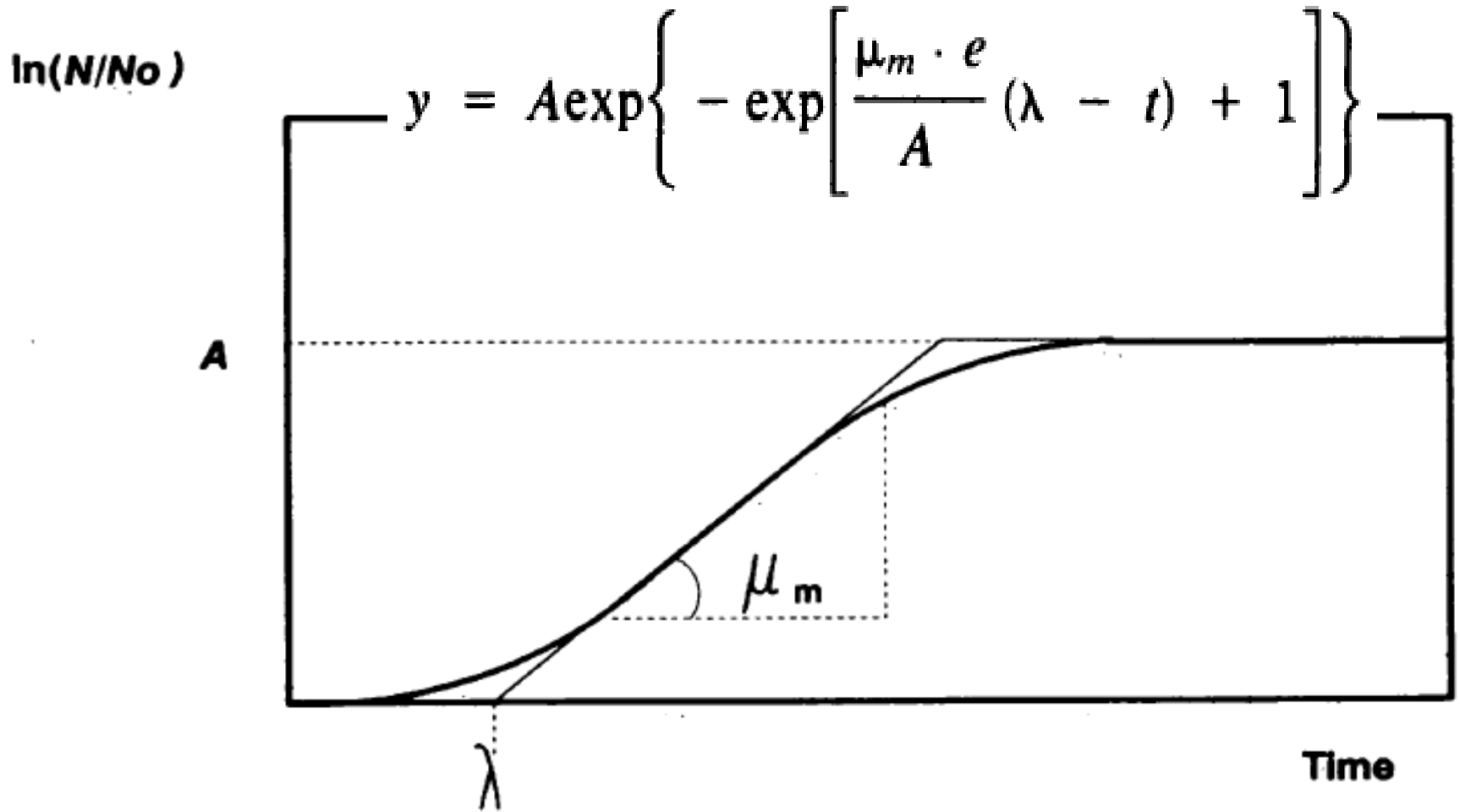


- Mikroorganizma gelişim kurvesi: Görüldüğü gibi bakteriler önce ortama adapte olurlar ve bu süre içinde sayıları artmaz ( $N(t)=N_0$ ) ve  $N=N_{max}$  daha sonra logaritmik olarak çoğalmaya başlarlar ( $N=N_0 * e^{\mu t}$ ) ancak bu süreç içinde  $\mu$ 'nün değeri de yükselir ve en fazla olabileceği bir değere ( $\mu_{max}$ ) gelir. Daha sonra ortamda besinlerin azalmasıyla bu değer tekrar düşmeye başlar ve ortamdaki bakteri yoğunluğu şartların ve mikroorganizma türünün belirlediği bir maksimum düzeye ulaşır. Bakteri sayısı az çok bu düzeyde sabit kaldıktan sonra ölümler başlar ve ölümler hızlanarak devam eder. Sona doğru kalan mikroorganizmaların ortama adaptasyonlarının neticesi olarak ölümler yavaşlamaya başlar ve teorik olarak bakteri sayısı hiçbir zaman sıfıra inmez.

Gelişim kurvesinin ilk yarısı ile Gompertz modeli arasında benzerlik:



- Zwietering ve ark.(1991) tarafından modelin parametreleri, mikrobiyal gelişimin parametreleri ( $\lambda$ ,  $\mu_{\max}$  ve A) olacak şekilde yeniden düzenlenmiştir. Modifiye Gompertz modeli günümüzde en yaygın kullanılan mikroorganizma gelişim kurvesinin modelidir.

