



TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU

THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL
RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

VURGULU ELEKTRİK ALAN TEKNİĞİ (VEAT)
KULLANILARAK GIDALARDA PATOJEN VE
BOZULMAYA SEBEP OLAN MİKROORGANİZMALARIN
İNAKTİVASYONU İÇİN BİR PROTOTİP CİHAZ
GELİŞTİRİLMESİ

21

PROJE NO : 198E022

2002 - 40

Elektrik, Elektronik ve Enformatik Araştırma Grubu

Electric, Electronics and Informatics Research
Grant Committee

**TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU**

**THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL
RESEARCH COUNCIL OF TURKEY**

**VURGULU ELEKTRİK ALAN TEKNİĞİ (VEAT)
KULLANILARAK GIDALARDA PATOJEN VE
BOZULMAYA SEBEP OLAN MİKROORGANİZMALARIN
İNAKTİVASYONU İÇİN BİR PROTOTİP CİHAZ
GELİŞTİRİLMESİ**

21

PROJE NO : 198E022

2002 - 40

21

Prof.Dr. Osman SEVAİOĞLU

**KASIM 2001
ANKARA**

Önsöz

Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Elektrik-Elektronik ve Enformatik Araştırma Grubu, Yürütme Komitesi Sekreterliği tarafından desteklenen bu projede Yüksek Gerilim Altında Vurgulu Elektrik Alan Tekniği (VEAT) kullanılarak gıdalarda patojen ve bozulmaya yol açan mikroorganizmaların inaktivasyonu için bir prototip düzenek geliştirilmiş ve bu düzeneğin mikrobiyal inaktivasyon üzerinde etkinliği araştırılmıştır.

Teşekkür

Proje Grubu, öncelikle Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Elektrik-Elektronik ve Enformatik Araştırma Grubu, Yürütme Komitesi Sekreterliği olmak üzere, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Elektrik ve Elektronik ve Gıda Mühendisliği Bölümü Başkanlıkları, Mudurnu Tavukçuluk A.Ş.'ye araştırma çalışmalarına göstermiş oldukları destek için teşekkür eder.

Proje Grubu

Proje Yürütücüsü

Prof. Dr. Osman SEVAİOĞLU, Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Bölümü, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara

Proje Yöneticisi Yrd.

Prof. Dr. Faruk BOZOĞLU, Gıda Mühendisliği Bölümü, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara

Araştırmacılar

Prof. Dr. Mirzahan HIZAL, Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Bölümü, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara

Sibel DAMAR, Araştırma Görevlisi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara

İçindekiler

ÖNSÖZ	2
İÇİNDEKİLER.....	3
TABLolar.....	6
ŞEKİLLER.....	7
ÖZ.....	9
ABSTRACT.....	10
PROJE ANA METNİ.....	11
1. Giriş	11
2. Genel	12
3. Düzenek ve Yöntem	14
3. 1. VEAT Düzenegi.....	14
3. 2. VEAT'ın test örneklerine uygulanması.....	15
4. Bulgular ve Değerlendirme	19
4. 1. VEAT uygulaması sonucunda canlı kalan <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 yüzdeleri (20 kV/cm, 5°C).....	19
4. 2. VEAT uygulaması sonucunda canlı kalan <i>Staphylococcus Aureus</i> yüzdeleri (20 kV/cm, 5°C).....	23
4. 3. Başlangıç hücre konsantrasyonunun <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 inaktivasyonuna etkisi	25
(20 kV/cm, 5°C).....	25
4. 4. <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 ve <i>Staphylococcus Aureus</i> hücrelerinin VEAT sonrası yaralı yüzdeleri (20 kV/cm, 5°C, 10 ⁷ cfu/ml).....	26
4. 5. <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 ve <i>Staphylococcus Aureus</i> inaktivasyon kinetikleri.....	27
5. Sonuç	34
REFERANSLAR.....	35

Tablolar

Tablo 4. 1. Farklı vurgu sayılarında canlı kalan <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 yüzdeleri. (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10 ⁷ cfu/ml, vurgu sayısı : 10, 30, 40, 60).....	19
Tablo 4. 2. Farklı vurgu sayılarında canlı kalan <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 yüzdeleri. (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10 ⁴ cfu/ml, vurgu sayısı :10, 30, 40, 60).....	21
Tablo 4. 3 Farklı vurgu sayılarında canlı kalan <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 yüzdeleri. (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10 ⁴ cfu/ml, vurgu sayısı :5, 10, 15, 20, 25, 30).....	22
Tablo 4. 4 Canlı <i>Staphylococcus Aureus</i> yüzdeleri. (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10 ⁷ cfu/ml, vurgu sayısı : 10, 20, 30, 40, 60).....	23
Tablo 4. 5 <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 yaralı mikroorganizma hücre yüzdeleri.....	27
Table 4. 6 <i>Staphylococcus Aureus</i> yaralı mikroorganizma hücre yüzdeleri.....	27
Tablo 4. 7 <i>Escherichia Coli</i> O157:H7'nin VEAT ile inaktivasyonu için hesaplanan kinetik parametreler *.....	32
Tablo 4. 8 <i>Staphylococcus Aureus</i> 'un VEAT ile inaktivasyonu için hesaplanan kinetik parameterler*	32

Şekiller

Şekil 3. 1 Yüksek Gerilim Altında VEAT uygulaması için geliştirilen sistem.....	16
Şekil 3. 2 Çift aralıklı yüksek gerilim bipolar anahtar	17
Şekil 3. 3 Artı ve eksi polariteli darbe.....	17
Şekil 3. 4 Yüksek Gerilim Test Hücresi	18
Şekil 4. 1 Farklı vurgu sayılarında canlı kalan <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 yüzdeleri. (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^7 cfu/ml, vurgu sayısı : 10, 30, 40, 60).....	20
Şekil 4. 2. Farklı vurgu sayılarında canlı kalan <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 yüzdeleri (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^4 cfu/ml, vurgu sayısı :10, 30, 40, 60).....	21
Şekil 4. 3. Farklı vurgu sayılarında canlı kalan <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 yüzdeleri (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^4 cfu/ml, vurgu sayısı :5, 10, 15, 20, 25, 30).....	22
Şekil 4. 4 Canlı kalan <i>Staphylococcus Aureus</i> yüzdeleri (20 kV/cm, 5°C, Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^7 cfu/ml, vurgu sayısı : 10, 20, 30, 40, 60).....	24
Şekil 4. 5 <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 farklı başlangıç hücre sayılarında ölü hücre yüzdesi, vurgu sayısı 10.....	25
Şekil 4. 6 <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 farklı başlangıç hücre sayılarında ölü hücre yüzdesi, vurgu sayısı 30.....	26
Şekil 4. 7 <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 hücreleri için 10 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği.....	28
Şekil 4. 8 <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 hücreleri için 30 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği.....	28
Şekil 4. 9 <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 hücreleri için 40 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği.....	29
Şekil 4. 10 <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 hücreleri için 60 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği.....	29
Şekil 4. 11 <i>Staphylococcus Aureus</i> hücreleri için 10 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği.....	30
Şekil 4. 12 <i>Staphylococcus Aureus</i> hücreleri için 30 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği.....	30

Şekil 4. 13 <i>Staphylococcus Aureus</i> hücreleri için 40 vurgu sayısında elektrik alana karşılık $\ln s$ grafiği	31
Şekil 4. 14 <i>Staphylococcus Aureus</i> hücreleri için 60 vurgu sayısında elektrik alana karşılık $\ln s$ grafiği	31
Şekil 4. 15 <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 için vurgu sayısına (n) karşılık $\ln k_E$ grafiği	33
Şekil 4. 15 <i>Staphylococcus Aureus</i> için vurgu sayısına (n) karşılık $\ln k_E$ grafiği	33

Öz

Bu çalışmanın amacı, Yüksek Gerilim Altında Vurgulu Elektrik Alan Tekniği (VEAT) için bir deneysel düzenek işlevi görecek bir prototip düzenek geliştirmek ve bu düzeneğin gıdalardaki canlı mikroorganizma sayısının azaltılması üzerindeki etkisinin incelenmesidir.

Çalışmada, 20 kV/cm elektrik alanı üretebilen ve 100 mikrosaniyelik artı ve eksi polariteli logaritmik azalan vurgular veren bir VEAT uygulama düzeneği kurulmuştur. İki patojenik mikroorganizma; *Escherichia Coli* O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus*, G (+) ve G (-) modeller olarak sistemin etkinliği çalışmaları için kullanılmıştır.

Öncelikle *Escherichia Coli* O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* mikroorganizma hücrelerinin değişen vurgu sayısı ve elektrik alan şiddetine karşı canlı kalma oranları incelenmiştir. *Staphylococcus Aureus* hücrelerinin *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerine göre daha dirençli olduğu görülmüştür. Mikroorganizmalara 20 kV/cm elektrik alan şiddetinde 60 vurguya kadar VEAT uygulanmış ve her iki mikroorganizma canlı hücre sayısında da 2 log düzeyinde bir azalma kaydedilmiştir. Canlı mikroorganizma hücrelerinde inaktivasyonun vurgu sayısı ile arttığı gözlemlenmiştir.

Escherichia Coli O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* hücreleri 12, 14, 16 ve 20 kV/cm şiddetindeki elektrik alanlara tabi tutulmuş ve elektrik alan şiddeti için inaktivasyon kinetiği araştırılmıştır. Sonuçlar *Escherichia Coli* O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* hücrelerinin birinci dereceden reaksiyon kinetiği izlediğini göstermiştir.

Araştırmanın diğer bir kısmı ise, başlangıçtaki hücre konsantrasyonunun inaktivasyon miktarı üzerindeki etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla *Escherichia Coli* O157:H7 mikroorganizması farklı başlangıç hücre konsantrasyonlarında, 20 kV/cm'de 10 ve 30 vurguya tabi tutulmuştur. Başlangıç hücre konsantrasyonu azaltıldığında daha fazla inaktivasyon elde edilmiştir.

Araştırmada, ayrıca, mikroorganizmalara 20 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinde VEAT uygulandıktan sonra yaralı mikroorganizma hücrelerin sayısı incelenmiştir. Sonuç olarak, *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerinde vurgu sayısına bağlı olarak % 35, 92 ile % 43, 36 arasında değişen, ve *Staphylococcus Aureus* hücrelerinde % 17, 26 ile % 30, 86 arasında değişen miktarlarda yaralı mikroorganizma hücreleri bulunduğu tesbit edilmiştir.

Araştırma sonunda, kurulan deneysel düzeneğin VEAT uygulama parametrelerini sağladığını ve canlı hücrelerin inaktivasyonunda etkili olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler : Vurgulu Elektrik Alan, Patojenler, İnaktivasyon, Vurgu Sayısı, Elektrik Alan Şiddeti, Kinetik, Gıda Sterilizasyonu, Escherichia Coli, Staphylococcus Aureus

Abstract

The main objective of this study was to construct an experimental test set-up for high voltage Pulsed Electric Field Technique (PEF) and study its effect on reducing viable cell counts. In this study, a PEF Treatment System with a capacity of producing 20 kV/cm electrical field and giving 100 microseconds exponential decaying bipolar pulses was constructed. Two pathogenic microorganisms; *Escherichia Coli* O157:H7 and *Staphylococcus Aureus* were used as G (+) and G (-) models for the effectiveness studies of the system.

Primarily, survival of *Escherichia Coli* O157:H7 and *Staphylococcus Aureus* cells to varying pulse numbers and electric field strengths was measured. It was concluded that *Staphylococcus Aureus* cells were slightly more resistant than *Escherichia Coli* O157:H7 cells. A PEF treatment of 20 kV/cm (corresponding to 18.5 kV voltage) up to 60 pulses was applied to the microorganisms and nearly 2 log reduction was obtained in viable cell counts of both microorganisms. There was an increase in inactivation of viable cells with the increase in pulse number.

Escherichia Coli O157:H7 and *Staphylococcus Aureus* cells were treated by 12, 14, 16 and 20 kV/cm electric field strengths and kinetics of inactivation for electric field strength was investigated. Results showed that *Escherichia Coli* O157:H7 and *Staphylococcus Aureus* followed first order kinetics.

Effect of initial cell concentration on the inactivation rate was another part of the research. *Escherichia Coli* O157:H7 was treated by 10 and 30 pulses of 20 kV/cm starting with different initial cell concentrations. More inactivation obtained by decreasing initial cell concentration.

