

Gıdaların İyonize Radyasyonla Muhafazasında Radyasyonun Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri

Yrd. Doç. Dr. Seher ÖZBİLGİN, Doç. Dr. Jale ACAR

H.Ü. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü — ANKARA

ÖZET

Gıdalarda bulunabilen mikroorganizmalar iyonlaştırıcı radyasyonla öldürülmekte veya gelişmeleri durdurulmaktadır. Bu da iyonlaştırıcı radyasyonun direkt veya indirekt etkisiyle gerçekleşmektedir. Mikroorganizmanın cinsi, vejetatif veya spor formda oluşu, ortamın bileşimi ve sıcaklık gibi faktörler ışınlar karşı duyarlılığı etkilemektedir.

Mikroorganizmalar arasında bakteriler, küf ve mayalara kıyasla ışınlar daha dirençli olup, sporlu bakteriler ve özellikle *C. botulinum*'un ışınlar karşı direnci diğer bakterilerden daha fazladır.

Ayrıca, radyasyonun küflerin mikotoksin oluşturmaları üzerine de etkisi vardır. Bu etki küf türü ve ışınlama dozuna göre değişebilmektedir.

SUMMARY

Ionizing radiations can be used to destroy or to inhibit the growth of microorganism in foods. This can be done by either direct or indirect effects of ionizing radiations. The radiation sensitivity of any particular microorganism is influence by such factors as species or strain of microorganism, stage of development (e.g vegetative or spore), chemical composition of medium and temperature.

Among the microorganism, bacteria are the most resistant to effect of radiation than yeast and mold. Furthermore, spore forming bacteria, and especially *C. botulinum* have found to have greater resistance to radiation than other bacteria.

Also, radiation have found to have effect on mycotoxin production of molds. This effect can be change related to the species and irradiation dose applied.

Gıdaların fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik etkilerle bozulmalarının önlenmesi amacıyla çeşitli gıda muhafaza yöntemleri uygulanmaktadır.

İyonlaştırıcı radyasyonla gıda maddelerinin muhafazası birçok gıda muhafaza yöntemine göre yeni bir uygulama olup, ilk kez 1930 yılında Fransa'da bu konuda patent çıkartılmıştır (Ehlermann, 1983). Son yıllarda birçok ülkede gıdaların iyonlaştırıcı radyasyonla muhafazası konusunda yoğun çalışmalar yapılarak bugün endüstriyel uygulamaya geçilmiştir (Özbiğın, 1986).

Radyasyon, bazı gıdalarda doğal olarak bulunan veya herhangi bir şekilde bulaşan mikroorganizmaların öldürülmesi, üremelerinin önlenmesi, faaliyetlerinin durdurulması ve diğer bazı değişik amaçlarla kullanılmaktadır.

Gıdalarda bulunabilen mikroorganizmalar radyasyonun direkt ve indirekt etkisi sonucunda ölürler veya gelişmeleri durdurulur. İyonlaştırıcı radyasyonun mikroorganizma üzerine etkisi, radyasyon enerjisinin canlı organizma tarafından absorbe edilmeleri ile mümkündür. Radyasyon enerjisinin organizmaya (hücreye) aktarılmasıyla uyarılma ve primer iyonlaşma olayları meydana gelmektedir. İlk etkileşme sonucu meydana gelen ve kimyaca reaktif olan ürünler, hücre moleküllerinin parçalanmasına neden olmaktadır. Hücrenin büyük bir kısmını teşkil eden (% 70 - 90) su ile radyasyonun etkileşmesi sonucu, hidrojen, hidroksil gibi serbest radikaller meydana gelmekte ve bu reaktif ürünler hücrenin bileşimindeki diğer maddelerle kimyasal reaksiyonlara giderek biyomoleküler bozuklara neden olmaktadır. Moleküler değişimler daha çok hücrenin metabolik aktivitesi üzerinde yoğunlaştığı için, organizmada fizyolojik değişimler görülmektedir. Ayrıca bu biyokimyasal değişimler genetik materyal sentezine etki ederek mutasyonlara ve etki yoksunsa hücrenin ve organizmanın ölümüne neden olmaktadır. Bu olaylarda moleküllere aktarılan radyasyon enerjisi serbest radikaller aracılığı ile olduğu için bu etkiye radyasyonun indirek (dolaylı) etkisi adı verilmektedir.