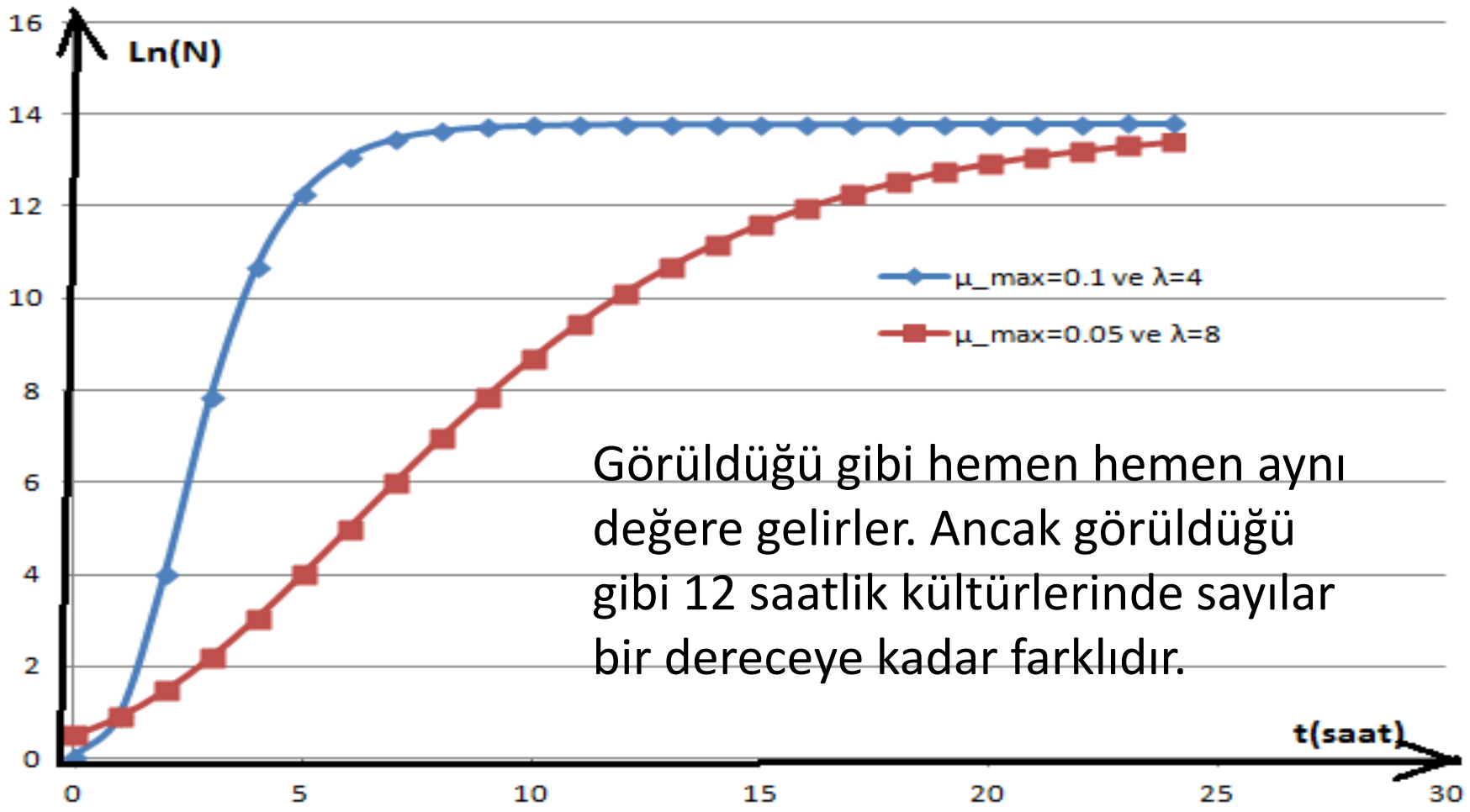


- Formülde yer alan  $A$ : asimtot değer-maksimum popülasyon yoğunluğu veya sabit fazdaki mikroorganizma sayısını vermektedir.  $\lambda$ : Lag fazı süresini ve  $\mu_m$  ise maksimum gelişme hızını ifade eder (Sigmoidal gelişme eğrisinin dönme noktasındaki teğetin tanjantı). Görüldüğü gibi tüm parametreler kesikli kültürde gelişme kurvesinin parametreleridir.

- Bu modeli kullanarak ilginç bir problem çözelim. E. coli'nin hemen hemen tüm tiplerinin NB besi yerinde 37°C'de maksimum spesifik gelişme hızı  $\mu_{\max} = 4 \text{ h}^{-1}$  ve NB ortamında maksimum popülasyon yoğunluğu  $A = 10^9$  kob/ml kadardır.
- İki ayrı tüpte ayı veya benzer suşları geliştiriyor olalım. 1. Tüpte inhibitör yok. 2. Tüpte maksimum spesifik gelişme hızını dörtte birine indirecek kadar inhibitör olsun. Her iki tüpte de lag fazı sürelerini aynı (1 saat) kabul edersek, hesaplama kolaylığı için her iki bakterinin de başlangıç yoğunluğunu  $10^3$  kob/ml kabul edersek;
- **SORU: Her iki tüpün 24 saatlik kültürlerinde maksimum popülasyon yoğunlukları ne kadardır veya ne kadar farklı olur?**

$$A = \ln(x/X_0) = \ln(109/103) = \ln(106) = 6 * 2.3 = 13.8$$

1. Tüp:  $y = \ln\left(\frac{X}{X_0}\right) = 13.8 * \left\{ \exp\left[-\exp\left(\frac{4 * 2.718}{13.8}\right) (1 - t) - 1\right] \right\}$
2. Tüp:  $y = \ln\left(\frac{X}{X_0}\right) = 13.8 * \left\{ \exp\left[-\exp\left(\frac{1 * 2.718}{13.8}\right) (1 - t) - 1\right] \right\}$

