

MİKROORGANİZMALARIN ve ENZİMLERİN TERMAL İNAKTİVASYON PRENSİPLERİ

1. Isıl İşlemler

➤ Isıl işlemlerin gıdalarda uygulanmasının temel amacı; mikroorganizmaların tahrip edilerek etkisiz hale gelmesini sağlamaktır.

Ancak bunun yanı sıra;

- gıdanın fiziksel ve kimyasal yapıları
- besin değerinin korunarak
- minimum düzeyde kayıpların tutulmasını sağlamak gıda kalitesi açısından önemlidir.

Mikroorganizmaların ısıya karşı dirençleri de birçok faktörün etkisi altında değişkenlik göstermektedir.

- Isı işlem ile gıdalar mikrobiyolojik açıdan dayanıklı ve güvenli hale getirilirken ,
- aynı zamanda gıdanın bünyesinde bulunan ve biyokimyasal reaksiyonlarında rol oynayan enzimlerde inaktif hale gelmektedir.

- Mikrobiyolojide, sterilizasyon ortamda herhangi bir canlı organizmanın bulunmadığı ve tamamının öldürülmesi anlamını taşımaktadır
- Gıdalarda ise, sterilizasyondan sonra yüksek sıcaklığa dayanıklı termofilik bakteri sporları (örneğin; ısıya dirençli *Bacillus sporları*, termofilik *Bacillus stearothermophilus sporları* gibi) kalabilmektedir. Söz konusu bu sporlar, çalışmaları ve çoğalmaları için gerekli ortamı normal koşullarda hermetik kaplarda ambalajlanan gıdalarda bulamadıkları için inaktif durumdadırlar. Bu nedenle gıda endüstrisinde uygulanan sterilizasyon **“ticari sterilizasyon”** olarak tanımlanır.

Isıl işlem koşullarının bilimsel olarak sayısal değerler olarak belirlenmesi için gerekli iki faktör bulunmaktadır.

- Bozulmaya neden olan mikroorganizmaların ısıya karşı dirençleri
- Isıl işlem sırasında ambalaj içinde ısı aktarımı

Isıl İşlem Koşullarının Belirlenmesi

Üç aşamadan oluşmaktadır.

- Test mikroorganizmasının ısıl direncinin deneysel olarak saptanması
- Isıl işlem uygulanacak gıdada ısı aktarımına ait verilerin deneysel olarak belirlenmesi
- Birinci ve ikinci aşamadan elde edilen veriler ile sıcaklık ve süre koşullarının hesaplanması

Isıl işlem koşullarının belirlenmesinde gıdanın **asitliği (pH değeri)** önemlidir.

- Örneğin $\text{pH} > 4.5$ den büyük olan **düşük asitli** gıdalarda bozulma riski daha fazladır
- $\text{pH} < 4.5$ den küçük olan **yüksek asitli** gıdalarda ısı işlem ile kısa sürede bozulma etmeni olan mikroorganizma tahrip edilebilmektedir.

2. Isıl İşlemlerde Temel İlkeler

- Bir ısıl işlemin etkinliğinin hesaplanması için ısıl işlem açısından önemli olan mikroorganizmanın ısıl direnç özelliklerinin (Z- ve F- değeri) bilinmesi gerekir.
- Isının mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkisini açıklayan görüş; mikroorganizmaların yapısında bulunan proteinler ısı etkisi ile denature ve enzimlerde inaktif olduğu için mikroorganizmanın ölmesidir.

2.1. Isı direncini etkileyen faktörler

Mikroorganizmaların ısıya karşı sabit olmayıp içinde buldukları ortamın özelliklerine göre değişmektedir.