Ayrıca radyasyon doğrudan doğruya hücre komponentleri ile reaksiyona girebilmektedir. Yüksek enerjili partiküllerin hücrenin duyarlı

ve yaşam için önemli olan bölümlerine çarparak hasar vermesi ve enerjisini direk olarak organik moleküllere (Örneğin DNA) aktararak onların iyonizasyonuna neden olması radyasyonun direkt etkisi olarak tanımlanmaktadır.

Hücrede görülen reaksiyonlar birbirlerini tamamlayıcı nitelikte olup, reaksiyonlar sonucu meydana gelen hidrojen peroksit gibi toksik maddeler de hücrenin ölümüne neden olabilmektedir.

Ölüm ısı işlemlerde olduğu gibi logaritmik özellik gösterir. Bu bakımdan ışınlarla muhafazada, gıdalarda bulunan başlangıç mikroorganizma sayısı ve bunun yanında mikroorganizmaların ışınlar karşısında duyarlılığı da önemlidir. Mikroorganizmanın cinsi, spor veya vejetatif formda oluşu, ortamın bileşimi ve sıcaklık gibi faktörler ışınlar karşısında duyarlılığı önemli ölçüde etkilemektedir. Bu faktörlerden başka radyasyon dozağı da önem taşır (Özbiğın, 1986; Cemeroglu ve Acar, 1986).

Mikroorganizmanın bulunduğu gıda maddesinin bileşimi ve ışınlama koşulları, organizmanın radyasyona karşı gösterdiği direnci etkilemektedir. Ma ve Maxcy (1981) **Micrococcus radiodurans** ATCC 13939, **Moraxella - Acinetobacter** (M - A), **Escherichia coli** 58, vejetatif hücreleri ve **Bacillus cereus**'un sporları üzerine ışınlama koşullarının ve buldukları ortamın etkisini araştırmışlardır. Donma derecesinin altındaki sıcaklıkta ($-30 \pm 10^{\circ}\text{C}$) yapılan ışınlamaların ve liyofilizasyonun M-A ve **M. radiodurans** hücrelerinin radyasyona karşı direncini artırdığı saptanmıştır. Bu koşullarda M-A saptanan D_{10} değeri (28.3 kGy) **E. coli**'den (0.43 kGy) 66 ve **B. cereus** sporlarından (3.4 kGy) ise 8 kez daha fazladır. **B. cereus** sporlarının radyasyona karşı direnci sıcaklık ve kurutma ile etkilenmediği ve $22 - 27^{\circ}\text{C}$ 'de yapılan ışınlamalara, -30°C 'de yapılanlara kıyasla daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Nemli atmosfer bu organizmaların radyasyona karşı duyarlılığını artırırken, ortamdaki % 8 NaCl'ün herhangi bir etkisi saptanmamıştır.

Organizmaların radyasyona karşı direnci onların büyüklükleri ile ters orantılıdır. Laboratuvar koşullarında, virüslerin radyasyona karşı dirençlerinin çok fazla olduğu ve 100 kGy'lık

ışınlama dozlarında canlılıklarını muhafaza edebildikleri saptanmıştır. Ekonomik ve gıda endüstrisi açısından önemli olan şap hastalığı virüsleri ancak 30 kGy'lık ışınlama dozlarında inaktif hale gelebilmekte, kuru ortamlarda ise 40 kGy'lık ışınlama dozu aynı etkiyi yaratabilmektedir. (Anon., 1982). Çok yüksek olan bu ışınlama dozları gıdalarda istenmeyen değişikliklere neden olduğu için, gıdaların ışınlamadan önce $60 - 70^{\circ}\text{C}$ 'de ısıtılması virüsleri inaktif hale getirebilmektedir.