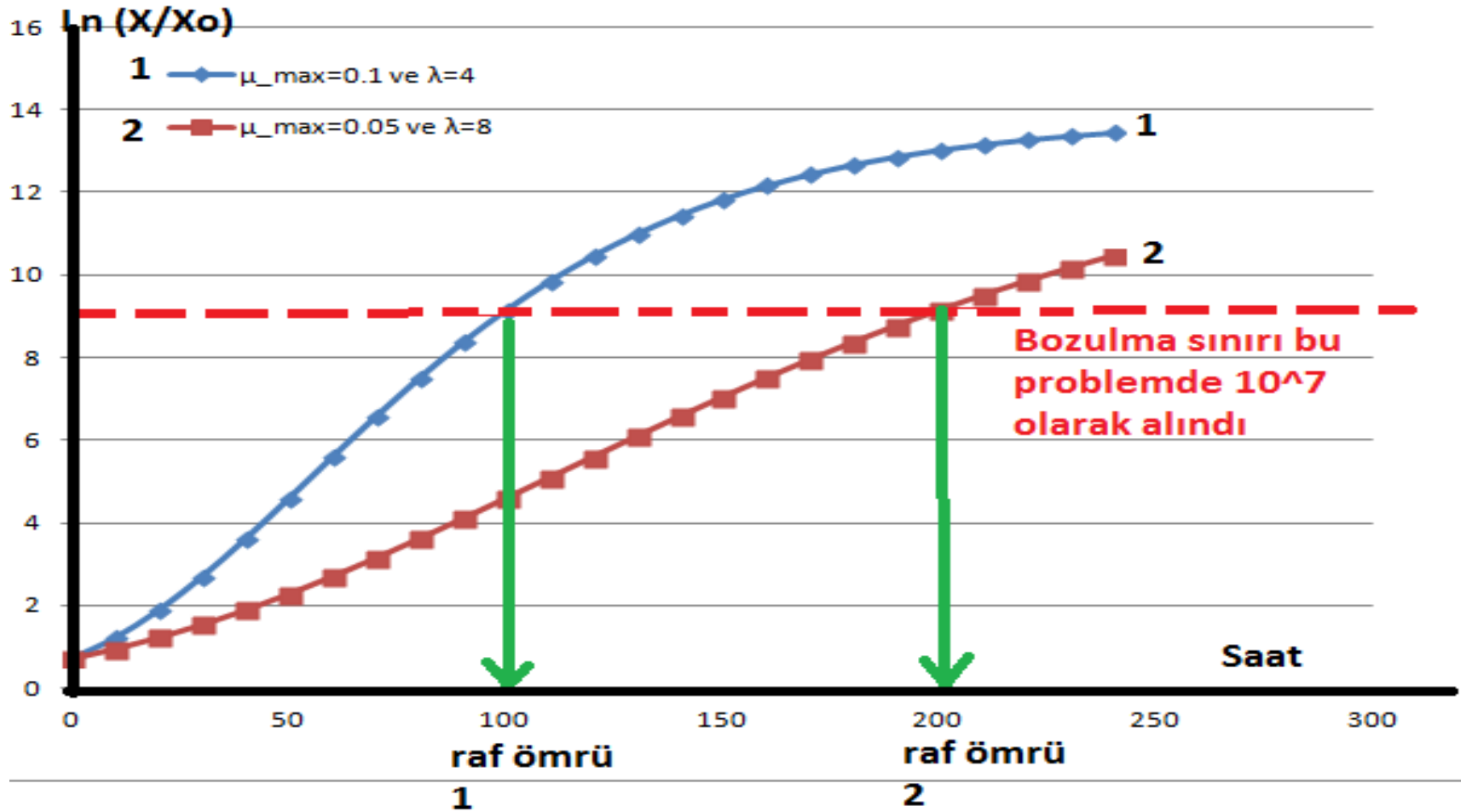


Görüldüğü gibi hemen hemen aynı değere gelirler. Ancak görüldüğü gibi 12 saatlik kültürlerinde sayılar bir dereceye kadar farklıdır.



- Eđer bu bir karışık kùltürde patojen olanı zenginleştirme denemesi ise başlangıç dùzeyleri “bilgisayar ortamında” farklı farklı ayarlanarak, 12 saatlik pasajlar yine “bilgisayar ortamında” kullanılarak çeşitli çözüm olanaklarına yaklaşılabilir veya kabaca bir optimizasyon yapılabilir. En azından sinama yanılmalar “bilgisayar ortamında” yapılarak bilgimiz pekiştirilebilir.

Bir başa problem: Raf Ömrü: Dominant mikroorganizmanın lag fazı süresini ne kadar uzatırsak ve maksimum spesifik gelişme hızını ne kadar düşürürsek; bu bakterinin bozulma sınırına kadar yükselmesini ne kadar geciktirebiliriz?



Modifiye gompertz denkleğinin yukarıda kullandığımız formunun küçük iki sorunu;

-Y ekseninin bizim alıştığımız Log10'a göre düzenlenmemiş olması ve

-y'nin populasyon yoğunluğu yerine t anındaki popülasyonun başlangıç popülasyonuna oranının ln'ini ifade etmesidir. Farklı başlangıç popülasyonlarını aynı grafikte karşılaştırmak zordur.

-Bu sorunları çözen modifikasyon aşağıdadır.

$$\log x = A + C \exp \left\{ -\exp \left[ 2.71 \left( \frac{R_g}{C} \right) (t_{lag} - t) + 1 \right] \right\}$$

Burada x: t anındaki; A başlangıç anındaki popülasyon densitelerini C: asimtot değerini değil ama asimtotik log artışı; R<sub>g</sub> ise Log cfu/h cinsinden gelişme hızını vermektedir. Tabii olarak bu değer spesifik gelişme hızından farklı bir şeydir.

# Çeşitli gelişme modelleri

Model	Equation	Modified equation <sup>a</sup>
Logistic	$y = \frac{a}{[1 + \exp(b - cx)]}$	$y = \frac{A}{\left\{ 1 + \exp\left[\frac{4\mu_m}{A}(\lambda - t) + 2\right]\right\}}$
Gompertz	$y = a \cdot \exp[-\exp(b - cx)]$	$y = A \exp\left\{-\exp\left[\frac{\mu_m \cdot e}{A}(\lambda - t) + 1\right]\right\}$
Richards	$y = a \{1 + v \cdot \exp[k(\tau - x)]\}^{(-1/v)}$	$y = A \left\{ 1 + v \cdot \exp(1 + v) \cdot \exp\left[\frac{\mu_m}{A} \cdot (1 + v) \left(1 + \frac{1}{v}\right) \cdot (\lambda - t)\right]\right\}^{(-1/v)}$
Stannard	$y = a \left\{ 1 + \exp\left[-\frac{(l + kx)}{p}\right]\right\}^{(-p)}$	$y = A \left\{ 1 + v \cdot \exp(1 + v) \cdot \exp\left[\frac{\mu_m}{A} \cdot (1 + v) \left(1 + \frac{1}{v}\right) \cdot (\lambda - t)\right]\right\}^{(-1/v)}$
Schnute	$y = \left\{ y_1 + \left(y_2 - y_1\right) \cdot \frac{1 - \exp[-a(t - \tau_1)]}{1 - \exp[-a(\tau_2 - \tau_1)]} \right\}^{1/b}$	$y = \left( \mu_m \frac{(1 - b)}{a} \right) \left[ \frac{1 - b \cdot \exp(a \cdot \lambda + 1 - b - at)}{1 - b} \right]^{1/b}$

<sup>a</sup>  $e = \exp(1)$ .

Tablodaki modeller zaman serisi halinde olan modellerdir ve hep sabit hacimde besiyeri içinde mikroorganizma yoğunluğunun değişimini modellemektedirler.