Any possible injury by PEF was also investigated after applying 20 kV/cm electric field to the microorganisms. As a result, it was determined that there was 35.92 % to 43.36 % injury in *Escherichia Coli* O157:H7 cells, and 17.26 % to 30.86 % injury in *Staphylococcus Aureus* cells depending on pulse number.

As a result, this research showed that the experimental set-up constructed for the application of PEF technique has satisfied the application parameters and was effective on the inactivation of viable cells.

Keywords : Pulsed Electric Field, Pathogens, Inactivation, Pulse Number, Electric Field Strength, Kinetics, Food Sterization, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*

Araştırma Projesi Ana Metni

1. Giriş

Bu araştırmada öncelikle Yüksek Gerilim Altında Vurgulu Elektrik Alan Tekniği (VEAT) için bir deneysel düzenek kurulması amaçlanmıştır. VEAT, gıda endüstrisinde patojen ve gıdaların bozulmasına yol açan mikroorganizmaların inaktivasyonu için uzun yıllardır benimsenen ve kullanılan ısıtma işlemi alternatif olarak geliştirilmiş yeni bir yöntemdir. Literatürdeki çalışmalar bu yöntem ile ısıtma işleminin gıda üzerinde yol açtığı proteinlerin bozulması, vitamin, tat ve besin değerlerindeki ciddi kayıpların minimum seviyeye ulaştırılması mümkün olabildiğini göstermiştir. Bu yöntemle gıda sıcaklığında belirgin bir artış olmaması nedeniyle enerji kayıpları da ısıtma oranla çok daha az olabilmektedir.

Araştırmada *Escherichia Coli O157:H7* ve *Staphylococcus Aureus* mikroorganizmaları kullanılmıştır. *Escherichia Coli O157:H7*, özellikle çocuklarda ve yaşlılarda böbrek yetmezliği ve ölümlere kadar ulaşan ciddi sonuçlara sebep olması bakımından gıdalarda hiç mevcut olmaması gereken bir Gram (-) mikroorganizmadır. Öte yandan, *Staphylococcus Aureus* ise, yarattığı semptomlar nedeniyle toplumda hastalıklara, iş gücü ve dolayısıyla ekonomik kayıplara yol açan bir Gram (+) mikroorganizmadır.

Araştırma projesi önerisinde belirtildiği üzere, öncelikle Yüksek Gerilim Altında Vurgulu Elektrik Alan Tekniği (VEAT) sistemi kurulması amaçlanmıştır. Proje kapsamında VEAT için uygun bir sistem geliştirilmiş ve test çalışmaları yapılmıştır.

Proje önerisinin ilk halinde, sistemin patojen ve bozulmaya sebep olan mikroorganizmalar üzerinde etkili olması, özellikle tavuk ve tavuk türevi gıdalar üzerinde çalışmalar yapılması planlanmıştır. Bununla birlikte, daha sonra, test hücrelerinin hacminin ve elektrot aralığının tavuk gibi katı gıdalar üzerinde çalışmaya uygun olmasının ortaya çıkması nedeniyle çalışmaların sıvı bir ortam üzerinde yapılması zorunluğu ortaya çıkmıştır.

Geliştirilen VEAT Düzenegi en yüksek 18.5 kV değerinde bipolar darbe gerilimi üretebilen bir sistemdir. Sistemin test edilmesi amacıyla *Escherichia Coli O157:H7* ve *Staphylococcus Aureus* hücreleri 0.1 %'lik Pepton solüsyonu içerisinde VEAT'a tabi tutulmuştur. Projede bu iki mikroorganizmanın değişen darbe sayılarında, değişen elektrik alan şiddetlerinde, değişen başlangıç hücre konsantrasyonlarında canlı kalma yüzdeleri ve bunun yanısıra inaktivasyon kinetikleri ve VEAT sonrasında yaralı mikroorganizma hücre yüzdeleri araştırılmıştır. Yaralı mikroorganizma hücre yüzdelerinin ve başlangıç hücre konsantrasyonunun mikroorganizma inaktivasyonu üzerindeki etkilerinin belirlenmesi literatürde bu konuda çok az bilgi olması bakımından önemlidir.

2. Genel

Toplumda gelişen refah seviyesi ile birlikte, tüketicinin kalite düzeyi yüksek gıdalara olan artan talebi alternatif gıda işlemlerinin araştırılmasına yol açmıştır. Yıllardır mikrobiyolojik açıdan güvenli gıdaların üretilmesi için ısıl işlem yöntemleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte, ısıl işlemin gıdada tat, koku ve besin değerlerinde kayıplar gibi olumsuz etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle, Yüksek Gerilim Altında Vurgulu Elektrik Alan Tekniği (VEAT) gibi gıdanın tat ve besin değerlerinde minimum kayıplara yol açan ve düşük enerji kullanımı sağlayan ısıl işlemler günümüzde büyük önem kazanmıştır.

Gıdalarda patojen ve bozulmaya yol açan mikroorganizmaların inaktivasyonu için elektrik alan kullanılması fikri ilk olarak 1920'li yıllarda ortaya çıkmış ve çalışmalar günümüzde yüksek gerilim altında VEAT düzeneği kullanımı ile süregelmiştir. Bu düzende elektrik alan şiddeti hücre zarında potansiyel farkı oluşmasına neden olmaktadır. Hücre zarının her iki tarafında oluşan zıt yönlü elektrik yükleri birbirini çekmekte ve zar üzerinde belli bir basınç oluşturmaktadır. Bu basınç sonucunda hücre zarı giderek incelmekte ve geçirgenliği artmaktadır. Elektrik alan şiddeti belli bir düzeye ulaştıktan sonra hücre zarı parçalanarak hücrenin inaktivasyonu gerçekleştirilmiş olmaktadır (Zimmermann, 1981).

VEAT literatür çalışmalarında çeşitli solüsyonlar ve gıdalarda farklı mikroorganizmalar üzerinde uygulanmış ve VEAT Düzeneği ile inaktivasyonu etkileyen faktörler araştırılmıştır. Bu araştırma sonunda, VEAT Düzeneği ile inaktivasyonu etkileyen başlıca faktörlerin; elektrik alan şiddeti, uygulama zamanı, VEAT Düzeneği, uygulama sıcaklığı, darbe dalga şekli, mikroorganizmaların tipi, mikroorganizmaların üreme safhaları, sıvının iletkenliği ve pH değeri olduğu görülmüştür (Pothakamury *et al.*, (1996), Vega-Mercado *et al.*, 1996a-b, Liu *et al.*, 1997, Reina *et al.*, 1998, Qin *et al.*, 1994, Zhang *et al.*, 1994b, Pothakamury *et al.*, 1995, Qin *et al.*, 1998, Raso *et al.*, 1998, Martin *et al.*, 1996, Zhang *et al.*, 1994c).

VEAT uygulama sıcaklığının inaktivasyondaki etkisi üzerine yapılan çalışmalar sıcaklık arttıkça daha fazla inaktivasyon sağlandığını göstermektedir. Reina *et al.* (1998) *Listeria Monocytogenes* hücrelerinde 30 kV/cm düzeyinde bir elektrik alanında 50° C sıcaklıktaki ortamda 4 log düzeyinde, ve 10, 25, 30°C sıcaklıklarda 2.5 ile 3 log arasında bir azalma elde etmişlerdir. Marquez *et al.* (1997) VEAT'ın *Bacillus* sporları üzerinde 25° C'de 5-10° C'ye oranla daha etkili olduğunu görmüşlerdir. Liu *et al.* (1997) *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerinde 0° C'de 0.3 log düzeyinde bir azalma elde ederken, 25° C'de 1.1 log azalma elde etmişlerdir.

VEAT uygulanan sıvının iletkenliği ve pH'ının inaktivasyondaki etkisinin araştırıldığı çalışmalar, düşük iletkenliği olan sıvılarda VEAT'ın daha etkili olduğu ortaya konmuştur. Vega-Mercado *et al.* (1996b) *Escherichia Coli* hücrelerinde pH 5.9'da pH 6.82'ye oranla daha fazla inaktivasyon olduğunu göstermişlerdir.

Vurgu dalga şeklinin VEAT inaktivasyonundaki etkisinin araştırıldığı çalışmalar, çift polariteli vurguların tek polariteli vurgulara oranla ve karesel dalga şeklindeki vurguların eksponansiyel azalan vurgulara oranla daha etkili olduğunu göstermiştir (Qin *et al.*, 1994).

Farklı mikroorganizmalar üzerinde yapılan araştırmalar Gram (-) bakterilere oranla Gram (+) bakterilerin VEAT işlemine daha fazla dayanıklı olduklarını, büyük hücrelerin küçük alanlı olanlara göre daha duyarlı olduklarını ve bakteri sporlarının hücrelerine oranla daha fazla dayanıklı oldukları ortaya çıkmıştır. (Pothakamury *et al.*, 1995, Grahl and Markl, 1996, Raso *et al.*, 1998).

Elektrik alan şiddetinin VEAT'la inaktivasyondaki etkisi üzerine yapılan çalışmalar elektrik alan şiddeti ile inaktivasyonun arttığını göstermektedir. Bu beklenen bir sonuçtur, zira, elektrik alan şiddetinin artması ile hücre zarı üzerinde oluşan potansiyel farkı da artmakta ve hücre zarı üzerinde daha büyük bir basınç oluşmasına neden olmaktadır. Elektrik alan şiddetinin inaktivasyon üzerindeki etkisi çeşitli şekillerde modellenmiş ve canlı kalan mikroorganizma sayısının elektrik alanla birinci dereceden reaksiyon kinetiği izlediği görülmüştür (Hülshager *et al.*, 1983, Martin *et al.*, 1997, Castro *et al.*, 1993).

Literatürde VEAT Düzenegi ile gıda patojenleri üzerinde yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olması nedeniyle bu projede gıda endüstrisinde önemli olan iki patojen üzerinde araştırma yapılmıştır.

Raporda, *Escherichia Coli* O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* hücrelerinin farklı koşullar altında (darbe sayısı, elektrik alan şiddeti, başlangıç hücre konsantrasyonu) inaktivasyonları, inaktivasyon kinetikleri ve VEAT sonrası yaralı hücre sayısı bulunması konularında yapılan araştırma sonuçları sunulmuş ve tartışılmıştır.

3. Düzenek ve Yöntem

3. 1. VEAT Düzenegi

Kurulan VEAT Düzenegi Şekil 3.1'de görüldüğü üzere, bir yüksek gerilim transformatörü (220/30000 V, 100mA), rectifier (1Amp, 40 kV), kondansatörler (0.25 µF, 20 kV), gerilim bölücüleri (DC, Impulse), ateşleme sistemi ve topraklama sisteminden oluşmaktadır. Bu sistem ile en fazla 20 kV gerilim ve 100 µs darbe genişliğinde artı ve eksi polariteli darbeler üretilebilmektedir.

Gıda sterilizasyonu amaçlı bir yüksek gerilim darbe generatörü tasarlanmış ve gerçekleştirilmiştir. Devre şeması Şekil 3.1.de verilen bu sistem başlangıçta, 20 kV'a kadar büyüklükte ve 100 µs süreli artı veya eksi polariteli yüksek gerilim darbeleri üretmek üzere tasarlanmış, ancak, daha sonra literatürde de açıklandığı gibi, bipolar, yani birbirini takip eden bir artı ve bir eksi darbeden oluşan bir darbe çiftinin çok daha etkili olduğu saptanmış ve çalışmalar bu yönde geliştirilmiştir. Bu amaca yönelik olarak kısa bir zaman aralığı (1-4 ms) ile ateşlenen biri artı diğeri ise eksi polariteli iki darbe generatörü içeren bir sistem tasarlanmıştır.

Darbenin başlatılabilmesi için yüksek gerilim devrelerini yüksek hızda kapatmakta kullanılan "Ignitron" olarak bilinen bir ateşleme düzeneginin kullanılması gerekmektedir. Ancak, maddi olanakların kısıtlı olması nedeniyle bu düzenegin yerine çift küre aralıklı özgün bir ateşleme sistemi tasarlanmış ve uygulanmıştır. Bu sistemin küre aralıkları ve ateşleme elektrodu uygun geometride ayarlandığı zaman başarılı ve kararlı bir şekilde çalıştığı gözlenmiştir. Bu sistemin teknik detayları Şekil 3.2. de verilmiştir. Ayrıca, bipolar darbe generatörünün ürettiği yüksek gerilim vurgu osilogram örneği de Şekil 3.3'te verilmiştir. Bunların dışında, sistem kapatıldığında veya emniyet kapısı açıldığında besleme gerilimini otomatik olarak kesen ve yüksek gerilim kondansatörlerini boşaltan otomatik emniyet düzenleri ile donatılmıştır.

