

Düşük Dozda Elektron Demeti Bombardımanının *Penicillium expansum* ve *Aspergillus clavatus*'un Bazı Özellikleri İle Patulin Oluşturmasına Etkileri

Gıda Yük. Müh. F. Esen KAYTANLI

Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Gıda Güvenliği Bölümü — ANKARA

Prof. Dr. Jale ACAR

H. Ü. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü — ANKARA

ÖZET

Üretilen gıdaların taze veya işlenmiş halde muhafazası hızlı nüfus artışında etkisiyle günümüzde büyük bir önem taşımaktadır.

Küfler gıdaların bozulmalarında, tüketilemez hale gelmelerinde rol oynamakla beraber gıdalarda oluşturdukları mikotoksinlerin ve bunlar arasında patulinin de insan sağlığı açısından önemi büyüktür.

Farklı muhafaza yöntemlerinin gıdalarda küf gelişimi ve mikotoksin oluşumu üzerinde etkileri değişiktir. Bu nedenle son yıllarda gıdaların muhafazalarında kullanılmaya başlanan elektron demeti bombardımanının gıdalarda bozulma ve mikotoksin yapabilen *Penicillium expansum* ve *Aspergillus clavatus*'un bazı özellikleri ve patulin oluşturmasına etkileri incelenmiştir.

Summary

The Effects of Low Level Electron Beams on the Patulin Production and Some of the Characteristics of *Penicillium expansum* and *Aspergillus clavatus*.

Today the importance of conservation of foods in fresh or processed form is worth to consider at the expense of increasing population of human beings.

Moulds not only render foods spoiled but also they threaten human health seriously by means of mycotoxins among which patulin is included.

Different food conservation methods have unlike effects on mould growth and mycotoxin production in foods. That's why in the last decade of food preservation, the effects of electron beams on the food spoilage and

mycotoxin producing *Penicillium expansum* and *Aspergillus clavatus* with their ability to produce patulin have been studied.

1. GİRİŞ

Küfler, gıda endüstrisinde en güç koşullarda dahi (düşük su aktivitesi, geniş pH aralıkları, geniş sıcaklık aralıkları vb.) gelişebilmeleri ve diğer mikroorganizmalara oranla çok daha hızlı yayılmaları ve mikotoksin oluşturmaları nedeniyle önemli bir sorun olma özelliklerinin halen korumaktadırlar.

Küfler üredikleri gıdaları tüketilemez bir hale getirdikleri gibi gıdalarda oluşturdukları mikotoksinlerle de onları insan sağlığı açısından zararlı bir hale getirirler.

Mikotoksinler içinde patulin doğada yaygınlığı ve biyolojik sistemler üzerindeki etki gücü nedeniyle önemli bir metabolittir ve bazı *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Byssosclamyces* türleri tarafından oluşturmaktadır. Antibiyotik, kanserojen, mutajen ve teratojen etkiye sahip olan patulinin bu nedenle toplum sağlığı açısından önemli bir potansiyeli vardır (Topal, 1987; Acar ve Arsan, 1988).

Özellikle son yıllarda gıdalardaki mikroorganizma gelişmelerini kontrol altına alıp gıdanın raf ömrünün uzatılması amacıyla çeşitli ışıklardan yararlanılmaktadır. Işınlama yöntemleri ucuz, etkili ve kolay uygulanır olması nedeniyle de tercih edilmektedir. Ancak gıdaların ışınlarla muhafazası sırasında üründe oluşabilecek kalite değişimleri yanında insan sağlığı açısından zararlı maddelerin oluşabileceği olasılığı nedeniyle bu konudaki çalışmalar henüz tamamlanmamıştır (Urbain, 1988).

Bugün dünyada bazı ülkeler gıdaların ışınlarla muhafazasına izin verirken bir kısım ülkeler bu konuda halâ çekimser davranmaktadır.

Son yıllarda gıdaların iyonize ışınlarla muhafazası yanında elektron demeti bombardımanı ile muhafazası konusunda da çalışmalar yapılmaktadır. Elektron demeti bombardımanı, enerjisi 10 MeV'e kadar yükseltilmiş elektron demetinin mekanik olarak üretilmesi ile oluşan bir radyasyondur.

Elektron demeti bombardımanının ve diğer iyonize ışınların uygulama maliyet hesapları karşılaştırıldığında, elektron demeti ile ışınlanmanın yüksek kapasiteli ünitelerde daha ekonomik olduğu saptanmıştır (Cleland, 1986).

İyonize edici ışınların mikroorganizmalar üzerindeki etkileri uzun zamandır incelendiği halde elektron demeti bombardımanı konusunda henüz yeterli çalışmalar yapılmamıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Test mikroorganizması

Çalışmada test mikroorganizması olarak Justus-Liebig Üniversitesi, Mikrobiyoloji Enstitüsü Almanya'dan sağlanan ve H.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarındaki araştırmalarda kullanılan *Penicillium expansum* ve *Aspergillus clavatus* türü küfler kullanılmıştır.