- pH
- Tuz
- Şeker
- Protein
- Yağ
- Tat ve Aroma Maddeleri ve Koruyucu Maddeler
- Mikroorganizma Yaşı

2.2. Isıtma Süresine Bağımlı Mikroorganizmaların Öldürülmesi ve Termal Ölüm Süresi

- Isı mikroorganizmalar için öldürücüdür.
- Pastörizasyon veya sterilizasyon gibi termal (ısısal) işlemlerde mikroorganizmaların logaritmik bir «ölüm oranı» vardır.

Bu nedenle mikroorganizmalar ısıya maruz kaldığında ölüm oranı;

- hem termal sıcaklık derecesi
- hem de bu sıcaklıkta maruz kalma süresine bağlıdır.

Termal hesaplamalarda bazı bilgilere ihtiyaç vardır.

- Mikroorganizma sayısı (konsantrasyonu)
- Isıl işlem prosesinden sonra kalan kabul edilebilir mikroorganizma sayısı
- Hedef mikroorganizmanın termal dayanıklılığı
- Hedef mikroorganizmanın tahrip edilmesi için gerekli sıcaklık süresi

D –değeri:

D-değeri: sabit sıcaklıkta ortamdaki canlı mikroorganizma popölasyonununun %90' nın (1 log çevrimi) öldürölmesi için gerekli ısıtma süresidir (D -dakika).

Belirli bir mikroorganizma veya bakteri sporlarının süspansiyonu hazırlandıktan sonra sporların öldürölmesi için gerekli sıcaklıkta, ısının etki ettiği süre artırıldığında canlı mikroorganizma veya spor sayısı logaritmik olarak azalır.

Mikroorganizmaların ısı etkisiyle ölmeleri genel olarak birinci derecede reaksiyon kinetiğine uyar. Birinci dereceden hız ifadesinde ölüm hızı, bileşenin mevcut konsantrasyonu ile orantılıdır.

$$kc = -\frac{dc}{dt} \quad \text{Burada;}$$

$-dc/dt$ \longrightarrow mikroorganizma konsantrasyonunun azalma hızı

c \longrightarrow canlı mikroorganizma konsantrasyonu

k \longrightarrow birinci dereceden reaksiyon hız sabiti

$$t = D \log a \frac{a}{b}$$

t \longrightarrow ısıtma süresi

D \longrightarrow D-değeri (dakika)

a \longrightarrow başlangıç mikroorganizma sayısı

b \longrightarrow canlı kalan mikroorganizma sayısı

- D –değeri sıcaklığa bağılı bir değer olduğu için hangi sıcaklığa ait olduğu D harfinin altına yazılan rakamla D_{225} , D_{250} gibi belirtilir. Burada sıcaklık Fahrenheit derecesi olarak ifade edilir ve gösterilir.
- Bir mikroorganizmanın D-değeri ne kadar büyükse o mikroorganizma ısıya o kadar dirençlidir.
- D-değeri sabit sıcaklıkta hedef mikroorganizmanın 1 log çevrimi yada %90 öldürmek için geçen süredir.

Örneğın;

D değeri 72 C°de 1 dk anlamı; hedef mikroorganizma popülasyonuna 72 C° de uygulandığında her 1 dk da %90 azaldığıdır.

2.3. Sıcaklığa Bağımlı Mikroorganizmaların Ölümü

- Sıcaklık ne kadar yüksek ise bir ortamdaki mikroorganizmaların vejetatif hücreleri ve sporları daha kısa sürede öldürülebilmektedir.
- Isıl işlemlerde yeterli güvenilirlik elde edilebilmesi için ısıya en dayanıklı bakteri olan *Clostridium botulinum* sporlarının ortamdaki sayısının 10^{12} adet/mL' den 10^0 adet/mL' ye indirilmesi gereklidir.
- Bu nedenle özellikle düşük asitli ($\text{pH} > 4.5$) olan gıdaların sterilizasyonunda bu yaklaşım ile proses hesaplanır.

- En küçük bakteri hacmi yaklaşık 10^{-12} cm³ olduğu için 1 cm³ de en fazla 10^{12} bulunabilir.
- Dolayısıyla sterilizasyon koşullarının hesaplanmasında en yüksek bulaşma düzeyi olarak 10^{12} adet/mL konsantrasyon esas alınır.