# İnaktivasyon Modelleri

- Çeşitli işlemlerle gıda içinde mikroorganizmaların inaktivasyonu gıda güvenliğinin en temel konularındandır.
- Çok yüksek düzeyde güvenlilik için işlem yapılır. Çünkü 1 ambalajda 1 tane bile canlı bakteri kalsa zaman içinde çoğalarak risk oluşturabilecektir.
- Bu yüksek düzede inaktivasyona ulaşıp ulaşılamadığını analizlerle belirlemek çok zor veya imkansız.
- Bu nedenle inaktivasyon modelleri çok önemlidir. Çünkü inaktivasyon denemeleri sayabileceğimiz kadar ama normalde gıdada rastlanmayacak kadar yüksek düzeyde bakteri yoğunlukları ile yapılır ve sonra modelleme prensipleri çerçevesinde bu gıdada rastlanan düzeylere çevrilir.

## İnaktivasyon Modelleri (devam)

- Bu alanda en eski model Bigelow (1921) modeli olup, termal ölüm sürelerinin sıcaklık yükselişi karşısında logaritmik olarak azalması ile ilgilidir. İlgili kaynakta matematiksel bir model göremedim, sadece yarı logaritmik kağıt üzerinde (ancak bunların y eksenini aritmetik, bağımsız değişken x eksenini logaritmik)

# THE LOGARITHMIC NATURE OF THERMAL DEATH TIME CURVES

W. D. BIGELOW

*From the Research Laboratory, National Cannery Association, Washington, D. C.*

In the article by Bigelow and Esty,<sup>1</sup> the term "thermal death point in relation to time" was used to designate the time necessary to destroy bacterial spores at a specified temperature, the kind of medium and its hydrogen-ion concentration also being given. In this article the term "thermal death time" is used to express the same idea.

shortest time required to kill them by a certain temperature. On the second, fourth and sixth curves these times are represented, respectively, by a cross and a dot. The 6 curves represent the results from 6 typical organisms taken from the table referred to. In this way it is made clear to which curve the various observation points belong. The curves are

Received for publication June 20, 1921.

<sup>1</sup> Jour. Infec. Dis., 1920, 27, p. 602.