Kültürler Patates Dekstroz Agar (PDA) ve Patates Dekstroz Broth (PDB) besiyerinde üretilmiştir.

2.1.2. Işın kaynağı

Çalışmada gerekli düşük dozda elektron demeti bombardımanı için H.Ü. Beytepe Kampüsü Nükleer Enerji Mühendisliği Bölümü'nde gücü 600 Mrad/saat olan Van de Graff elektron akseleratörü kullanılmıştır. Işınlama sırasında, kaynaktan ışın gelen bölgeye 0,001 inch kalınlığında özel alaşımli alüminyum folye kaplanarak X-ışını gelmesinin önlenmesine çalışılmıştır.

2.2. Metot

Yatık P.D.A.'ya ekilen *P. expansum* ve *A. clavatus* kültürleri 25°C'de 10 gün inkübe edildikten sonra 3120 devir/dak hızda santrifüjden yararlanılarak spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Elde edilen spor süspansiyonları $4,5 \times 10^5$ adet/ml bulunacak şekilde bileşiminde M/15 Na_2HPO_4 ve M/15 KH_2PO_4 bulunan pH'7'ye ayarlı tampon çözelti ile seyreltilmiştir. Bu şekilde hazırlanan spor süspansiyonları kullanılmaya kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Elde edilen spor süspansiyonları P.D.A. besiyeri üzerine 0,1 ml hacminde ekilip, drijalski spatülü ile yayıldıktan sonra 1 saat buzdolabında bekletilip, 300 krad dozunda elektron demeti ile ışınlanmıştır. Elektronlar adı candan geçemedikleri için petri kutusundaki katı besiyerine ekim yapıldıktan sonra, petri kutusu kapağı açık olarak ışın çıkışına dik açıda tutularak ışınlama yapılmıştır. Daha sonra koloni rengi, koloni çapı ölçümü, sporulasyon hızı analizlerine geçmek için bu besiyerinde 25°C de 7 gün inkübe edilmişlerdir.

Kuru misel ağırlığı ve patulin analizi için ise P.D.B. sıvı besiyerinden yararlanılmıştır. Katı besiyerinden sıvı besiyerine geçirilen küfler 25°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. Patulin analizi Acar ve Kleushofer (1984) tarafından önerilen ince tabaka kromatografisi yöntemi ile ancak bazı farklılıklarla uygulanarak yapılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Elektron Demeti Bombardımanının *P. expansum*'un Bazı Özelliklerine Etkisi

Elektron demeti bombardımanı *P. expansum*'un koloni gelişimini önemli düzeyde engellemiştir. Işınlamadan PDA üzerinde gelişmeleri sağlanan *P. expansum* sporlarının daha kısa sürede çimlenerek ortalama $4,00 \pm 0,05$ cm çapında koloni oluşturmalarına karşın ışınlanan sporların PDA üzerinde oluşturdukları koloni çapı ortalama $3,00 \pm 0,08$ cm olarak bulunmuştur.

PDA üzerinde oluşan ışınlanmamış örnek- lere ait kolonilerin rengi tipik yeşil olduğu halde ışınlanan örneklerde tipik yeşil koloni- ler yanında sarımsı renkli kolonilerin varlığı da saptanmıştır.

Işınlanan **P. expansum** sporlarından elde olunan kültürlerin sporulasyon hızlarının ışın- lanmamış örneklerden daha düşük olduğu sap- tanmıştır. 25°C'de 7 günlük inkübasyon sonu- cunda ışınlanmamış örneklerde spor sayısı or- talama $6,4 \times 10^6$ adet/ml olarak bulunurken ışın- lanan örneklerde $1,5 \times 10^5$ adet/ml olarak sap- tanmıştır.

Elektron demeti bombardımanının **P. expan- sum**'un kuru misel ağırlığı üzerinde de etkili olduğu görülmüş, ve ışınlanmamış örneklerde ortalama kuru misel ağırlığı $0,2706 \pm 0,012$ g/7 gün saptanmıştır. Işınlanmış örneklerde ise $0,1596 \pm 0,012$ g/7 olarak bulunmuştur. Buna göre elektron bombardımanı **P. xpansum** kuru misel ağırlığını % 41 düzeyinde azaltmıştır.