Yüksek gerilim darbe generatörünün dışında gıda örneklerine yüksek gerilim darbelerinin uygulanması için, sözkonusu gerilim düzeyine dayanıklı, uygun izolasyon malzemelerinden yapılmış, kolayca doldurulup boşaltılabilen ve temizlenebilen, gıda maddelerine karşı etkileşimsiz ve konulan gıda örneğinin mümkün olan en büyük bir yüzdesine gerilimin uygulanmasına olanak veren bir test hücresi tasarlanmış ve gerçekleştirilmiştir. Bu, özellikle, örnekteki bakterilerin tamamına yakın bir yüzdesinin etkisiz hale getirilebilmesi için önemlidir. Ayrıca, test hücresinde elektrot açıklığını ve dolayısıyla örneğe uygulanan elektrik alan şiddetini ayarlamaya yarayan bir mekanizma da bulunmaktadır. Bunun için alçak gerilim elektrodu bilyalı ve vidalı bir sistemle donatılmıştır.

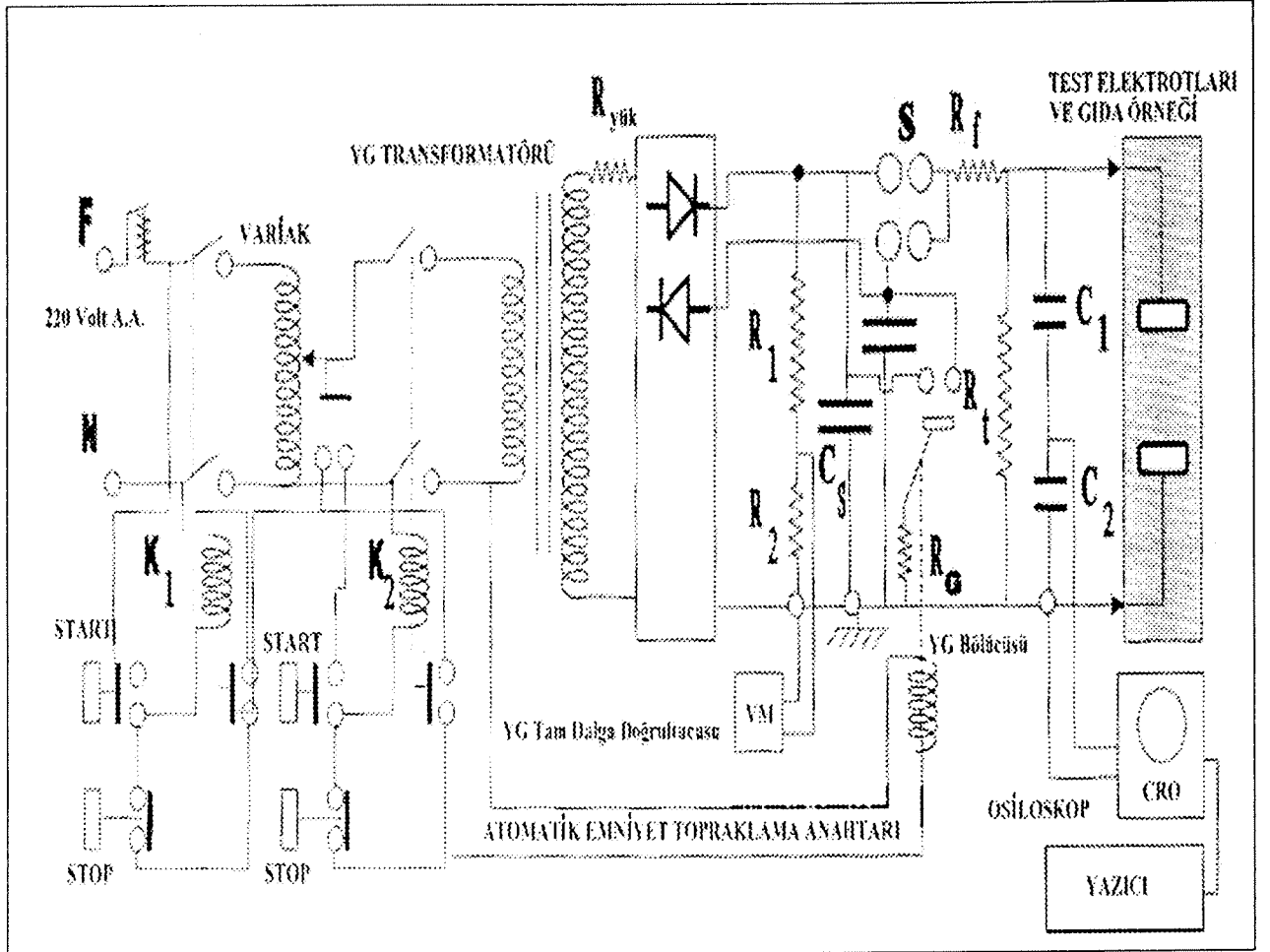
Araştırma için tasarlanan ve gerçekleştirilen yüksek gerilim test hücresinin detayları Şekil 3.4. de gösterilmiştir. Çalışmada, testler esnasında test hücresi yatay olarak

kullanılmakta, böylece elektrotlar arasında hava kabarcıkları kalması ve bunun sonucu olarak kisi deşarjların oluşumu önlenmektedir.

3. 2. VEAT'ın Test Örneklerine Uygulanması

Uygulama öncesinde test solüsyonu olarak (0.1 %'lik Pepton) hazırlanmış ve istenen hücre konsantrasyonuna getirilmek için Pepton solüsyonu kullanılarak seyreltilmiştir. Başlangıç konsantrasyonu bulunması amacıyla dökme plak yöntemi ile besi ortamına inokülasyonlar yapılmış ve besi ortamı 37° C'de 48 saat üremeye bırakılmıştır. Daha sonra mikroorganizma sayımları yapılmış ve test solüsyonuna VEAT uygulanmıştır.

Her VEAT uygulaması öncesinde test hücresi steril su ile temizlenmiş ve kontrol olarak kullanılmak üzere VEAT uygulamadan bir örnek test hücresine enjekte edilmiştir. Daha sonra gerilim ayarlanmış ve test hücresine istenen sayıda darbe gönderilerek uygulama yapılmıştır. Kontrol ve VEAT uygulanmış test solüsyonları hücre konsantrasyonları belirlenmek üzere daha önce anlatılan bir dizi işlemde geçirilmiş ve sayımlar yapılmıştır. Her uygulama sonrasında test hücresi önce 70 %'lik alkol ile daha sonra da steril su ile yıkanmıştır. Her bir uygulama iki defa tekrarlanarak sonuçlar bu iki uygulamanın ortalaması olarak verilmiştir.



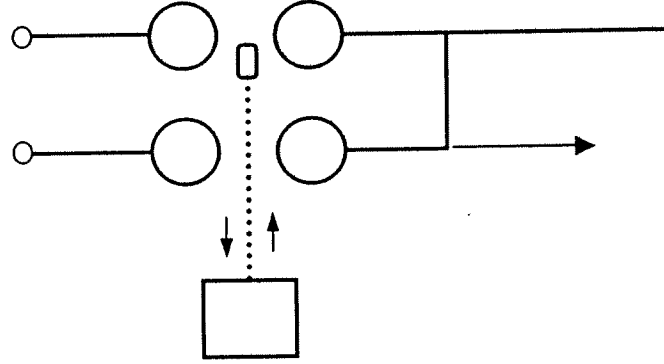
Şekil 3. 1 Yüksek Gerilim Altında VEAT uygulaması için geliştirilen sistem