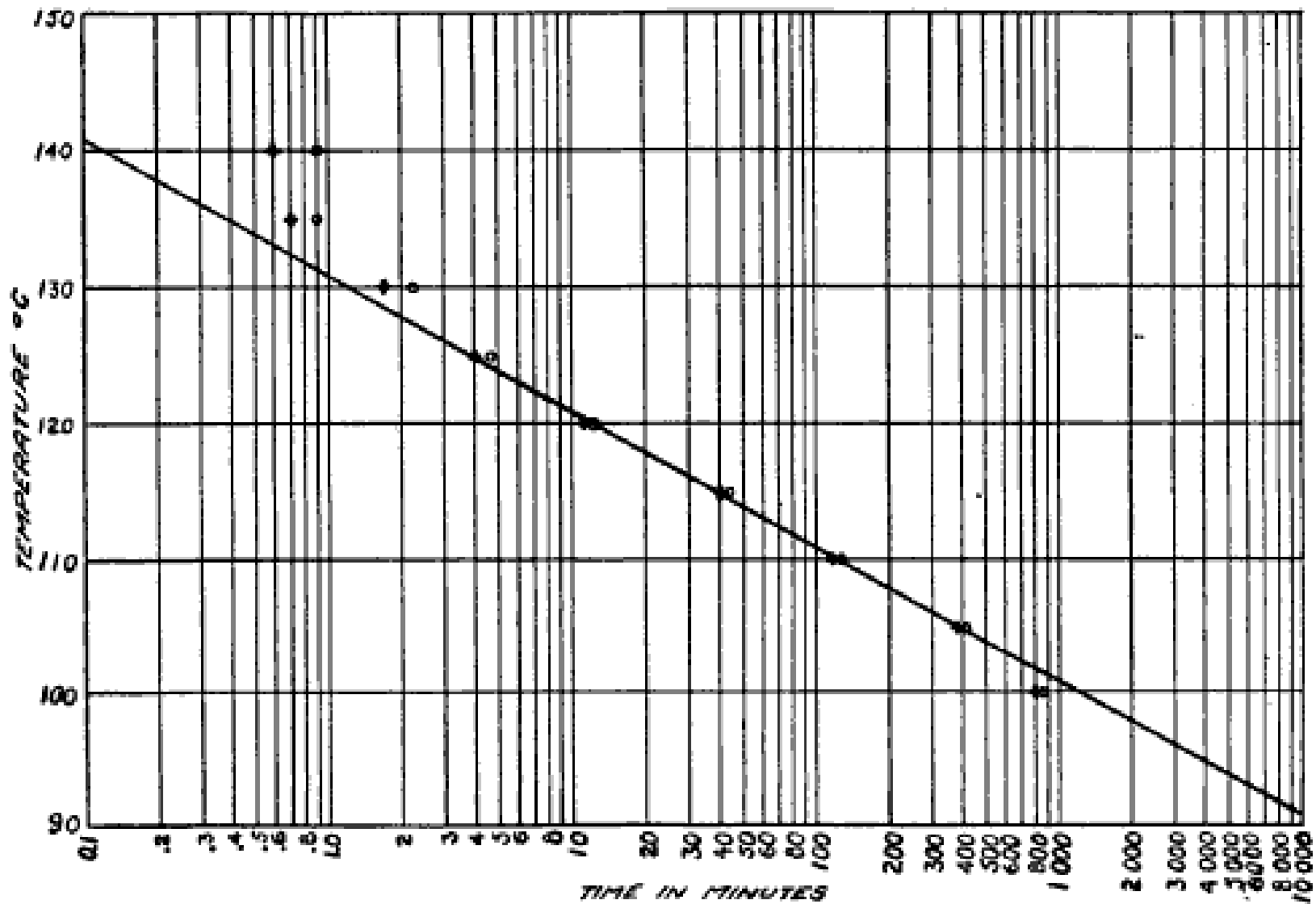


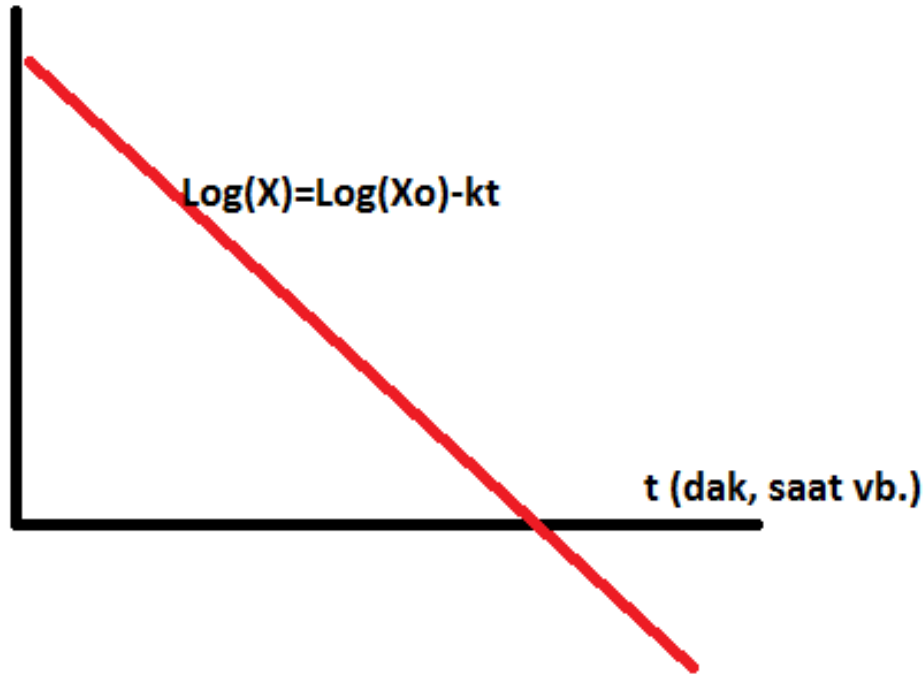
Chart 2.—Average thermal death time curve.

# İnaktivasyon Modelleri (devam)

- Çeşitli yazarlar bu modeli aşağıdaki gibi ifade ediyorlar.
- Birinci derece reaksiyon kinetiği (1. Tip model)

$$\frac{dx}{dt} = -k_d X \quad \rightarrow \quad X = X_0 e^{-k_d t}$$

Log(X); Ln(X)



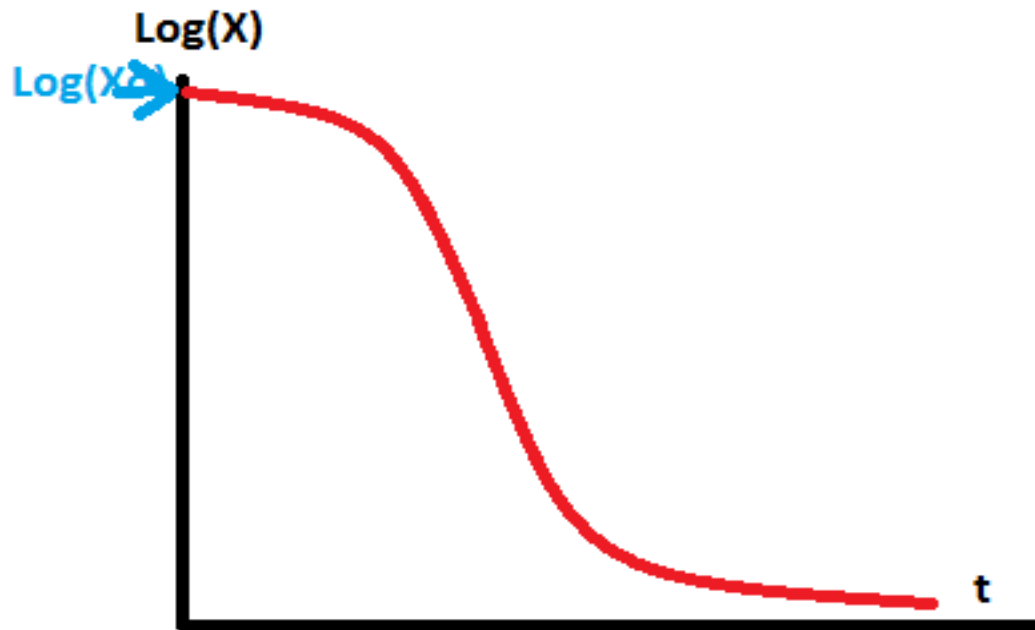
Ancak ölüm fazı genelde doğrusal değildir. Bu nedenle sigmoid veya hiperbolik modeller daha başarılı

# İnaktivasyon Modelleri (devam)

- Modifiye Gompertz (inaktivasyon için)

inactivation kinetics (Linton *et al.*, 1995; Xiong *et al.*, 1999; **Erkmen, 2001**)

$$\log \left( \frac{N_0}{N} \right) = \left( \frac{N_0}{N} \right)_0 - A \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{\mu e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$



# İnaktivasyon Modelleri (devam)

- Weibull Model
- İnaktivasyonun modellenmesinde günümüzde en yaygın kullanılan Weibull modelidir. Model aslında ekipmanların arıza verme sıklığını izah için geliştirilmiş olmakla birlikte günümüzde mühendislikte çok yaygın olarak kullanılmaktadır.
- Model;

$$f(t) = \frac{\beta}{\alpha} \left( \frac{t}{\alpha} \right)^{\beta-1} \exp \left( - \left( \frac{t}{\alpha} \right)^{\beta} \right)$$

Modelin asıl kullanılan şekli kümülatif formudur.