Spor veren bakterilerden **Clostridium botulinum** ve sporlarının radyasyona karşı direnci fazla olup, gıdaların radyasyona muhafazasında önemli bir sorun yaratmaktadır. Yapılan çalışmalarda **M. radiodurans**, **Moraxella osloensis**, **Acinetobacter calcoaceticus** radyasyona karşı direnci fazla olan bakteriler olarak saptanmıştır. Bu bakteriler ısıya karşı dayanıksız olup ışınlamadan önce enzim inaktivasyonu için yapılan ön ısıtımlarla yok edilebilmektedir. Bundan dolayı steril bir ürün için doz saptanmasında **C. botulinum**'un D_{10} değeri esas alınmaktadır. Potter (1973), **C. botulinum** için $12 D_M$ değerinin (48 kGy) olduğunu ve bu doz seviyesinin belirli ölçüde güvenliği de içerdiğini belirtmiştir. Değişik besi ortamları ve suşları kullanılarak yapılan çalışmada, tavuk konservesine aşılansarak ışınlanan **C. botulinum** A 12885 için D_{10} değeri 3.11 kGy olarak saptanırken, **C. botulinum** B 53 için aynı besi ortamına 3.69 kGy olarak saptanmıştır (Anon., 1982)

Kümes hayvanlarının düşük dozlarda (0,2-0,9 Krad) ışınlandıktan sonra soğukta muhafazasına Hollanda, Güney Afrika gibi bazı ülkelerde izin verilmektedir. Işınlamadan sonra kümes hayvanları üzerinde canlı kalabilen mikroorganizmaların çoğalıp ürünü bozmalarını ve toksin oluşturmalarını önlemek amacıyla ürünün tüketilinceye kadar 10°C 'nin altındaki sıcaklıklarda muhafaza edilmesi şarttır. Bu konuda **C. botulinum** E ile yapılan bir çalışmada bu mikroorganizma ile bulaşmış olan kümes hayvanlarının soğukta muhafaza edilebilme süreleri incelenmiştir. **C. botulinum** A ve B proteolitik türleri 10°C 'nin altında üreyemediklerinden denemede test mikroorganizması olarak **C. botulinum** E (Beluga) seçilmiştir.

C. botulinum E ile 10^2 - 10^3 spor/7 cm² olacak şekilde aşılanan tavuk derileri 3 kGy düzeyinde ışınlanıp aerob ve anaerob koşullarda 10°C ve 30°C'de inkübe edilmişlerdir. Gamma ışınlarının etkisiyle başlangıç mikroorganizma sayısında % 90 düzeyinde azalma saptanmıştır. Işınlandıktan sonra 10°C ve 30°C'de aerobik ve anaerobik koşullarda depolanan örneklerde şu sonuçlar alınmıştır. 30°C'de anaerobik koşullarda depolanan örneklerden % 42'sinde 1 gün sonra toksin bulunduğu halde tüm örneklerde toksin oluşumu 3 gün içinde gerçekleşmiştir. 10°C'de anaerobik ve aerobik koşullarda depolanan örneklerde canlı kalan hücre sayısında azalma olduğu gibi 18 gün süresince toksin oluşumu saptanmamıştır. Işınlanmayan 10°C'de anaerobik koşullarda depolanan örneklerde 3 gün içinde hücre sayısında artış ve toksin oluştuğu bildirilmektedir (Firstenberg-Eden ve ark., 1982).

1 - 4 kGy'le ışınlanan **C. botulinum E** (Beluga) suşlarının sporları üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, ışınlanan sporların ışınlanmamış sporlardan 18 saat sonra, yoğunluğu daha az mikrokoloniler oluşturabildikleri görülmüştür. Mikrokoloniler incelendiğinde, zincirleri oluşan hücrelerin normal hücrelere kıyasla 5 - 8 kez daha uzun oldukları saptanmıştır. Radyasyon dozu arttıkça ışınlanan sporların 10°C'de polimisin ve neomisine duyarlılıkları artmıştır. Işınlamadan zarar gören sporlar, 10°C'de antibiyotikli ortamda tipik makrokoloniler oluşturamamışlardır. 30°C'de ışınlanan sporların radyasyon zararlarını onarabildikleri ve 10°C tipik makrokoloniler oluşturabildikleri belirtilmiştir (Durwood ve ark., 1983).