Termal Ölüm Süresi (TÖS):

- Spesifik bakteri veya sporlarını spesifik bir sıcaklıkta öldürmek için ne kadar süre tutulması gerektiğini belirleyen süredir. Diğer bir deyişle, belirli sıcaklıklarda spor sayısını 10^5 adet/mL' den 10^0 adet/mL' ye indirmek için gereken süre termal ölüm süresidir.
- Yarı logaritmik kağıtta TÖS y-eksenine, sıcaklıklar x-eksenine kaydedildiğinde elde edilen eğri “termal ölüm süresi eğrisi” elde edilir.
- Termal ölüm süresi, grafiksel veya matematiksel formüller ile iki yolla belirlenebilir.

z-değeri:

- TÖS eğrisinin bir logaritmik çevrimi aşması için gerekli sıcaklık değişimi z-değeri olarak tanımlanır.
- TÖS eğrisinin eğimi $-1/z$ 'ye eşit olup bu değer reaksiyon hız sabitinin sıcaklığa bağımlılığını gösterir.
- $z=10$ demek 10 °F lık bir artışla ölüm süresinin $1/10$ azalmasıdır buna karşın $z=50$ ölüm süresinin $1/10$ azalması için 50 °F lık sıcaklık artışını gösterir. Diğer bir deyişle küçük z değerine sahip reaksiyonlar sıcaklıktan daha fazla etkilenir.

$$z = \frac{T1 - T2}{\log D2 - \log D1}$$

D- ve Z-değerleri mikroorganizmaların ısı dirençlerini yansıtan parametreleridir.

$$\frac{\log \theta - \log F_0}{T_{ref} - T} = \frac{1}{z}$$

F_0 = hedeflenen desimal azalmaya (S_N) ulaşmak için referans sıcaklık olan 121.1 C de ısıtılma süresi

θ = herhangi bir T sıcaklıkta F_0 sağlamaya yeterli ısıtma süresi

$$\theta = F_0 10^{(121.1 - T)/z}$$

Bu genellikle 121 C° sıcaklıkta dakikaları ifade eder ve F_0 olarak gösterilmektedir. Her 18 F veya 10 C sıcaklıktaki değişim zamanda 10 faktör değişime neden olur. $F_{121}^{10} = 10$ dakika veya $F_{250}^{18} = 10$ dakika şeklinde gösterilir.

Eğer herhangi bir T sıcaklığında F_0 değerini sağlamaya yeterli θ süresi dışında herhangi bir t süre ısıtma uygulanmışsa sağlanan letalite ise aşağıdaki eőitlikle hesaplanabilir.

Lethal oran, diğer T sıcaklıklarında 1 dakikada sterilizasyon etkisidir. Buna göre;

$$L = 10^{(T-T_{Ref})/z}$$

T_{Ref} = referans sıcaklık genellikle 250 F veya 121.1 C

z = z- değeri

T = en düşük ürün sıcaklığı

F-değeri:

- Spesifik bir mikroorganizmanın spor veya hücrelerinin öldürebilmesi için ısıнын belli bir referans sıcaklıkta dakika cinsinden eşdeğeridir. F-değeri söz konusu sıcaklıkta mikroorganizmanın tamamen imha edilmesi için gerekli süredir.
- Bununla birlikte ölüm logaritmik olarak geliştiği için tümünden imhaya ulaşmak imkansızdır. Bu nedenle, spesifik sıcaklıkta verilmiş F değerini, o sıcaklıkta ancak belli sayıda mikroorganizmaların ısıya dirençleri Termal Ölüm Süresi olarak bilinir.

$$F = \tau \times 10^{\left(\frac{T-250}{Z}\right)}$$

Sterilizasyon değeri:

$$SD = \log \frac{a}{b} = \frac{t}{D}$$

$\log \frac{a}{b}$ = ısıı işlemin sterilizasyon değeri denir.