+ 20 kV

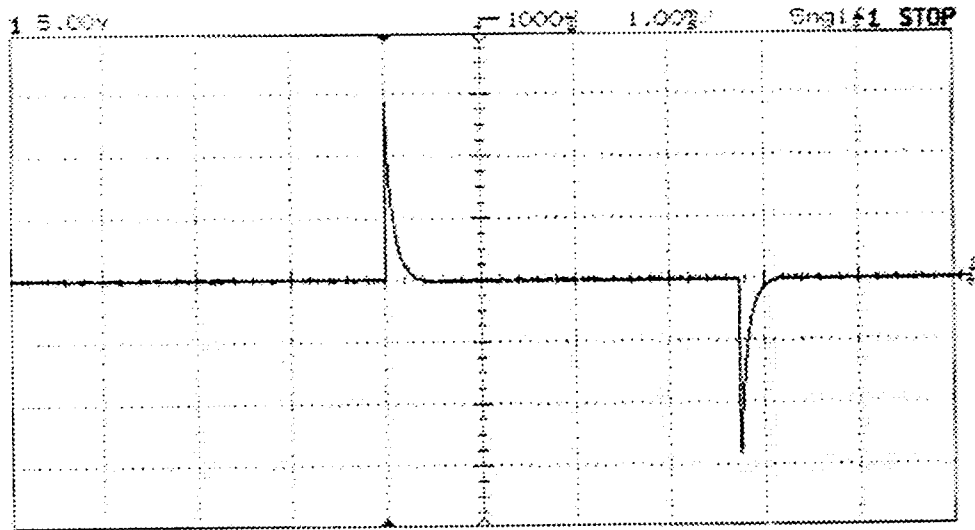
Test hücresine

-20 kV

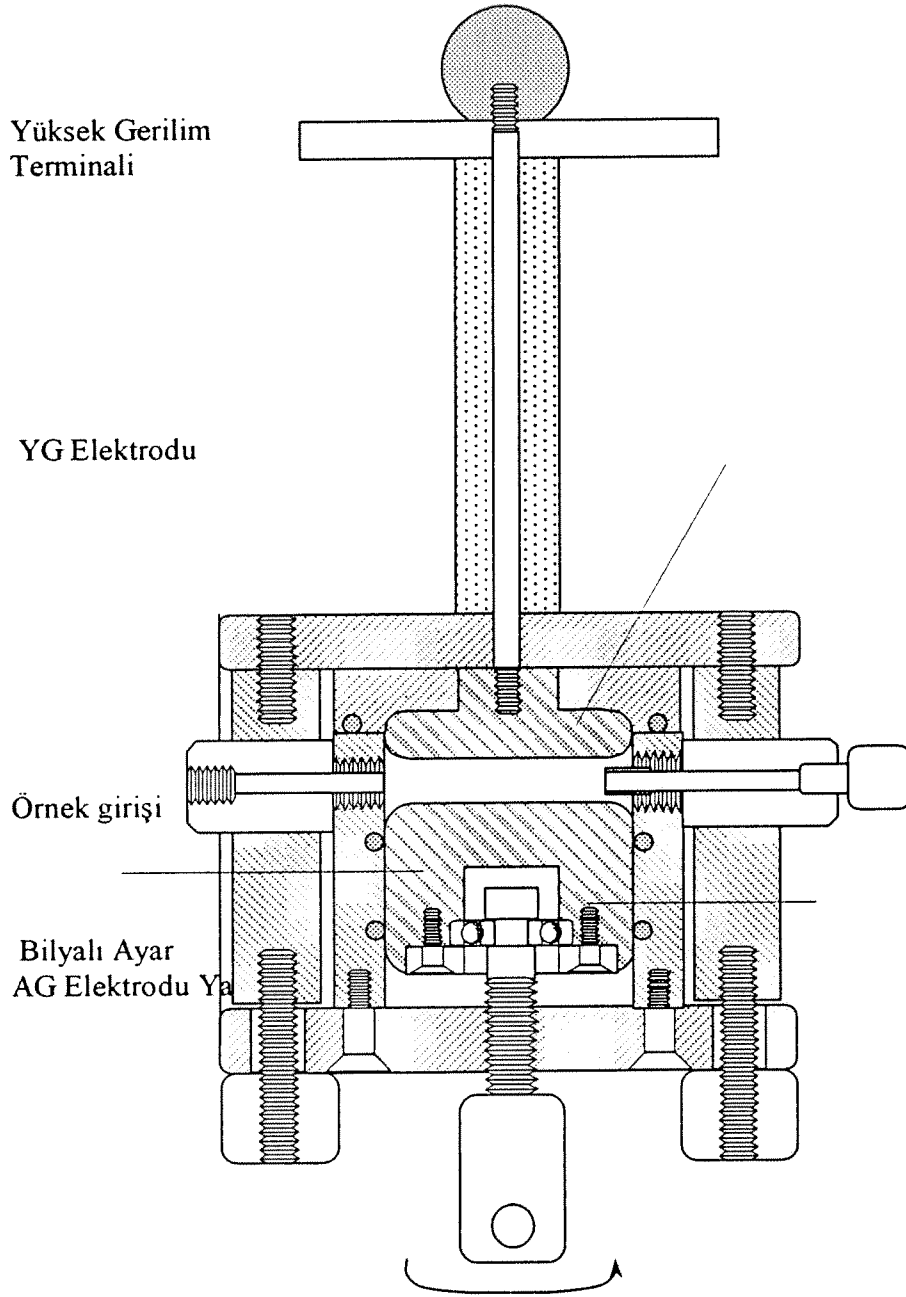
e elektromekanik
anahtar



Şekil 3. 2 Çift aralıklı yüksek gerilim bipolar anahtar



Şekil 3. 3 Artı ve eksi polariteli darbeler



Şekil 3. 4 Yüksek Gerilim Test Hücresi

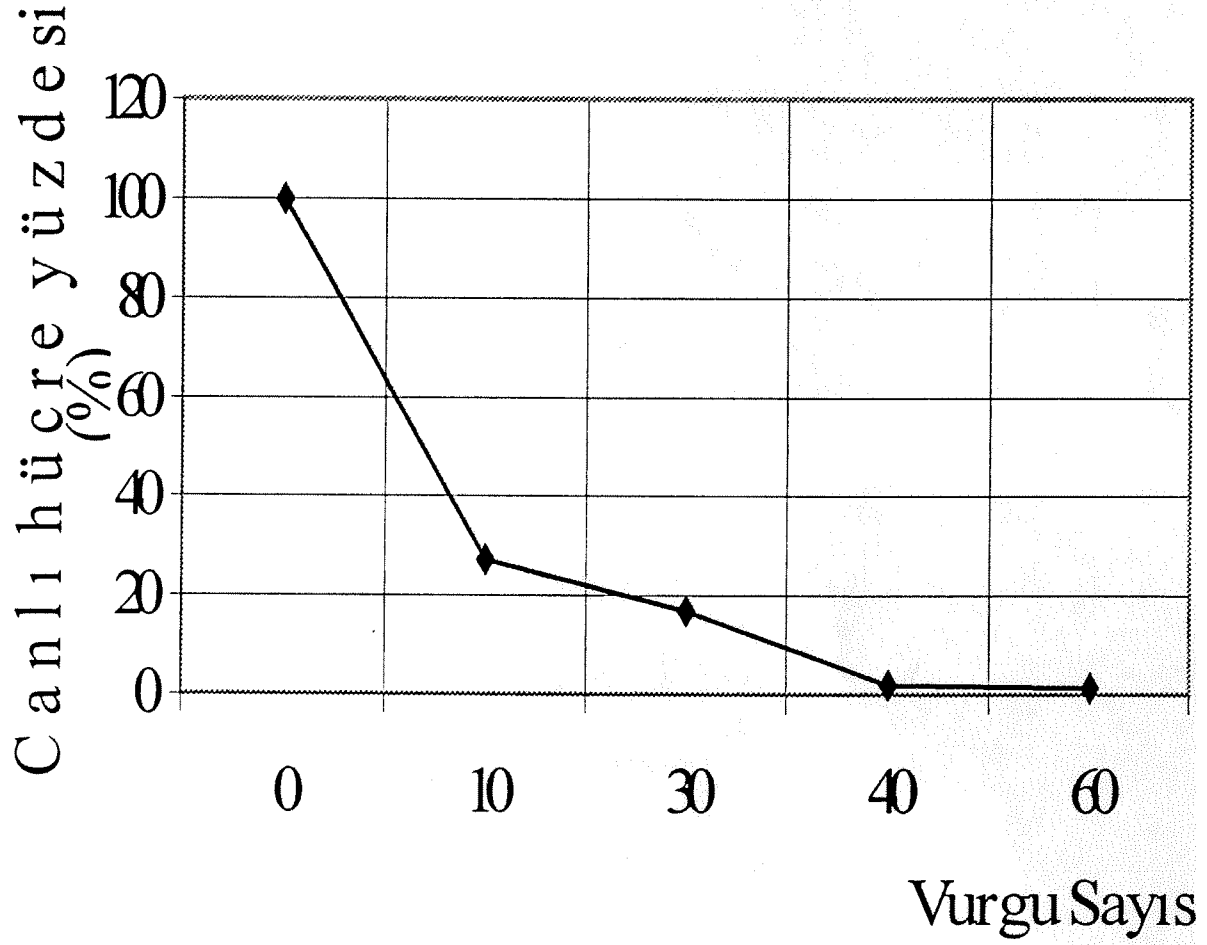
4. Bulgular ve Değerlendirme

4.1. VEAT Uygulaması Sonucunda Canlı Kalan *Escherichia Coli* O157:H7 Yüzdeleri (20 kV/cm, 5° C)

VEAT'ın *Escherichia Coli* üzerindeki etkileri birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmalarda farklı uygulama koşulları, farklı uygulama sistemleri ve farklı sıvı ortamlar kullanılmış ve *Escherichia Coli* hücrelerinde 1 log ile 7 log düzeyleri arasında değişen azalmalar elde edilmiştir. Elektrik alan şiddeti, sıcaklık ve vurgu sayısının artmasıyla inaktivasyonun da arttığı birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Örneğin, Pothakamury *et al.* (1996) 36 kV/cm elektrik alan şiddetinde 64 karesel vurgu uygulayarak 7° C deki sütte 2.25 log düzeyinde bir azalma ve 20° C sütte 2.5 log düzeyinde bir azalma elde etmiştir. Qin *et al.* (1998) ultrafiltre edilmiş sütte 60 kV/cm düzeyinde bir elektrik alanında ve 40° C'de sürekli bir sistem kullanarak 50 vurgu sonrasında 6 log düzeyinde bir azalma elde etmiştir. Martin *et al.* (1997) 20 kV/cm düzeyinde bir elektrik alanında ve 15° C'de 64 vurgu sonrası sütte 1 log düzeyinde bir azalma sağlamışlardır. Zhang *et al.* (1994c) yarı katı bir ortam olan potato dextrose agarda 40 kV/cm düzeyinde bir elektrik alanında ve 15° C'de 64 vurgu ile 5-6 log düzeyinde bir azalma elde etmişlerdir. Bu çalışma sırasında potato dextrose agarın homojen bir yapıda olması nedeniyle sıvı bir ortama oranla daha çok inaktivasyon sağladığını ortaya koymuştur. Bu çalışmaların sonuçlarından da görüldüğü üzere, VEAT ile inaktivasyon uygulama koşullarına özellikle de uygulanan elektrik alan şiddeti, uygulama sıcaklığı, vurgu dalga şekli gibi birçok parametreye bağlı olarak değişmektedir.

Tablo 4. 1. Farklı vurgu sayılarında canlı kalan *Escherichia Coli* O157:H7 yüzdeleri. (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^7 cfu/ml, vurgu sayısı : 10, 30, 40, 60)

Vurgu Sayısı	Canlı Kalan Hücre Yüzdesi (%)
0	100
10	27.11
30	16.8
40	1.91
60	1.26

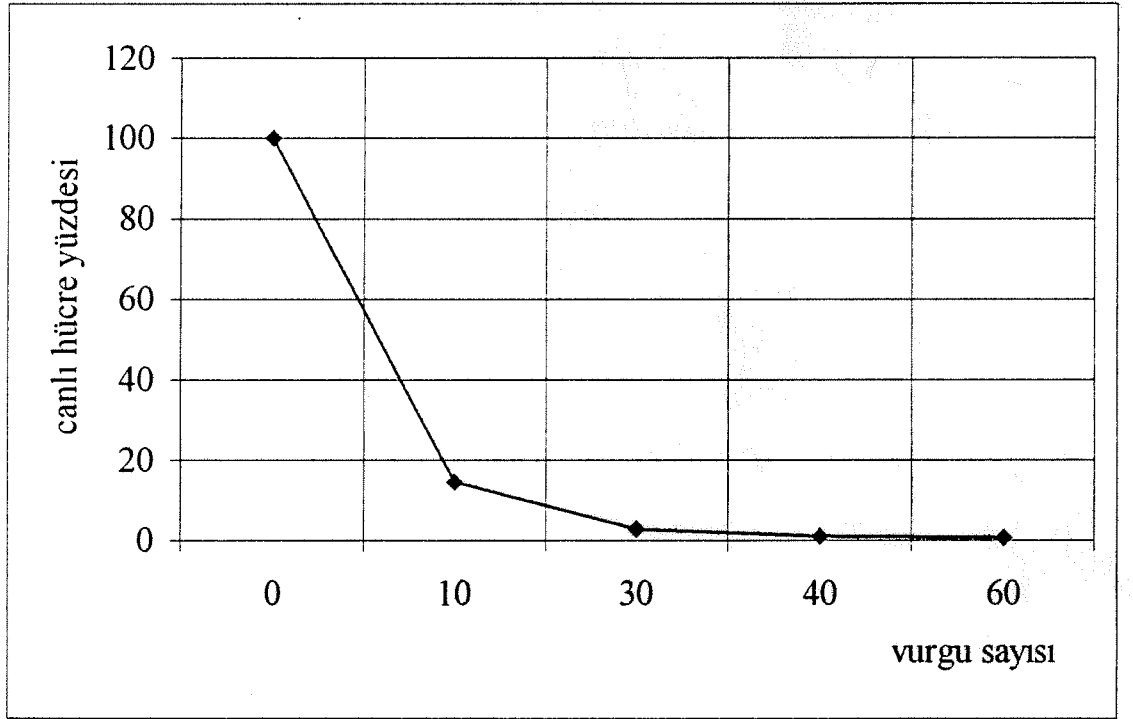


Şekil 4. 1 Farklı vurgu sayılarında canlı kalan *Escherichia Coli* O157:H7 yüzdeleri. (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^7 cfu/ml, vurgu sayısı : 10, 30, 40, 60)

10^7 cfu/ml başlangıç konsantrasyonunda yapılan deney sonuçlarına göre, *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerinde vurgu sayısına bağlı olarak 98. 74 %'e ulaşan azalmalar elde edilmiştir. Vurgu sayısının artması ile canlı hücre yüzdesi azalmıştır.

Tablo 4. 2. Farklı vurgu sayılarında canlı kalan *Escherichia Coli* O157:H7 yüzdeleri. (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^4 cfu/ml, vurgu sayısı :10, 30, 40, 60)

Vurgu Sayısı	Canlı Kalan Hücre Yüzdesi (%)
0	100
10	14.05
30	2.80
40	0.76
60	0.64

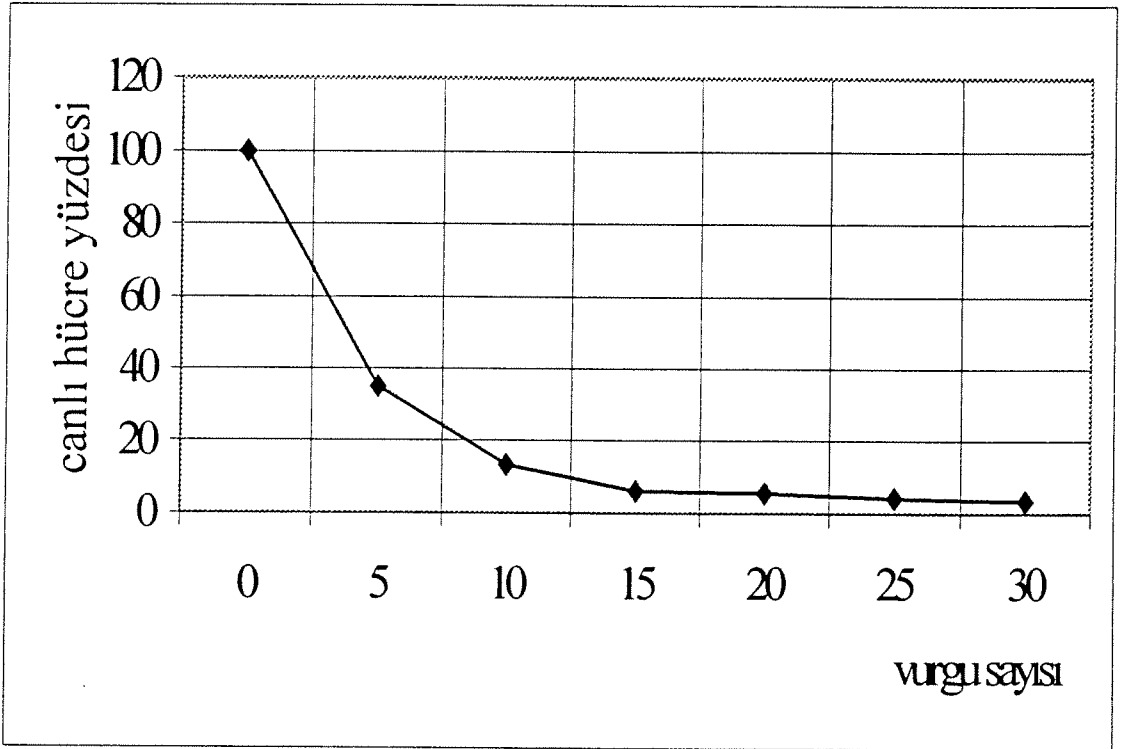


Şekil 4.2. Farklı vurgu sayılarında canlı kalan *Escherichia Coli* O157:H7 yüzdeleri (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^4 cfu/ml, vurgu sayısı :10, 30, 40, 60)

Test sonuçlarına göre, 10^4 cfu/ml başlangıç hücre konsantrasyonunda *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerinde vurgu sayısına bağlı olarak 99.36 %'ya ulaşan azalmalar elde edilmiştir.