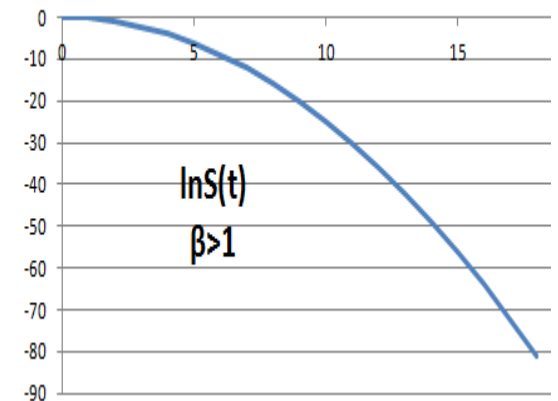
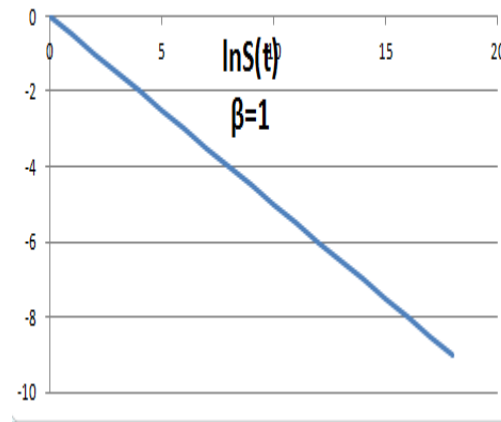
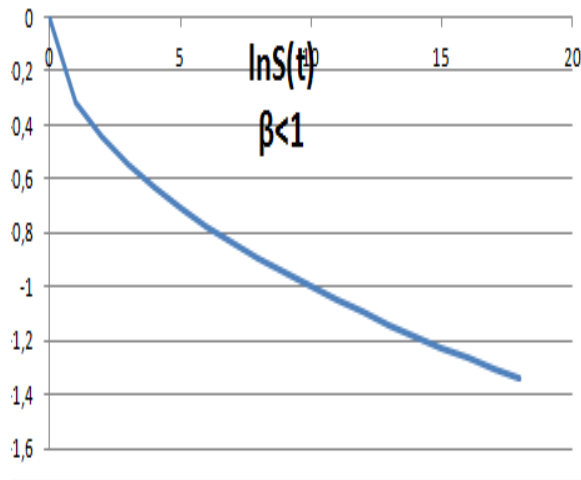
$$F(t) = e \left( - \left( \frac{t}{\alpha} \right)^{\beta} \right)$$

## Weibull model (devam)

Modelin kümülatif formunun ifadesi bize kusursuz olanların(mikroorganizmalarda canlı kalanların) oranını verdiği için biz bununla canlı kalma oranını, survivali  $S=N/N_0$  modelliyoruz bu durumda denklik;

$$\ln S(t) = -\left(\frac{t}{\alpha}\right)^{\beta}$$

B şekil parametresi  
 $\alpha$  skala parametresi



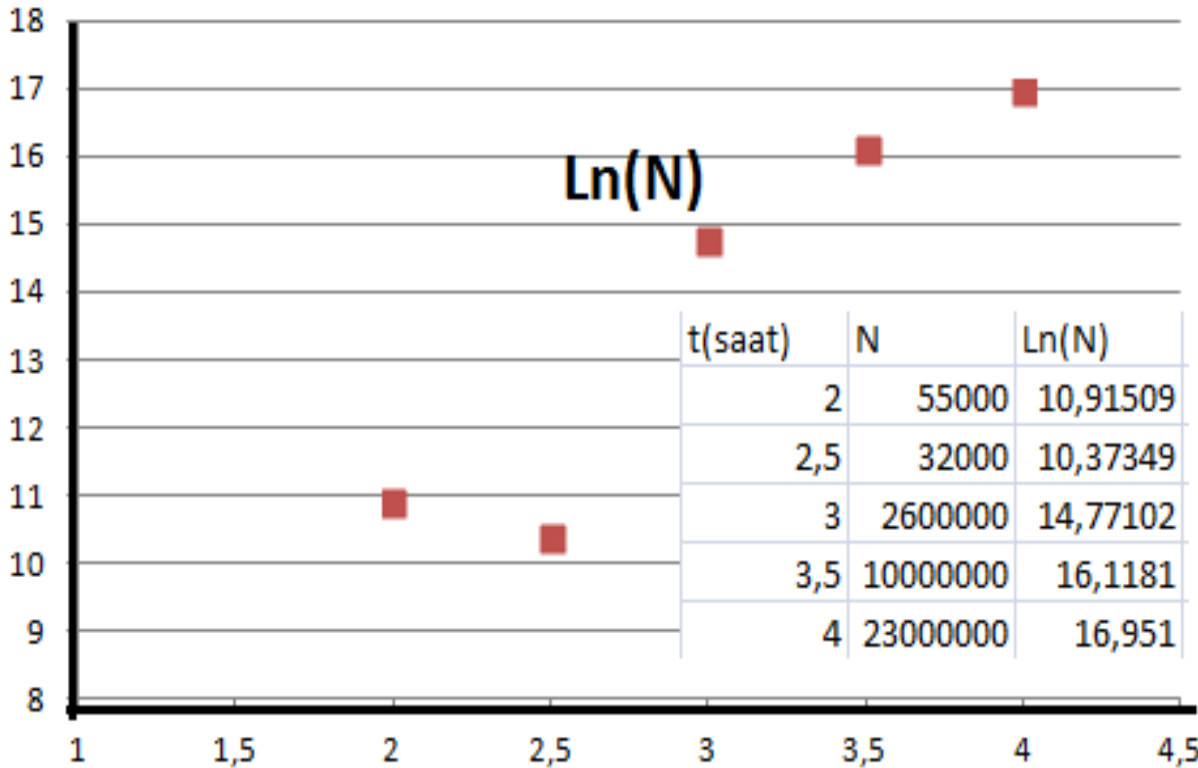
Tüm bu anlatılanlar modellerin parametrelerinin verilen değerlerde olması durumunda mikroorganizma sayısının nasıl azalacağı ve artacağı ile ilgilidir.

### **Model parametrelerini nasıl belirliyoruz?**

Deneyssel olarak belirlenirler. Belli şartlar altında mikroorganizma için çoğalma veya inaktivasyon denemesi kurulur.

Zaman süreci içinde deney ortamından alınan örneklerde mikroorganizma sayısı belirlenir ve zamana karşı sayıların değişimine ait regresyondan modelin katsayıları hesaplanır. Doğrusal modellerde bu basit olarak excel ile veya grafik üzerinde elimizle doğruyu çizerek bulunurken doğrusal olmayan modellerde daha spesifik programlar kullanılır.