Bir ısıı işlemde ulaşılan desimal azalma sayısını verir. Bunun anlamı şöyle açıklanabilir.

Bir sterilizasyonda hedef alınan mikroorganizma sporlarının D değeri $D_{121}=1.2$ dk, uygulanan sıcaklık 121 C de 7. 2 dk olduğunu varsayalım.

$D=1.2$ dk olduğuna göre her 1.2 dk 1 desimal yani %90 mikroorganizma sayısında azalma olacaktır. Buna göre toplam 7.2 dk sonra kutudaki mikroorganizma sayısı 6 desimal ($7.2/1.2 = 6$) azalmış olur. Desimal azalma sayısı aynı zamanda sterilizasyon değeri olduğuna göre sterilizasyon değeri 6 olur.

Arzu edilen sterilizasyon düzeyine ulaşmak için belli bir sıcaklıkta gerekli olan ısıtma süresine F değeri denir.

F değeri ile SD arasındaki bağıntı aşağıdaki formülde verilmiştir.

$$F = D \times SD$$

Isıl işlemlerle ilgili her türlü kaynak ve uygulamada daima “12 D” kavramı ile karşılaşılmaktadır.

12 D kavramının anlamı, daha önce de bahsedildiği gibi, ticari sterilizasyonda *C. botulinum* sporları bulunmasa bile bulunduğu varsayılarak spor sayısında 12 desimallik bir azalma sağlayacak etkinlikte olmalıdır. Son zamanlarda 12 desimal azalmadan çok 10^{-12} canlı kalma olasılığı benimsenmeye başlanmıştır. Dolayısıyla mikroorganizmanın başlangıç sayısı ne olursa olsun bozulma riski sabitlenmiş olmaktadır.

Enzimlerin inaktivasyonunda ısı işlem prensipleri

E-değeri : Gıdaların muhafazasında ısı işlem uygulaması ile enzimlerin inaktivasyonu da önem taşımaktadır. Enzimlerin belirli bir sıcaklıkta inaktif duruma getirilebilmeleri için gerekli süreyi belirten parametre ye “enzim inaktivasyon faktörü” veya “E-değeri” adı verilmektedir.

Yarı logaritmik kağıtta E-değerine ait eğrinin eğiminden z-değeri hesaplanabilmektedir.

Isıl direnci en yüksek patojen veya bozulma etmeni mikroorganizmanın seçilmesi gibi depolama sırasındaki ürün kalitesini etkileyecek ısı direnci en yüksek enzim temel alınmaktadır.

c-değeri: Ayrıca gıdalarda beslenme fizyolojisi ve duysal özellikler yönünden vitaminlerin parçalanması sonucu olumsuz olan değişimler (renk, tat ve yapısal değişimler) ortaya çıkmaktadır.

Isıl İşlem Sırasında Üründe Isı Aktarımı

- Isıl işlem koşullarının belirlenmesinde ikinci parametre, ısıl işlem ambalajlı üründe ısı aktarımıdır.
- Isıl işlem uygulanan gıdanın sıcaklığı, öngörülen sıcaklığa bir anda erişebiliyor ve biranda soğuması sağlanabiliyorsa bu işlemin sterilizasyon değeri çok kolaylıkla hesaplanabilir. Sıvı haldeki süt gibi gıdaların muhafazasında kullanılan UHT, HTST gibi yöntemlerde bu prensiple hesaplamalar yapılabilmektedir.
- Ancak ambalaj içerisinde (kutu, şişe) doldurulduktan sonra yapılacak sterilizasyon işleminde gıdanın bir anda istenilen sıcaklığa ulaşması mümkün olmadığı için ambalaj içerisinde sıcaklık dağılımı da farklı olabileceğinden yukarıda açıklandığı şekilde hesaplamalar mümkün olmamaktadır.