Tablo 4. 3 Farklı vurgu sayılarında canlı kalan *Escherichia Coli* O157:H7 yüzdeleri. (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^4 cfu/ml, vurgu sayısı :5, 10, 15, 20, 25, 30)

Vurgu Sayısı	Canlı Kalan Hücre Yüzdesi (%)
0	100
5	35.12
10	13.23
15	6.13
20	5.53
25	4.26
30	2.37



Şekil 4. 3. Farklı vurgu sayılarında canlı kalan *Escherichia Coli* O157:H7 yüzdeleri (Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^4 cfu/ml, vurgu sayısı :5, 10, 15, 20, 25, 30)

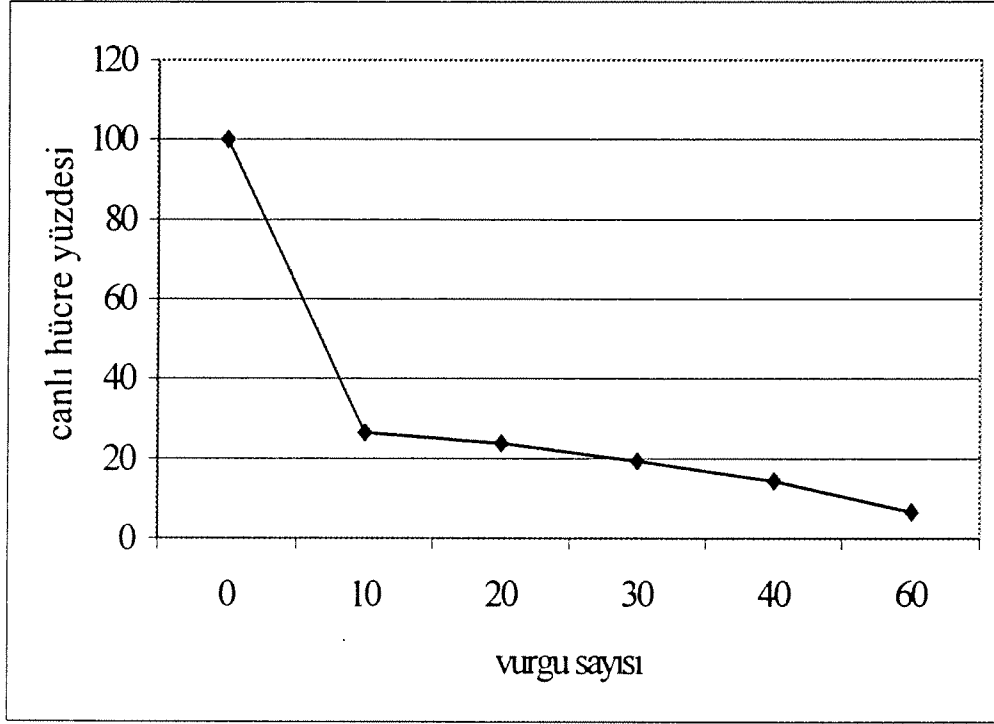
Test sonuçlarından *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerinde 10^4 cfu/ml başlangıç konsantrasyonunda ve daha düşük vurgu sayılarında, vurgu sayısına bağlı olarak 30 vurgu uygulandıktan sonra 96. 61 % değerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Düşük vurgu sayılarında daha düşük inaktivasyon sağlandığı gözlenmiştir.

4. 2. VEAT Uygulaması Sonucunda Canlı Kalan *Staphylococcus Aureus* Yüzdeleri (20 kV/cm, 5°C)

Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^7 cfu/ml, vurgu sayısı 10, 20, 30, 40, 60

Tablo 4. 4 Canlı *Staphylococcus Aureus* yüzdeleri.
(Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^7 cfu/ml, vurgu sayısı : 10, 20, 30, 40, 60)

Vurgu sayısı	Canlı mikroorganizma (%)
0	100
10	26. 51
20	23. 78
30	19. 42
40	14. 40
60	6. 74



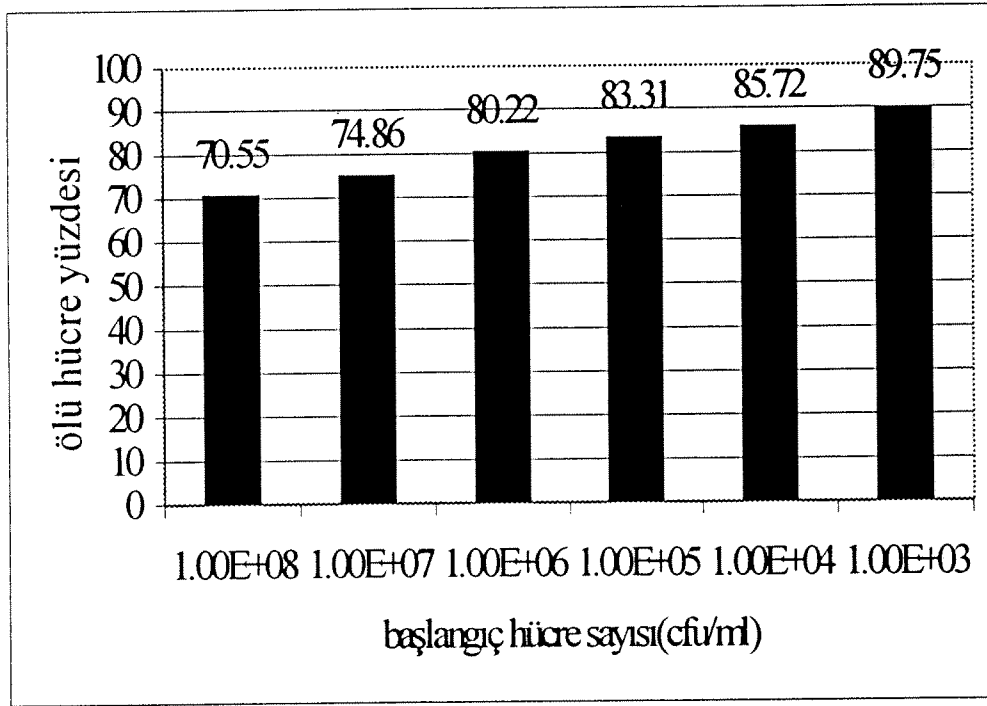
Şekil 4. 4 Canlı kalan *Staphylococcus Aureus* yüzdeleri (20 kV/cm, 5°C, Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı: 10^7 cfu/ml, vurgu sayısı : 10, 20, 30, 40, 60)

Test sonuçlarına göre *Staphylococcus Aureus* hücrelerinde 93.26 %'ya ulaşan azalmalar elde edilmiştir. Literatür çalışmalarında *Staphylococcus Aureus* hücrelerinde 4-5 log düzeylerine varan azalmalar elde edilmiştir. Örneğin, Qin *et al.* (1998) ultrafiltre sütte 40°C'de ve 36 kV/cm düzeyinde bir elektrik alanında 50 vurgu uygulayarak 5 log düzeyinde bir azalma elde etmiştir. Bir başka çalışmada Pothakamury *et al.* (1995) ultrafiltre edilmiş sütte 16 kV/cm elektrik alan şiddetinde ve 30°C sıcaklıkta 3 loga yakın bir azalma elde etmişlerdir. Çalışma sonuçlarındaki farklılıklar bu çalışmalardaki farklı VEAT uygulama koşullarıyla özellikle de farklı elektrik alan şiddeti ve sıcaklık değerleriyle açıklanabilir.

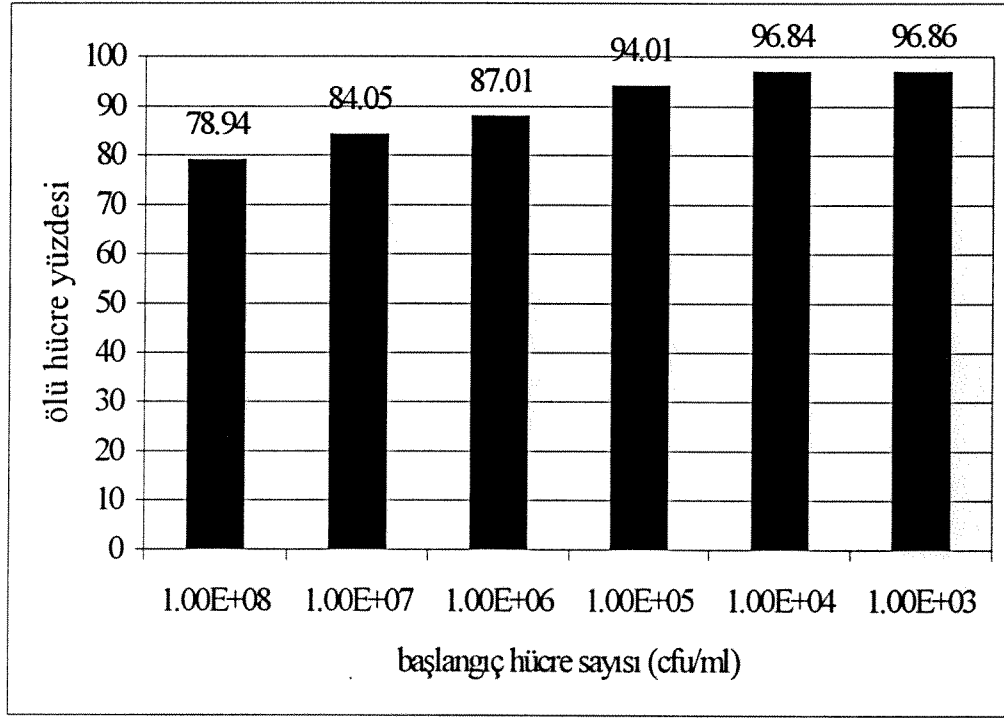
Test sonuçlarından Gram (-) *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerinin VEAT'a karşı Gram (+) *Staphylococcus Aureus* hücrelerine göre daha duyarlı oldukları ortaya çıkmıştır. Esasen VEAT'ın Gram (-) hücreler üzerinde daha etkili olduğu birçok araştırmacı tarafından da gösterilmiştir. Bu durum bu iki mikroorganizmanın hücre alanları arasındaki farkla ve bu iki tip mikroorganizmanın hücre duvarlarındaki farklılıklarla açıklanmıştır.

4. 3. Başlangıç Hücre Konsantrasyonunun *Escherichia Coli* O157:H7 İnaktivasyonuna Etkisi (20 kV/cm, 5°C)

Test sonuçları başlangıç hücre sayısının *Escherichia Coli* O157:H7 inaktivasyonunu etkilediğini göstermiştir (Şekil 4.5 ve 4.6). Her iki vurgu sayısında da (10 ve 30) başlangıç hücre konsantrasyonu arttıkça inaktivasyonda azalma yani ölü sayısında azalma olmuştur. Literatürde bu konuda yapılan iki çalışmadan birinde *S. Cerevisiae* hücrelerinin başlangıç sayısı arttıkça ölü sayısının azaldığı görülmüştür. Deneyler 25 kV/cm elektrik alan kullanılarak yapılmıştır (Zhang *et al.*, 1994b). Bu projede elde edilen sonuç da bu çalışmayı doğrulamıştır. Ancak, diğer çalışmada 70 kV/cm elektrik alan uygulanarak *Escherichia Coli* hücrelerinin inaktivasyonunda başlangıç hücre sayısının belirgin bir etkisi olmadığı gözlenmiştir (Zhang *et al.*, 1995b). Bu durum yüksek elektrik alanlarda başlangıç hücre konsantrasyonunun inaktivasyona etkisinin azaldığını göstermektedir.