Özellikle deniz ürünlerinde bozulma etmeni olarak bilinen **Salmonella** serotiplerinin gamma ışınlarına karşı dirençlerinin incelenmesi konusunda Matches ve Liston (1968) tarafından yapılan çalışmada **Salmonella heidelberg**, ATCC 8326, **Salmonella typhimurium**, ATCC, **Salmonella derby**, ATCC 6966 ile radyasyona karşı dirençli olduğu bilinen **Salmonella giva** türleri kullanılmıştır. Bakteriler **Paraphrys vetulus** (İngiliz dil balığı) filetosu ve **Cancer magister** (yengeç) etine 10^1 - 10^4 adet/g olacak şekilde aşılandıktan sonra 0.5 - 1 kGy dozunda ışınlanıp, 5 - 22°C arasında 6 farklı

sıcaklıkta depolanmışlardır. Araştırmacılar 0.5-1 kGy dozundaki ışınlamaların yukarıda belirtilen sıcaklıklarda **Salmonella** sayısında önemli reduksiyona neden olduğunu ve depolama sıcaklığının 6°C'nin altında tutulması halinde, üreme görülmeyip depolama süresinin 14 gün kadar uzayacağını bildirmektedirler. Deniz ürünlerinde diğer önemli bir bozulma etmeni ve patojen mikroorganizma olan **Vibro parahaemolyticus**'un bu ürünlerde 0.3 - 1 kGy ışınlama dozu ile kontrol altına alınabileceği belirtilmektedir (Matches an Liston, 1971).

Patojen mikroorganizmalardan **Salmonella**, **Staphylococcus aureus**, **Yersinia enterocolitica** radyasyona karşı direnci en fazla olan bakterilerdir (Durwood ve ark., 1980). Dana kıymasında izole edilen **Salmonella typhimurium** ve **Salmonella brandenburg** bakterileri için D_{10} değeri 0,35 - 0,55 kGy aralığında bulunmuştur. **Staph. aureus**, **Salmonella intermedius** ve **Salmonella semulans** için bulunan D_{10} değeri ise 0,27 ile 0,38 kGy aralığındadır. **Staphylococcus sciuri** ise diğer **Staphylococcus** türlerine kıyasla daha dirençli olup D_{10} değeri 0,64 ile 0,71 kGy arasındadır. **Pseudomonaslar** radyasyona karşı duyarlılığı fazla olan organizmalar olup D_{10} değerleri 0,1 kGy'dir (Holzapfel ve Niemand, 1986).

Maya ve küflerin radyasyona karşı duyarlılığı bakterilere kıyasla daha fazladır. Mayalar için öldürücü ışınlama dozu 4.65 - 20 kGy, küfler için ise 2,4 - 6,0 kGy arasındadır (Anon., 1982). Aseksüel küf sporları, bakteri sporları kadar radyasyona dirençli olmayıp (dayanıklı türleri hariç) dirençleri bakterilerin vejetatif formları kadardır. İyonize radyasyonun aseksüel küf sporları üzerindeki etkisi Sommer (1973) tarafından incelenmiş, **Penicillium expansum**, **Mucor** türleri, **Botrytis cinerea**'a **Rhizopus stolonifer**, **Alternaria citri**, **Cladosporium herbarum** ve **Alternaria tenuis** için bulunan D_{10} değerleri, sırasıyla 0,5, 0,6, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1 ve 1,4 kGy olarak bildirilmiştir. Taze çileklerde bozulma etmeni olan **R. stolonifer** ve **B. cinerea** üzerinde radyasyonun etkilerini incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda, hasattan hemen sonra 2,5 kGy düzeyindeki ışınlamanın iyi sonuç verdiği saptanmıştır (Anon., 1981).

Sommer ve ark. (1963) *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum* ve *Alternari citri* gibi turuncgillerde bozulma etmeni olan küflerin gamma ışınlarına karşı duyarlılığı konusunda yaptıkları araştırmada *A. citri* sporlarının diğer incelenen küf türlerinden bu ışınlar karşı daha dirençli oldukları belirtmişlerdir. Araştırmacılar her üç küf türünün 10^4 adet/ml spor süspansiyonu ile 0,1 ml düzeyinde aşıladıkları Washington portakallarında adı geçen küf türlerinin % 80 oranında inhibe edilebilmesi için gerekli doz miktarının *P. italicum* ve *P. digitatum* için 2,5 kGy *A. citri* için 4,5 kGy düzeyinde olduğunu belirtmişlerdir.