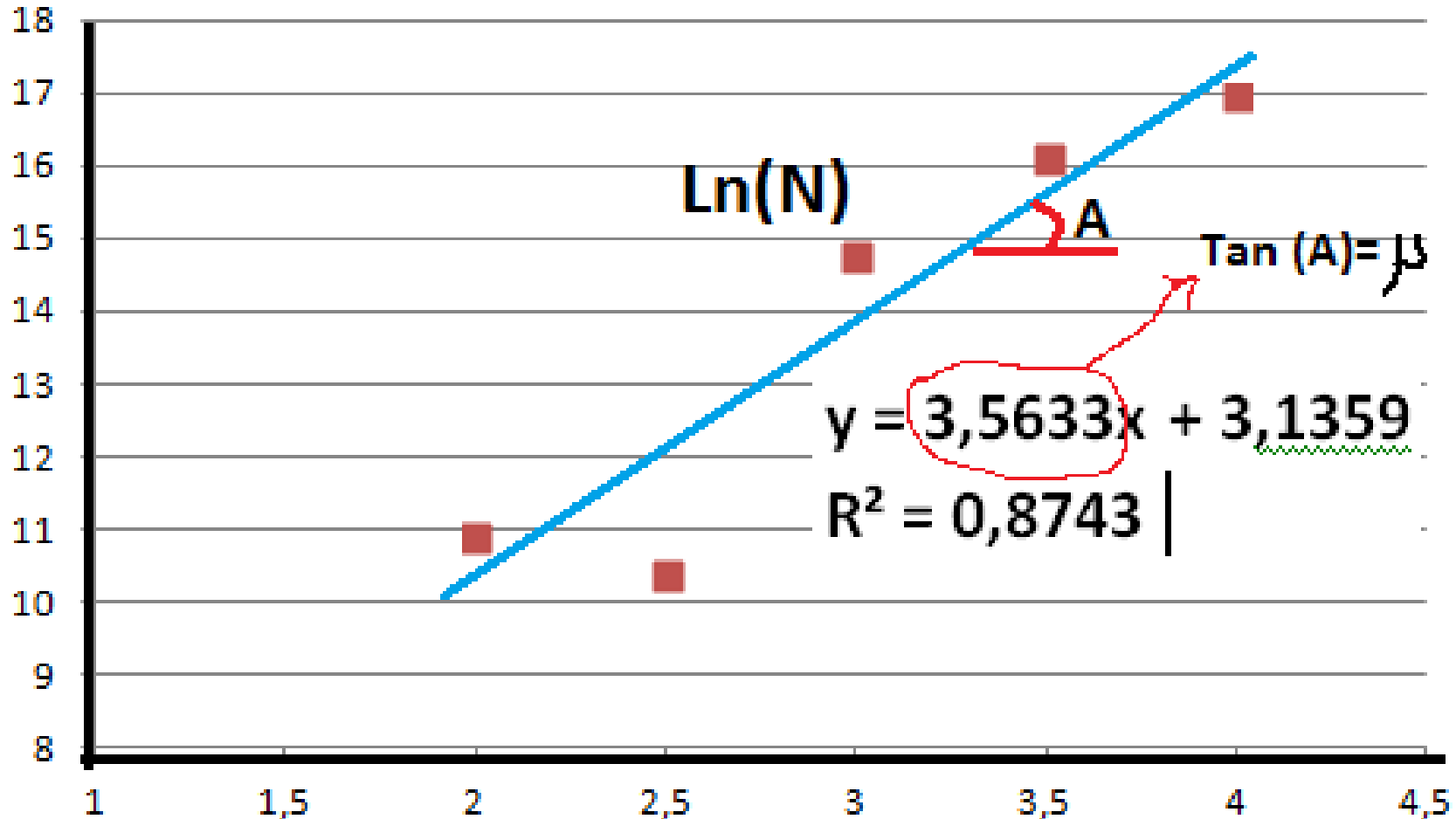
- Çok basit bir örnek yaparsak:
- NB ortamında 37C'de E. coli'nin spesifik gelişme hızını nasıl belirleriz. (başlangıç sayısı  $N_0=1000$  kob/ml olabilir)
- Çözüm: Sadece bu parametreyi hesaplayacağımız için NB oramına E. coli ekilir, logaritmik gelişme başladıktan