Şekil 4.5 *Escherichia Coli* O157:H7 farklı başlangıç hücre sayılarında ölü hücre yüzdesi, vurgu sayısı : 10



Şekil 4.6 *Escherichia Coli* O157:H7 farklı başlangıç hücre sayılarında ölü hücre yüzdesi, virgü sayısı : 30

4. 4. *Escherichia Coli* O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* hücrelerinin VEAT sonrası yaralı mikroorganizma hücrelerinin yüzdeleri (20 kV/cm, 5°C, 10⁷ cfu/ml)

Yaralı hücreler gıda endüstrisinde önemlidir çünkü işlem sonrasında ölmeyen ve yaralı kalan hücreler, uygun ortam koşulları bulduklarında tekrar üreyebilirler. Uygun ortamlarda, yaralı patojenler hastalıklara ve bozulmaya yol açan yaralı mikroorganizmalar da gıdanın raf ömrünün kışalmasına neden olurlar (Ray, 1996). Bu nedenle, bu projede VEAT sonrası yaralı kalan hücre yüzdeleri araştırılmıştır. Yaralı hücreler NaCl, antibiyotikler, boyalar, kimyasallar gibi çeşitli maddelere karşı oldukça duyarlıdır. Bu çalışmada NaCl seçici madde olarak kullanılmış ve mikroorganizmalar NaCl içeren ve içermeyen besi ortamlarında üremeye bırakılmıştır. Böylece, NaCl içeren besi ortamında sadece yaralı olmayan hücreler üremiştir. Yaralı hücre sayısı NaCl içermeyen besi ortamında üreyen hücre sayısından NaCl içeren besi ortamında üreyen hücre sayısı çıkarılarak bulunmuştur (Ray, 1996) Elde edilen sonuçlara göre, virgü sayısına bağlı olarak *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerinde 35. 92 % ile 43. 36 % arasında değişen, ve *Staphylococcus Aureus* hücrelerinde de 17. 26 % ile 30. 86 % arasında değişen yaralı mikroorganizma hücreleri saptanmıştır.

Tablo 4. 5 *Escherichia Coli* O157:H7 yaralı mikroorganizma hücre yüzdeleri

Vurgu sayısı	10	20	30	40
Yaralı mikroorganizma hücreleri (%)	36. 16	35. 92	38. 73	43. 36

Table 4. 6 *Staphylococcus Aureus* yaralı mikroorganizma hücre yüzdeleri

Vurgu sayısı	10	20	30	40	60
Yaralı mikroorganizma hücreleri (%)	17. 26	25. 27	25. 36	28. 56	30. 86

4. 5. *Escherichia Coli* O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* İnaktivasyon Kinetikleri

Escherichia Coli O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* hücreleri değişen elektrik alanlarda (20, 16, 14, 12 kV/cm) ve vurgu sayılarında (10, 30, 40, 60) VEAT'a tabi tutulmuş, ve inaktivasyon kinetiği incelenmiştir. Literatürde ilk olarak Hülshager *et al.* (1981) tarafından önerilen ve daha sonra birçok araştırmacı tarafından uygulanan birinci derece kinetik modeli her iki mikroorganizma için de uygulanmış ve her iki mikroorganizmanın da bu kinetik modele uyduğu görülmüştür.

$$\ln s = - k_E (E_c - E)$$

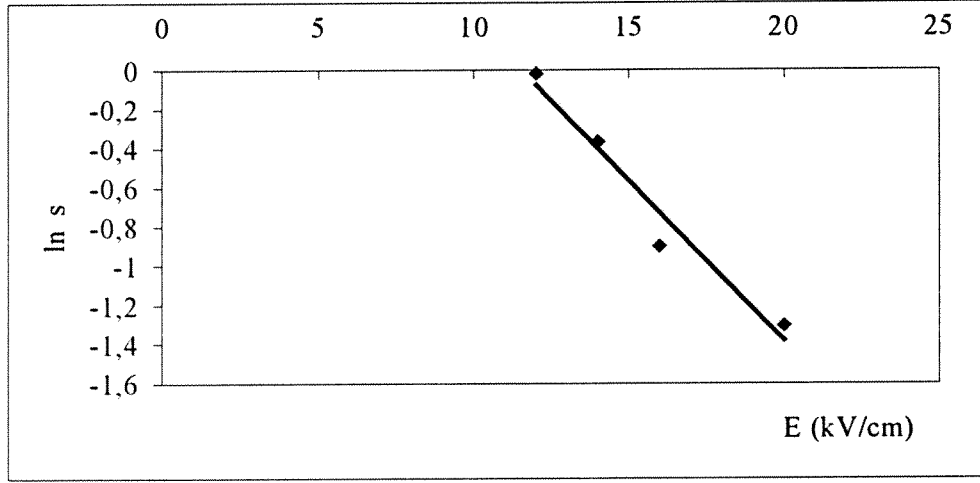
Bu modelde;

- s: canlı kalan hücre yüzdesi,
- k_E : kinetik sabit,
- E_c : kritik elektrik alan şiddeti ve
- E: elektrik alan şiddetini

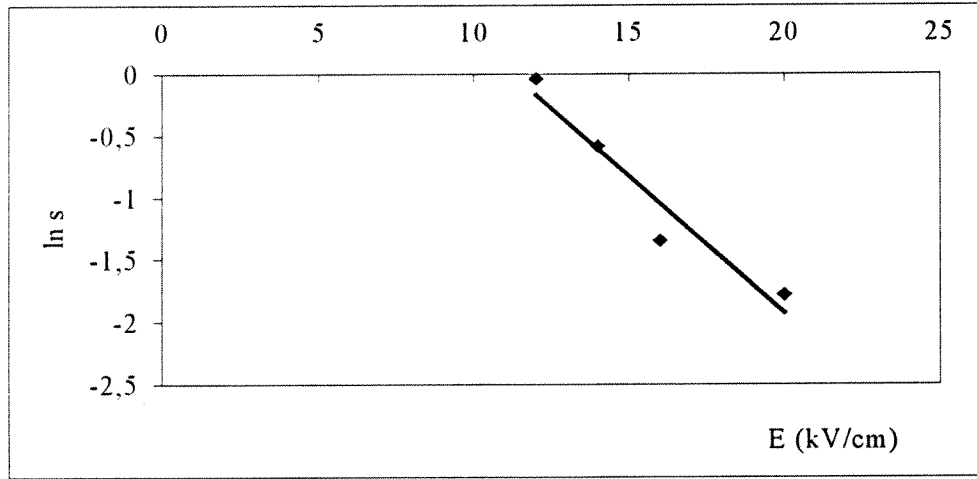
ifade etmektedir.

Kinetik parametrelerin bulunması için her bir vurgu sayısında $\ln s$ 'e karşılık E grafikleri çizilmiş ve kinetik parametreler lineer regresyon ile hesaplanmıştır. Bu grafikler Şekil 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10'da *Escherichia Coli* O157:H7 için, ve Şekil 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14'te *Staphylococcus Aureus* için gösterilmiştir. Lineer regresyon ile hesaplanmış

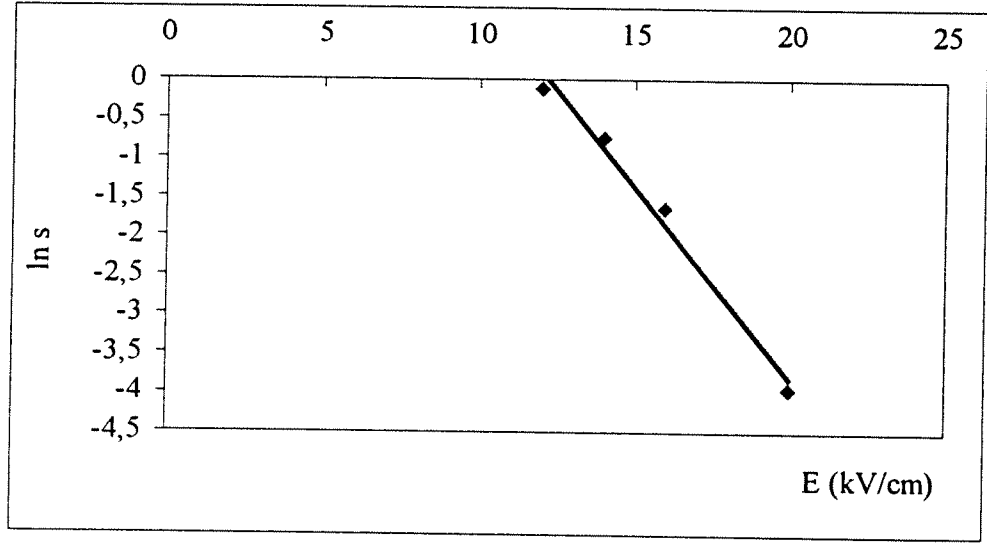
kinetik parametreler Tablo 4. 7 ve 4. 8'de verilmiştir. Yüksek vurgu sayılarında daha yüksek k_E değerlerinin elde edilmesi beklenen bir sonuçtur, çünkü k_E değerinin artışı inaktivasyondaki artışı ifade etmektedir.



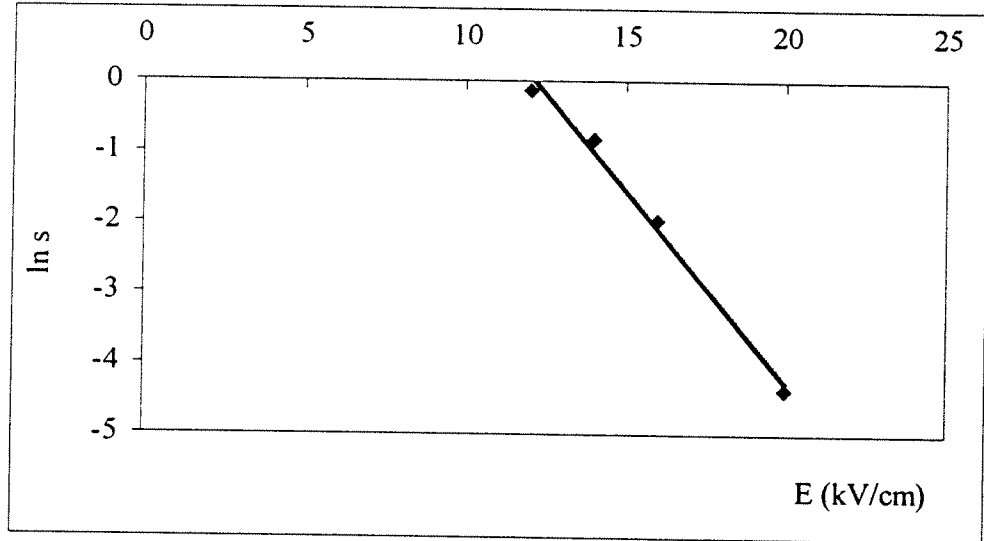
Şekil 4. 7 *Escherichia Coli* O157:H7 hücreleri için 10 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği



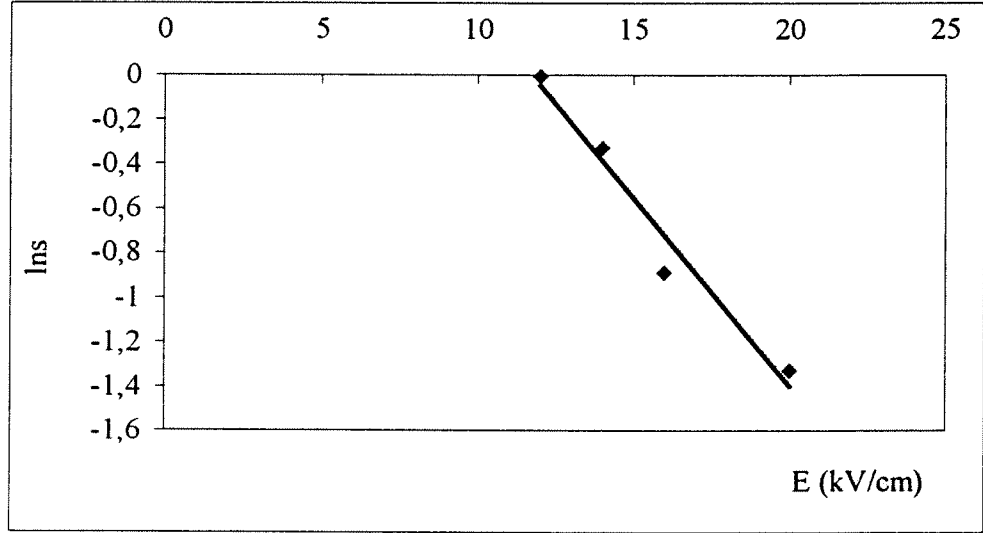
Şekil 4. 8 *Escherichia Coli* O157:H7 hücreleri için 30 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği



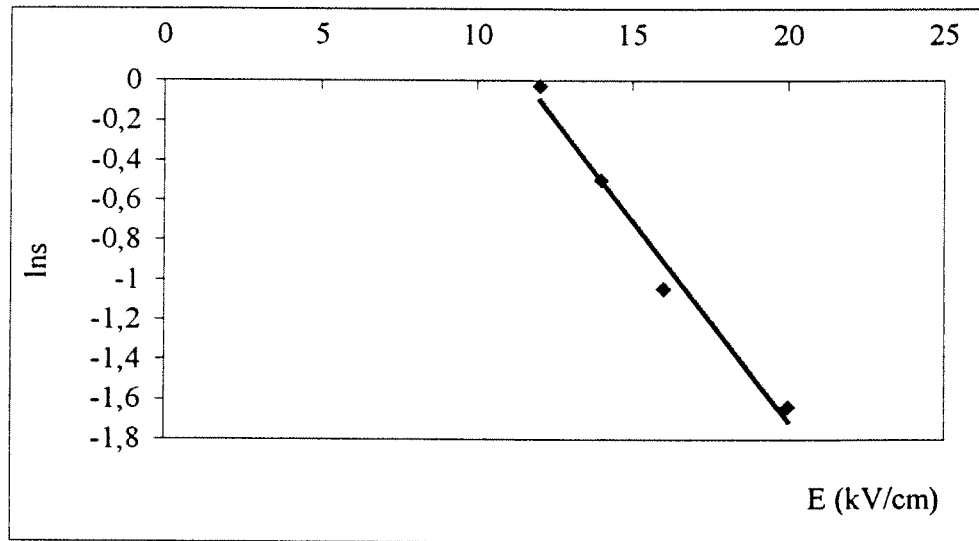
Şekil 4. 9 *Escherichia Coli* O157:H7 hücreleri için 40 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği



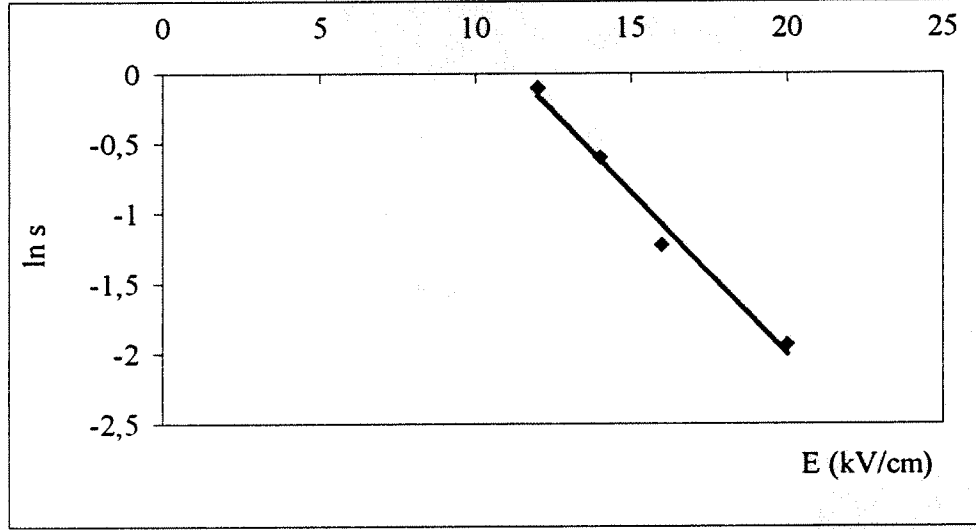
Şekil 4. 10 *Escherichia Coli* O157:H7 hücreleri için 60 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği



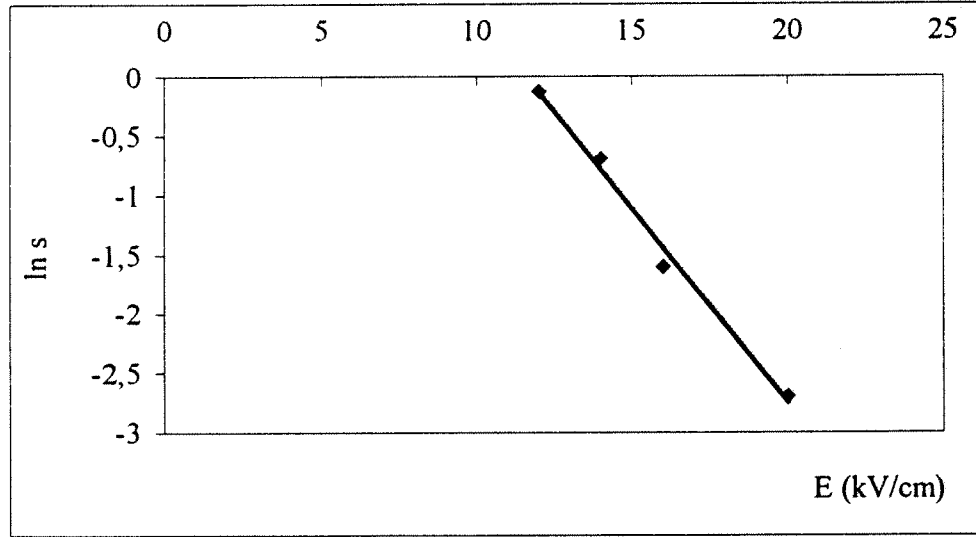
Şekil 4. 11 *Staphylococcus Aureus* hücreleri için 10 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği



Şekil 4. 12 *Staphylococcus Aureus* hücreleri için 30 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği



Şekil 4. 13 *Staphylococcus Aureus* hücreleri için 40 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği



Şekil 4. 14 *Staphylococcus Aureus* hücreleri için 60 vurgu sayısında elektrik alana karşılık ln s grafiği

Tablo 4. 7 *Escherichia Coli* O157:H7'nin VEAT ile inaktivasyonu için hesaplanan kinetik parametreler *

Vurgu sayısı (n)	K_E (cm/ kV)	E_c (kV/cm)	R^2
10	0.163	11.52	0.96
30	0.219	11.21	0.93
40	0.489	12.19	0.98
60	0.542	12.13	0.99

* $p < 0.05$

Tablo 4. 8 *Staphylococcus Aureus*'un VEAT ile inaktivasyonu için hesaplanan kinetik parametreler*

Vurgu sayısı (n)	K_E (cm/ kV)	E_c (kV/cm)	R^2
10	0.169	11.72	0.96
30	0.201	11.51	0.98
40	0.230	11.30	0.98
60	0.327	11.58	0.99

* $p < 0.05$

Daha sonraki aşamada, hesaplanan k_E değerleri yeni bir model ile vurgu sayısı ile ilişkilendirilmiştir:

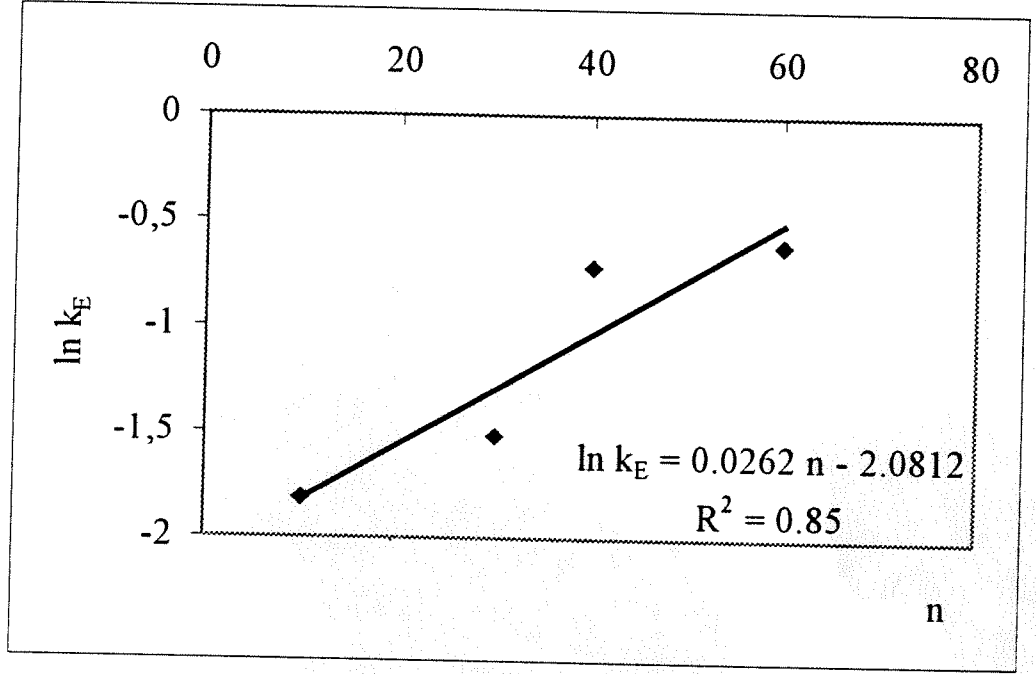
$$k_E = a \exp(b n)$$

Yukarıdaki ifadede

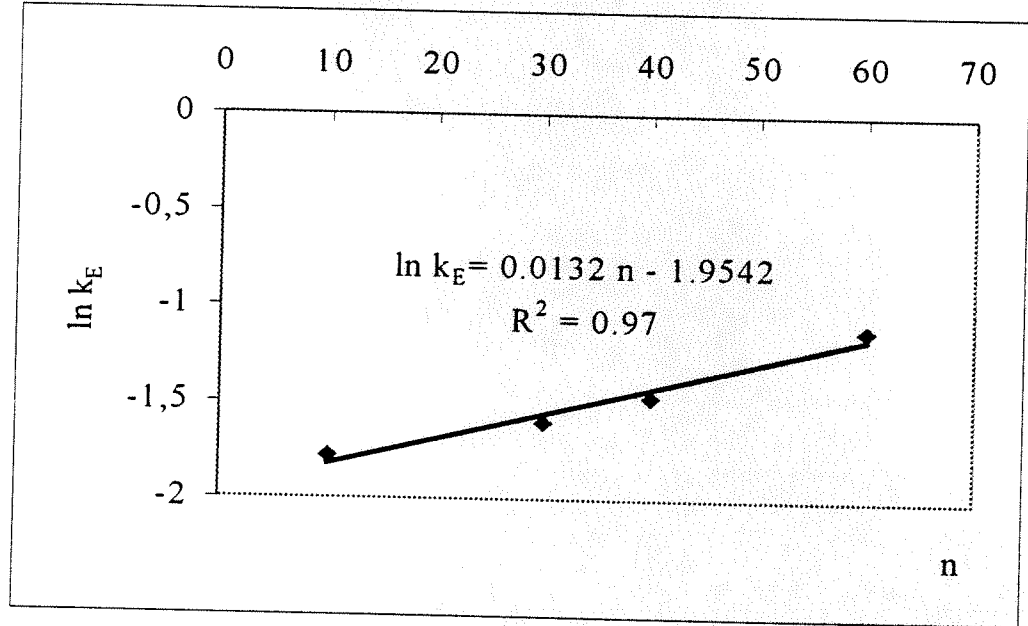
a ve b sabit,
n ise vurgu sayısıdır.

Eşitliğin her iki tarafının doğal logaritması alınarak lineer bir şekle getirilmiş, $\ln k_E$ 'ye karşılık vurgu sayısı grafikleri çizilmiş ve lineer regresyon ile sabitler hesaplanmıştır. Şekil 4.15'te *Escherichia Coli* O157 için ve Şekil 4.16'da *Staphylococcus Aureus* için $\ln k_E - n$ grafikleri verilmiştir. Bu şekillerde görüldüğü üzere, b değeri *Escherichia Coli* O157:H7 için *Staphylococcus Aureus* 'tan daha büyüktür ve bu da *Escherichia Coli*

O157:H7 hücrelerinin *Staphylococcus Aureus* hücrelerine oranla VEAT'a karşı daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Bu sonuç literatür sonuçlarını doğrulayan bir sonuçtur.