Dennison ve Ahmed (1966), 2 kGy düzeyindeki ışınlamanın turuncgillerde *Penicillium* sporlarını inhibe ettiğini, bu ürünlerin depolama süresinin 24°C'de 20 gün ve 1°C'de ise 124 güne kadar uzatılabildiğini bildirmektedirler.

Hububatta bozulma etmeni olan *Aspergillus glaucus*'un miselyum, askospor ve konidilerinin gamma ışınlarına karşı duyarlılığı farklı olup, konidilerin nemli ortamda D_{10} 2 değerini 0,18 - 0,30 kGy, askosporların D_{10} değerinin ise 0,54 olduğu belirtilmiştir. Kuru ortamda ise konidia ve askosporların D_{10} değerleri aynı olup, 0,50 - 0,58 kGy'dir. Hububatta bulunan *A. glaucus* 5-6 kGy düzeyindeki ışınlama ile öldürülebilmektedir (Hove ve ark., 1973).

Gıdalarda ve yemlerde önemli bir bozulma etmeni olan Aflatoksin oluşturan *Aspergillus flavus* konidiaları üzerine gamma ışınlarının etkisi ve radyasyon dozu ile logaritmik canlı kalma eğrisi arasında doğrusal bir ilişkinin olduğu saptanmıştır. *A. flavus* konidialarının pH değeri 4, 5, 6 ve 7'ye ayarlanan sitrat tampon çözeltisindeki $10^6 - 10^7$ adet/ml konsantrasyonundaki süspansiyonunun gamma ışınlarına karşı direncinin incelendiği bir çalışmada 0,5 kGy düzeyinde ışınlanmış örneklerde pH'nın ölme üzerinde etkisinin olmadığı, buna karşılık 1 kGy düzeyinde ışınlanan örneklerde etkinin düşük pH derecesinde daha az, pH'nın yükselmesi ile birlikte ölen hücre sayısının arttığı belirtilmektedir. 1,5 kGy düzeyindeki ışınlamada ise etkinin genel olarak düşük pH derecesinde fazla olmakla birlikte değişkenlik gösterdiği açıklanmaktadır (Kopelman ve ark., 1967).

A. flavus konidialarının yine $10^6 - 10^7$ adet/ml konsantrasyonundaki % 0-40'luk dekstroz çözeltisindeki süspansiyonunun gamma ışınlarına karşı dirençlerini incelemek amacıyla örnekler 0, 0,5, 1, 1,5 ve 2 kGy düzeyinde ışınlanmışlar ve genel olarak ışın dozu arttıkça ölmenin ve ortamdaki dekstrozun konsantrasyonunun artması ile konidiaların ışına karşı dirençlerinin de arttığı ve dekstrozun koruyucu etkisi saptanmıştır (Kopelman et al., 1967).

Bitkisel orijinli gıda maddelerinde ışınlamanın mikotoksin oluşumuna etkisi üzerinde çalışmalar yapılmışsa da, bu çalışmaların sonuçları çelişkilidir.

Aspergillus ochraceus, *A. flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'un toksin üretimi konusunda yapılan çalışmada, toksin üretiminin bu organizmaların türlerine ve ışınlama dozuna göre değiştiği bildirilmiştir. Bu çalışmada *A. ochraceus* kültürünün sporları 0,1, 0,25, ve 0,5 kGy dozlarda en fazla toksin üretmiştir. Aynı sonuçta *A. flavus*'ta 0,16 ve 0,9 kGy'de, *A. parasiticus*'te ise 4,3 kGy'de ulaşılmıştır. Aynı şekilde Jemmali ve Guilbot (1970a) 0,2 kGy daha düşük dozlarda yapılan ışınlamaların aflatoksin üretimini artırdığını belirtmişlerdir. Behere ve ark. (1978) buğdaylar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 0,2 kGy'le ışınlanan buğdayların ışınlanmayanlara kıyasla daha az aflatoksin içerdiklerini saptamıştır.