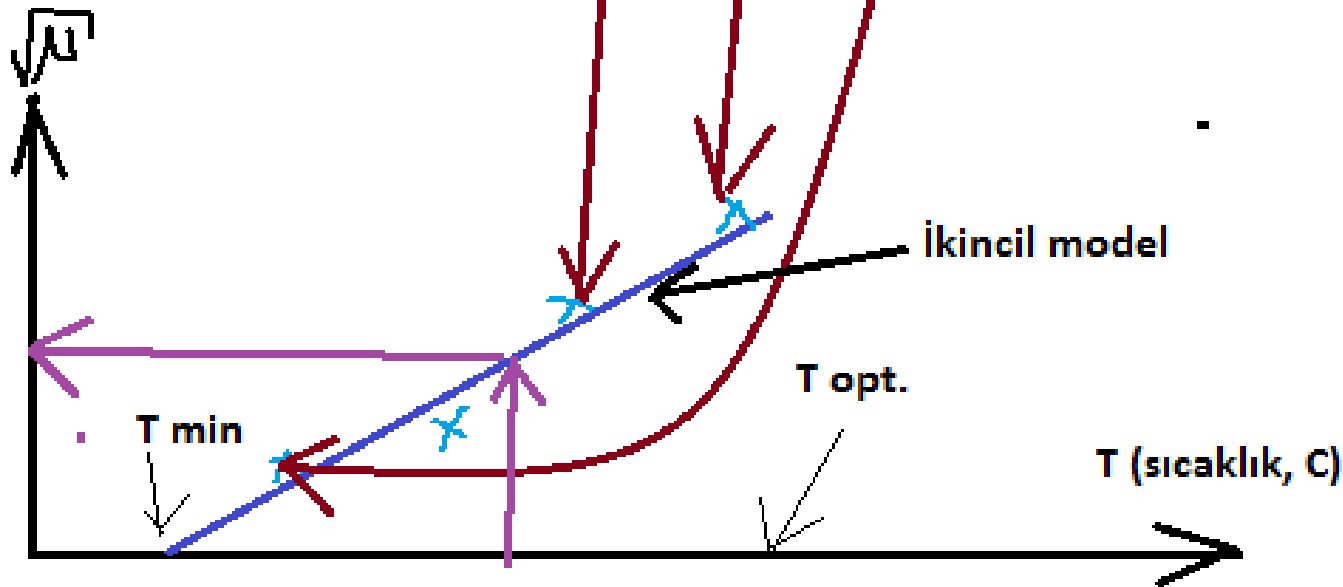
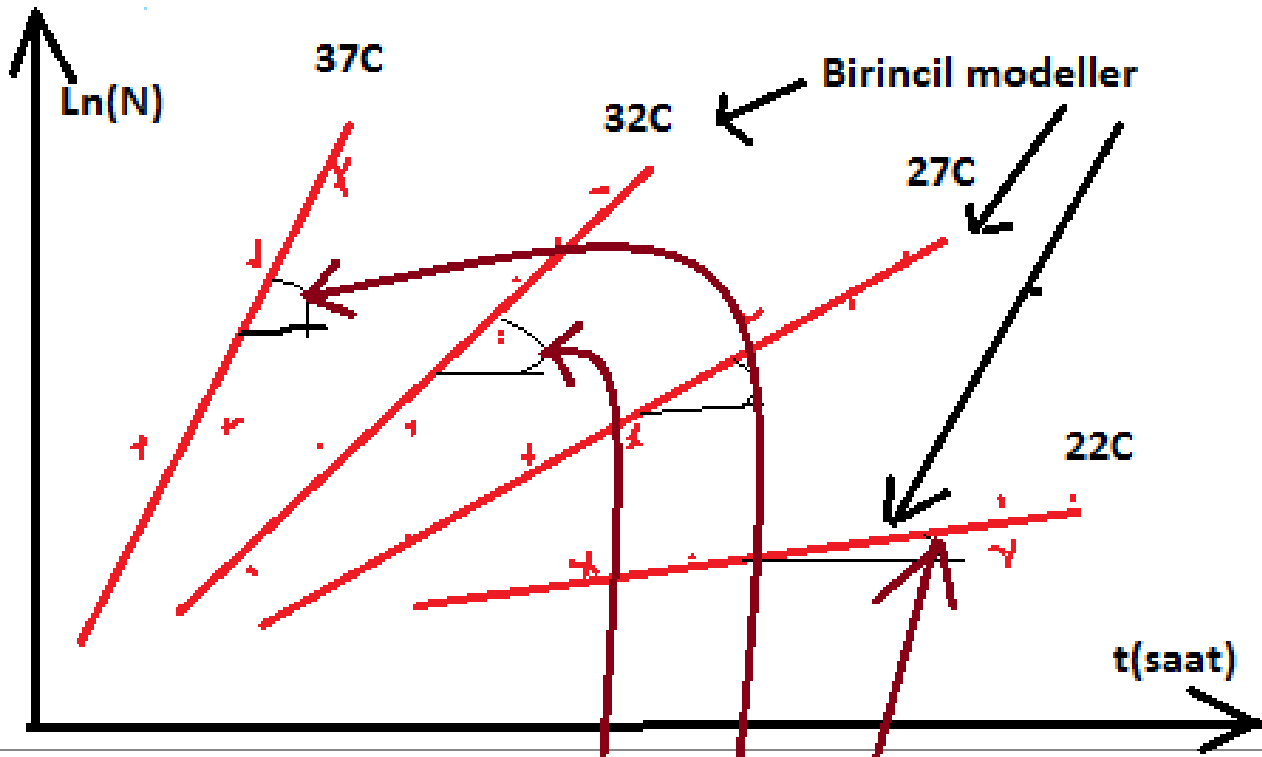
sonra kısa aralıklarla 3-5 örnek alınarak sayım yapılır (kültürel, mikroskopik vb.). Zamana karşı sayım sonuçları tablosu elde edilir.



- Daha sonra eğilim çizgisi eklenir bu çizginin eğimi bize spesifik gelişme hızını ( $\mu$ ) verir.



- Bu bulgu bize doğruladığımız zaman sadece E. coli'nin NB'da 37 C'de tam logaritmik gelişme anı için çeşitli inkübasyon süreleri için popülasyonun ne olacağını tahminde işe yarayabilir.
- Örneğin 30 C'de bu gelişme hızının ne olacağını bu deney bilgileri ile **belirleyemeyiz**.
- NB besiyerinde E. coli'nin farklı sıcaklıklarda gelişme hızını tahmin edebilmemiz için; yukarıdaki deneyin bir zaman serisi için yapılmış olması herbirinden hesaplanan " $\mu$ "nın sıcaklığa bağlı değişimi modellenmelidir. (Neyse ki Bunların çoğu yapılmıştır ve biz bunları veritabanlarından bulabiliriz)



Bu deneyi yaptıktan ve doğruladıktan sonra aşağıdaki grafiği seçtiğimiz sıcaklıkta spesifik gelişme hızının tahmininde kullanabiliriz (MOR OKLAR)

- **Tanım:**
- Birincil model; mikroorganizma sayısının zamana bağlı değişimini gösterir.
- İkincil model; birincil model parametrelerinin (laf fazı süresi, spesifik gelişme hızı vb.) ortam şartlarına (pH, Sıcaklık, su aktivitesi, inhibitör konsantrasyonu vb.) bağlı olarak değişimini gösterir
- Kombine model veya üçüncül modeller her iki model tipini iç içe içerir ve eğilim bu doğrudur.

# Modelleme alışmaları için bazı neriler

- Matematiksel model kullanarak hangi sorununuzu ozmek istediğinizi çok iyi bilmeniz gerekiyor. Olsa olsa mantığı ile uyduruk sonuçlarla sorunun ozulup ozulemeyeceğine bakın
- nce kaynaklarda var olan modelleri kullanarak onlarla aynı sonuçları ve sonra farklı sonuçları retin.
- Eğer veri tabanlarında test edilmiş güvenli modeller varsa doğrudan onları kullanın, en fazla kendi şartlarınızda farklılık var mı diye test edersiniz.
- Modellemede ortam şartlarının çok fazla ayrıntılarına gerek yok pH, aw (ve tuz), sıcaklık temel faktörler. Hangi gıda olursa olsun, şaşırtıcı biçimde bunların belirleyici olduğunu göreceksiniz.

# Modelleme alışmaları için bazı neriler

- İlk başlarda sadece 1 veya 2 faktör (sıcaklık ve pH gibi) ve full faktryal deneme düzenini tercih edin. Örnekleme aralıklarını mutlaka n denemelerle belirleyin. Kazara sayılamayacak kadar çok veya <10 durumlarına düşmemeye çalışın.
- Veri kalitesi çok önemlidir. Çalışma çok sağlıklı olmalı. Sayımda tercihan yayma plakayı kullanın, tekrarlanabilirliği daha iyi
- Deneme sonuçlarınızın bir kısmını (tercihan yarısını) doğrulama için ayırın.
- Aynı verileri diğer benzer modellerle de deneyin, hangisinin daha başarılı olduğunu ortaya koyan istatistiki testler var.
- İleriki çalışmalarınızda kombine metotlara ynelin, daha sağlam sonuçlar elde etme olasılığı var.

Beni dinlediğiniz için teŖekkür ederim