Şekil 4. 15 *Escherichia Coli* O157:H7 için vurgu sayısına (n) karşılık ln k_E grafiği



Şekil 4. 15 *Staphylococcus Aureus* için vurgu sayısına (n) karşılık ln k_E grafiği

5. Sonuç

Test sonuçlarından tasarlanan ve uygulan VEAT sistemin beklendiği gibi başarı ile çalıştığı anlaşılmıştır. Çalışmalar sonucunda mikroorganizma sayılarında 2loga varan azalmalar elde edilmiştir. Çalışmalara başlarken literatürdeki 4-5log düzeylerine varan azalmaları elde etmek hedeflenmiştir fakat geliştirilen sistemle yeterli derece darbe gerilimi üretilmediği için bu oranda azalmalar elde edilememiştir.

Escherichia Coli O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* hücrelerinin VEAT ile inaktivasyon kinetiği incelenmiş ve her iki mikroorganizmanın da birinci dereceden reaksiyon kinetiği izlediği ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar daha önceki literatür çalışmalarını doğrular niteliktedir. *Staphylococcus Aureus* hücrelerinin *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerine oranla daha dirençli olduğu görülmüştür.

Gıda endüstrisinde işlem sonrasında yaralı kalan hücreler oldukça önemlidir, çünkü yaralı hücreler uygun ortam koşullarında yeniden üreyebilir ve insanlar ve gıdalar üzerinde zararlı etkiler gösterebilirler. Bu nedenle, araştırmada VEAT sonrası yaralı mikroorganizma hücre yüzdeleri belirlenmiştir. Sonuçlar her iki mikroorganizmada da vurgu sayısına bağlı olarak değişen belli oranlarda yaralı mikroorganizma hücreleri kaldığını göstermiştir.

Çalışmanın diğer bir parçası da başlangıç hücre konsantrasyonunun *Escherichia Coli* O157:H7 hücre inaktivasyonu üzerine etkisinin araştırılmasıydı. Sonuçlar, başlangıç hücre sayısı arttıkça daha az inaktivasyon olduğunu göstermiştir. Literatürde birçok VEAT uygulama parametrelerinin inaktivasyon üzerine etkileri incelenmiş, fakat başlangıç konsantrasyonunun etkisi üzerine çok az çalışma bulunmaktadır. Bu açıdan bu konu araştırılmıştır.

Sonuç olarak bu projede VEAT için bir prototip düzenek geliştirilmiş ve bu düzeneğin mikroorganizmalar üzerinde etkinliği ve düzgün bir şekilde çalışır durumda olup olmadığı test edilmiş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte, gelecek çalışmalarda sistemin daha etkili olabilmesi için düzeneğin daha yüksek darbe gerilimleri üretebilecek şekilde geliştirilmesi uygun görülmektedir. Bu şekilde, gıdalar üzerinde çalışmalara başlanması ve yeterli oranda inaktivasyon elde edildiği takdirde VEAT'ın gıdanın kalitesi üzerindeki etkilerinin de araştırılması önemlidir. Ayrıca, sistemin endüstriyel boyutlara taşınması da gıda endüstrisinde uygulanmaya başlanması açısından önem taşımaktadır.

Referanslar

- Castro, A., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G., "Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields", *J. Food Proc. Pres.* 17, 47-73 (1993)
- Grahl, T., and Markl, H., "Killing of microorganisms by pulsed electric fields. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*", 45, 148-157 (1996).
- Hülshager, H., Pottel, J., and Niemann, E. G., "Electric field effects on bacteria and yeast cells", *Radiat. Environ. Biophys.* 22, 149-162 (1983).
- Hülshager, H., Pottel, J., and Niemann, E. G., "Killing of bacteria with electric pulses of high field strength", *Radiat. Environ. Biophys.* 20, 53-65 (1983).
- Jayaram, S., Castle, G. S. P., and Margaritis, A., Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* by the application of high voltage pulses. *Biotechnol. Bioeng.* 40 (11), 1412-1420 (1992).
- Liu, X., Yousef, A. E., and Chism, G. W., "Inactivation of *Escherichia Coli* O157:H7 by the combination of organic acids and pulsed electric fields", *J. Food Safety.* 16, 287-299 (1997).
- Marquez, V. O., Mittal, G. S., and Griffiths, M. W., "Destruction and inhibition of bacterial spores by high voltage pulsed electric fields", *J. Food Sci.* 62 (2), 399-409 (1997).
- Martin, O., Qin, B. L., Chang, F. J., and Barbosa-Canovas, G. V., "Inactivation of *Escherichia Coli* in skim milk by high intensity pulsed electric fields", *J. Food Proc. Eng.* 20, 317-336 (1997).
- Neumann, E., "The relaxation hysteresis of membrane electroporation", *Electroporation and electrofusion in Cell Biology*. Penum Press, New York (1989), pp. 61-73.
- Pothakamury, U. R., Vega-Mercado, H., Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G., "Effect of growth stage and temperature on inactivation of *Escherichia Coli* O157:H7 by pulsed electric fields", *J. Food Prot.* 59 (11), 1167-1171, (1996).
- Pothakamury, U. R., Monsalve-Gonzalez, A., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G., "Inactivation of *Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus* in model food systems by pulsed electric field technology", *Food Res. Int.* 28 (2), 167-171, (1995).

- Qin, B. L., Pothakamury, U. R., Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G., and Pedrow, P. D.**, "Inactivation of microorganisms by pulsed electric fields with different waveforms", *IEEE Trans. Dielec. Electric. Insul.* 1 (6), 1047-1057, (1994).
- Qin, B. L., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G., and Pedrow, P. D., and Olsen, R. G.**, "Inactivation of microorganisms using pulsed electric field continuous treatment system", *IEEE Trans. Ind. Appl.* 34 (1), 43-49, (1998).
- Raso, J., Calderon, M. L., Gongora, M., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G.**, *Journal of Food Science.* 63 (1), 1042-1044, (1998).
- Ray, B.** "Fundamental Food Microbiology", CRC Press Inc., Boca Raton, FL, (1996), pp. 242-256.
- Reina, L. D., Jin, Z. T., Zhang, Q. H., and Yousef, A. E.**, "Inactivation of *Listeria Monocytogenes* in milk by pulsed electric fields", *J. Food Prot.* Vol 61 (9), 1203-1206, (1998).
- Vega-Mercado, H., Martin-Belloso, O., Chang, F. J., Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G.**, "Inactivation of *Escherichia Coli* O157:H7 and *Bacillus subtilis* suspended in pea soup using pulsed electric fields", *J. Food Proc. Pres.* 20, 501-510, (1996a).
- Vega-Mercado, H., Pothakamury, U. R., Chang, F. J., Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G.**, "Inactivation of *Escherichia Coli* O157:H7 by combining pH, ionic strength and pulsed electric hurdles", *Food Res. Int.*, 29 (2), 117-121, (1996b).
- Zhang, Q., Monsalve-Gonzalez, A., Qin, B. L., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G.**, "Inactivation of *S. cerevisiae* in apple juice by square-wave and exponential-decaying pulses", *J. Food Proc. Eng.* 17, 469-478, (1994b).
- Zhang, Q., Chang, F. J., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G.**, "Inactivation of microorganisms in a semisolid model food using high voltage pulsed electric fields", *Lebensm. Wiss. U. -Technol.* 27, 538-543, (1994c).

Zhang, Q., Qin, B. L., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G., "Inactivation of *Escherichia Coli* for food pasteurization by high intensity pulsed electric fields", *J. Food Proc. Preservation*. 25, 103-118, (1995b).

BİBLİYOGRAFİK BİLGİ FORMU BİBLİYOGRAFİK BİLGİ FORMU

1- Proje No: 198E022 2- Rapor Tarihi: 11.11.2001
3- Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:
4- Projenin Adı: Yüksek Gerilim Altında Vurgulu Elektrik Alan Tekniği (VEAT) Kullanılarak Gıdalarda Patojen ve Bozulmaya Neden Olan Mikroorganizmaların İnaktivasyonu İçin Prototip Bir Düzenek Geliştirilmesi
5- Proje Yürütücüsü ve Yardımcı Araştırmacılar: Proje Yürütücüsü Prof. Dr. Osman SEVAİOĞLU, Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Bölümü, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara Proje Yürütücü Yrd. Prof. Dr. Faruk BOZOĞLU, Gıda Mühendisliği Bölümü, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara Araştırmacılar Prof. Dr. Mirzahan HIZAL, Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Bölümü, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara Sibel DAMAR, Araştırma Görevlisi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara
6- Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Elektrik ve Elektronik ve Gıda Mühendisliği Bölümleri, 06531, Balgat, Ankara
7- Destekleyen Kuruluş (ların) Adı ve Adresi: Mudurnu Tavukçuluk A.Ş., Mudurnu, Bolu
8- Öz (Abstract): Bu çalışmanın ana amacı, Yüksek Gerilim Altında Vurgulu Elektrik Alan Tekniği (VEAT) için bir deneysel düzenek kurmak ve bu düzeneğin canlı hücre sayılarının azaltılması üzerindeki etkisini incelemektir. Bu çalışmada, 20 kV gerilim üretebilen ve 100 mikrosaniyelik artı ve eksi polariteli logaritmik azalan vurgular veren bir VEAT uygulama sistemi kurulmuştur. İki patojenik mikroorganizma; <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 ve <i>Staphylococcus Aureus</i> , G (+) ve G (-) modeller olarak sistemin etkinliği çalışmaları için kullanılmıştır. Öncelikle <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 ve <i>Staphylococcus Aureus</i> hücrelerinin değişen vurgu sayısı ve elektrik alan şiddetine karşı canlı kalma oranları ölçülmüştür. <i>Staphylococcus Aureus</i> hücrelerinin <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 hücrelerine oranla

daha dirençli olduğu görülmüştür. Mikroorganizmalara 20 kV/cm elektrik alan şiddetinde 60 vurguya kadar VEAT uygulanmış ve her iki mikroorganizma canlı hücre sayısında da 2 loga yakın değerde azalma elde edilmiştir. Yaşayan hücrelerin inaktivasyonunda vurgu sayısındaki artma ile artış olmuştur.

Escherichia Coli O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* hücreleri 12, 14, 16 ve 20 kV/cm şiddetindeki elektrik alanlara tabi tutulmuş ve elektrik alan şiddeti için inaktivasyon kinetiği araştırılmıştır. Sonuçlar *Escherichia Coli* O157:H7 ve *Staphylococcus Aureus* hücrelerinin birinci dereceden reaksiyon kinetiği izlediğini göstermiştir. Başlangıçtaki hücre konsantrasyonunun inaktivasyon miktarı üzerindeki etkisi araştırmanın diğer bir parçasıydı. *Escherichia Coli* O157:H7 farklı başlangıç hücre konsantrasyonlarında, 20 kV/cm'de 10 ve 30 vurguya tabi tutulmuştur. Başlangıç hücre konsantrasyonu azaltıldığında daha fazla inaktivasyon elde edilmiştir. Ayrıca, mikroorganizmalara 20 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinde VEAT uygulandıktan sonra yaralı mikroorganizma hücreleri olup olmadığı araştırılmıştır. Sonuç olarak, *Escherichia Coli* O157:H7 hücrelerinde vurgu sayısına bağlı olarak % 35, 92 ile % 43, 36 arasında değişen, ve *Staphylococcus Aureus* hücrelerinde % 17, 26 ile % 30, 86 arasında değişen miktarlarda yaralı mikroorganizma hücreleri bulunduğu tesbit edilmiştir. Sonuç olarak, bu araştırma, kurulan deneysel düzeneğin VEAT uygulama parametrelerini sağladığını ve canlı hücrelerin inaktivasyonunda etkili olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : Vurgulu Elektrik Alan, Patojenler, İnaktivasyon, Vurgu Sayısı, Elektrik Alan Şiddeti, Kinetik, Gıda Sterilizasyonu, Escherichia Coli, Staphylococcus Aureus

9- Proje ile ilgili Yayın/Tebliğlerle ilgili Bilgiler

10- Bilim Dalı

Doçentlik B. Dalı Kodu: ISIC Kodu:

Uzmanlık Alanı Kodu:

11- Dağıtım (*): Sınırlı

Sınırsız

12- Raporun Gizlilik Durumu: Gizli

Gizli Değil

(*) Projenizin Sonuç Raporunun ulaştırılmasını istediğiniz kurum ve kuruluşları ayrıca belirtiniz.