Penicillium patulum'un (*Penicillium griseofulvum*) toksin üretimi ışınlama dozu arttıkça azalmaktadır. 0,1 kGy'le yapılan ışınlama NRRL 989 suşlarının patulin üretimini saptanmayacak derecede azaltırken, M 108 suşlarının patulin üretimini engellemiştir. 0,2 kGy ışınlama dozu misellerin büyümesini engellememişse de patulin üretimini durdurmuştur. Her iki ışınlama dozunun gerek NRRL 989 ve gerekse M 108 suşlarının spor misellerinde daha sonra patulin üretimini teşvik edici bir etkisi görülmemiştir (Bullerman ve Hartung, 1975).

Gıdaların ışınlanarak muhafazasında, gıda maddesinin mikroorganizmaların öldürülmesi için gerekli ışın dozuna karşı toleransı da önemlidir. Bu bakımdan optimum ışınlama dozu, ürüne zarar vermeden mikroorganizmalara zarar veren ışınlama dozu olarak tanımlanmakta-

dır (Özbiğın, 1986). Örneğın; 1 kGy ve daha yüksek radyasyon dozunun küfler üzerinde öldürücü etkili olmaları ve böylece turunçğillerin depolama sürelerinin uzamasına karşılık, depolamanın uzaması ile birlikte ürünün kabuğunda ışınlanmanın etkisiyle karamalar meydana geldiği de bildirilmektedir (Monselise ve Kahan, 1968). Bundan ötürü gıdaların ışınlanarak muhafazasında, gıdalarda bozulma yapan mik-

roorganizmalar ve gıdanın özellikleri gözönüne alınarak ışın dozu düzeyinin farklı olduğu uygulamalar yapılmaktadır. Bazı ürünlerde sadece mikroorganizma sayısını azaltmak ve raf ömrünü uzatmak amaçlanarak radurizasyon, radisasyon yeterli olmaktadır. Bazı ürünlerde ise örneğın baharatta olduğu gibi, ortamdaki mikroorganizmaların tümünü öldürmek amacıyla radapertizasyon yapılmaktadır.

KAYNAKLAR

- Anonymous, (1982). Training Manual on Food Irradiation Techn. Technical Report Series, No . 14, IAEA, Vienna P. 43.
- Anonymous, (1981). Food Irradiation Information, No . 12, p. 46.
- Behere, A.G., A. Sharma, S.R. Padual - Desai and G. B. Nadkorni, (1978). Production of aflatoxins during storage of gamma irradiated wheat, J. Food Science. 43 : 1102.
- Bullerman, L. B. and T. E. Hartung, (1975). Effect of low level gamma irradiation on growth and patulin production by *Penicillium patulum*. J. Food Sci. 40 : 195.
- Cemeroğlu, B. ve J. Acar (1986). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No : 6, Ankara, S. 74.
- Dennison, R. A. and E. M. Ahmed (1966). Irradiation of Duncan grapefruit, pineapple and Valencia oranges and Temples, Proc. Florida State Hort. Soc., 79, 285 - 292.
- Durwood, B. R. and A. Brynjolfsson (1980). Potential uses of irradiation in the processing of food. Food Techn. 34 : 75.
- Durwood, B. R., R. Firstenberg-Eden and G. E. Shattuck, (1983). Radiation-Injured *Clostridium botulinum* type E. Spores.: Outgrowth and Repair, J. Food Eci. 48 : 1829.
- Ehlermann, D. A. E. (1983). Future prospects for radiation processing of food. In P. S. Elias and A. J. Cohen (Ed.) Recent Advances in Food Irradiation, Elsevier Sci. Publ. Comp. N.Y. p. 331.
- Firstenberg-Eden, R., D. B. Rowley and G. E. Shattuck (1982). Factors affecting growth and toxin production by *Clostridium botulinum* type E on irradiated (0,3 Krad) chicken skins. J. Food Sci. 47, 867 - 870.
- Holzopfel, W. H. and J. G. Niemand (1986). The role of lactobacilli and other bacteria in radurized meat, Food Irradiation Processing (Symp. Washington D.C.), IAEA, Vienna, P. 239.