Gelişimi elektron demeti bombardımanı ile engellenen **Pexpansum**'un oluşturduğu pa- tulin miktarı da gelişmesi gibi ışın etkisiyle azalmıştır. PDB besiyerine ekilip 25°C'de 7 gün süreyle inkübe edilen **P. expansum**'un ışınlan- mamış örnekleri bu süre sonunda 210 µg/l pa- tulin oluşturduğu halde ışınlanmış örnekte patulin miktarı 125 µg/l olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre ışınlanmış örnekte oluşan pa- tulin miktarı ışın almamış örneğe göre % 59 oranında daha azdır.

3.2. Elektron Demeti Bombardımanının

A. clavatus'un Bazı Özelliklerine Etkisi

A. clavatus örneklerinde de elektron deme- ti bombardımanı ışınlamasının **P. expansum** ör- neklerine benzer etkiler yaptığı saptanmıştır.

Işınlanmış **A. clavatus** örneklerinde beyaz renkli ve yoğun misel gelişimi göstermeyen ko- loniler gözlenirken, ışınlanmamış örneklerde daha yoğun bir gelişme gözlenmiştir.

Işınlanmamış **A. clavatus** sporlarının PDA üzerinde oluşturduğu kolonilerin ortalama çap- ları $6,00 \pm 0,02$ cm olarak ölçüldüğü halde ışın- lanmamış örneklerdeki koloni çapı ortalaması $5,00 \pm 0,001$ cm'dir.

Sporulasyon hızı üzerinde de elektron de- meti bombardımanının etkileri görülmüştür. Işınlanmamış örneklerde başlangıç spor sayısı $4,50 \times 10^5$ adet/ml'den $4,00 \times 10^6$ adet/ml'ye yük- selirken ışınlanan örneklerde $4,05 \times 10^5$ adet/ml olarak saptanmıştır. Kontrola göre ışınlanmış örneklerde sporulasyon hızı % 26 oranında da- ha azdır.

Kuru misel ağırlığında da ışınlanmış ör- neklerde ışınlanmamış örneklere göre % 31 bir azalma vardır. Kontrol örneklerinde ortala- ma kuru misel ağırlığı $0,2392 \pm 0,0500$ g/7 gün iken ışınlanmış örneklerde bu değer ortalama $0,1649 \pm 0,0210$ g/7 gün'dür.

Kontrol örneklerinde PDB besiyerinde 25°C de 7 gün sonra 390 µg/l patulin olduğu hal- de ışınlanan örneklerde patulin miktarı 220 µg/l düzeyinde yani % 43 daha azdır.

4. SONUÇ

Bu araştırmada gıdaların ışınlanmasında kullanılabilecek dozlarla elektron demeti bombardımanının, gıdalarda bulunabile- cek ve mikotoksin oluşturabilen küflerden iki farklı cinste yer alan **P. expansum** ve **A. clava- tus**'un bazı özelliklerine etkileri incelenmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre ışınlar her iki küfün de gelişimini ve buna bağlı olarak miko- toksin oluşumunu önemli sayılabilecek düzey- de etkilemiştir.

Elektron demeti ışınlamasında çalışılan 300 krad'lık dozun **P. expansum**' ve **A. clava- tus**'un koloni gelişimini, yaygın üremeyi, spo- rulasyon hızını ve sporların kuru misel ağırlık- larını azalttığı yani küf gelişimini belli oranda inhibe ettiği saptanmıştır.

Test mikroorganizmaları 300 krad dozunda elektron demeti ile ışınlandığında gıda mikrobiyolojisi açısından önemli kriter olan patulin oluşturulmasında küf cinsine göre değişmekle birlikte % 43'den % 50'ye varan azalmalar belirlenmiştir.

Yapılan çalışma sonunda araştırma sırasında gözönüne alınan kriterlerde genel olarak *A. clavatus*'un elektron bombardımanı ışınlama-

sına direncinin *P. expansum*'dan göreceli olarak daha fazla olduğu saptanmıştır.

TEŞEKKÜR :

Değerli yardımları için Hacettepe Üniversitesi Nükleer Enerji Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Yalçın Sanalan ve Gıda Mühendisliği Bölümünde Ar. Gör. Melih Tamer'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Acar, J. und H. Klaushofer (1984) Vorkommen und Nachweis von Patulin in handelsüblichen Tomatenpasten, Ernährung / Nutrition 8/6, 323 - 326.

Acar, S. ve B.T. Arsan (1988) Meyve sularında patulin oluşumu üzerinde araştırmalar, TÜBİTAK Proje No TOAG 554, Basılmamış, Ankara.

Cleland, C.M. (1986) Electrons versus gamma rays: Alternative sources for irradiation process: I.A.E.A. Vienna 397 - 405.

Topal, Ş. (1987) Bazı önemli mikotoksinler ve özellikleri, Gıda 10/5, 283 - 292.

Urbain, M.W. (1989) Food irradiation, The past fifty years as prologue to tomorrow, Food Technology 7, 76 - 80.