

BUĞDAY VE UNDA IŞINLAMA UYGULAMASININ BAZI NIŞASTA ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

A STUDY ON THE EFFECTS OF IRRADIATION TREATMENT OF WHEAT AND FLOUR ON VARIOUS STARCH PROPERTIES

Hamit KÖKSEL¹ Süeda ÇELİK¹ Süheyla ÖZBEY²

- 1) Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
2) Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fizik Mühendisliği Bölümü

ÖZET : Bu çalışmada elektron mikroskobu ve X-ışını kırınım tekniği kullanılarak ışınlanmış buğday ve un örneklerindeki nişasta granülleri ile ışınlanmamış örneklerdeki granüller arasında farklılık olup oluşmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. İki adet ekmeçlik ve bir adet makarnalık buğday örneği ⁶⁰Co kaynağında 0.5; 1.0; 2.5; 5.0 kGy dozlarında ışınlanmış ve daha sonra bu buğday örneklerinin unlarından nişasta örnekleri elde edilmiştir. Nişasta örnekleri elektron mikroskobu ile incelendiğinde 5 kGy dozda ışınlanmış örnekler ile ışınlanmamış örnekler arasında önemli bir fark görülmemiş, ışınlama uygulanması ile granüllerin değişikliğe uğramadığı belirlenmiştir. Ayrıca, bir adet un örneği ¹³⁷Cs kaynağı kullanılarak 1, 3, 5, 7, 9, 10, 20, 30 kGy dozlarında ışınlanmıştır. 30 kGy'e kadar uygulanan tüm ışınlanmanın dozlarında un örneklerinin X-ışını kırınım desenlerinden elde edilen bağıl alan değerlerinde (nişasta bağıl kristalite değerlerinde) ışınlanmamış kontrol örneğine göre artış olduğu gözlenmektedir. Fakat bu artış düzenli değildir ve ışınlama dozlarındaki artış ile paralellik göstermemektedir.

SUMMARY: In this study, scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction technique were used in order to detect possible differences in starch granules caused by irradiation of wheat and flour. One durum and two bread wheat samples were treated with gamma irradiation at 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 kGy levels by using a ⁶⁰Co source. Starch granules isolated from respective flours were examined by using SEM. Irradiation exposure up to 5 kGy did not appear to cause large differences in the starch granules of three wheat samples. In addition, one flour sample was irradiated at 1, 3, 5, 7, 9, 10, 20, 30 kGy levels by using a ¹³⁷Cs source. X-ray diffraction patterns of these flour samples were taken and relative crystallinities of their starches were determined from the areas under diffractograms. In this study, all irradiated flour samples had higher relative crystallinity values as compared to control. However the increase was not parallel to the increasing irradiation levels.

GİRİŞ

Gıda sanayiinde bozulmayı önlemek amacıyla çeşitli muhafaza yöntemleri kullanılmaktadır. Son yıllarda ışınlanmanın, aynı amaçla kullanıma imkanları konusundaki araştırmalar da artmaktadır. 1980 yılında FAO/IAEA/WHO Birleşik Uzmanlar Komitesi herhangi bir gıda maddesine ortalama 10 kGy'e kadar ışınlama uygulanmasının gıda maddesinde hiçbir toksikolojik tehlike yaratmayacağını bildirmiştir (ANONYMOUS 1981).

Birçok ülkede ışınlanmış gıdaların ithaline ve pazarlanmasına izin verilmezken, son yıllarda bazı ülkelerde iyonize radyasyonun spesifik amaçlı kullanımına izin verilmiş olup, diğer bazı ülkelerde ise konunun incelenmesine devam edilmektedir (DODD ve ark., 1985 ; BÖGL, 1989). Işınlanmış gıdalarla ilgili ülkelerarası yasal farklılıklar ve gıda maddelerinin uluslararası ticarete giderek daha fazla girmesi, araştırmacıların ışınlanmış gıdaların denetlenmesinde kullanılacak metodlar geliştirme konusundaki çabalarında artışa neden olmaktadır. Işınlama işleminin denetlenmesi ve ışınlanan ürünlerin kontrolü için çeşitli yasal düzenlemeler hazırlanabilir. Ancak etkin bir denetleme yapabilmek için gıda maddelerinin ışınlanıp ışınlanmadığını belirlemeye ve ışınlama dozunu tahmin etmeye yönelik metodların geliştirilmesi gereklidir.

Gıda maddelerinin ışınlanıp ışınlanmadığının veya uygulanmış olan ışınlama dozunu tesbit etmek için geliştirilen yöntemlerden hiçbiri, henüz uluslararası düzeyde geniş kabul görmemiş olup, bu alanda çalışmalar devam etmektedir. Bu amaçla kullanımı önerilen çeşitli teknikler içerisinde fiziksel, kimyasal veya biyolojik esasa dayanan ölçümler yer almaktadır (BÖGL, 1989). Bu tür metodların geliştirilmesi, ilgili yasalara uyulup uyulmadığı, uluslararası ticarete giren ışınlanmış gıdaların kontrolü, birden fazla ışınlanmanın engellenmesi, absorbe edilen dozun ve bu dozun homojen olarak dağılıp dağılmadığının kontrolü ile etiketlemenin kontrolü gibi konularda yararlı olacaktır.

Şu anda ülkemizde ışınlamaya izin verilmese bile uluslararası ticarete giren bazı gıdaların ışınlanmış olduğu bilinmektedir. Bu nedenlerle, ithalat yolu ile ülkemize giren hububat ve ürünlerinin ışınlanıp ışınlanmadığının tespitinde kullanılabilir metotların araştırılması gerekmektedir. Daha önce Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi'nde yapılan çalışmalarda hububat ve ürünlerinin ışınlanıp ışınlanmadığının tespitinde elektron spin rezonans (ESR) ve X-ışını toz kırınımı teknikleri denenmiştir. X-ışını kırınım tekniği kullanılan çalışmada, ışınlanmış buğdayların nişastalarının bağlı kristalite değerlerinin ışınlanmış örneğe göre artış gösterdiği, fakat artışın düzenli olmadığı ve ışınlanmamış kontrol örneği ile karşılaştırma gerektiği belirlenmiştir. Bu nedenle X-ışını kırınım tekniği ancak diğer tekniklerle elde edilen bulguları destekleyici olarak kullanılabilir (KÖKSEL ve ark., 1992) ESR ile yapılan çalışmada ise belirli zaman süreleri içerisinde ışınlanmış buğdayın tespit edilebileceği kaydedilmiştir (KÖKSEL ve ark., 1993).

Nişasta araştırmalarında güçlü bir araç olarak kabul edilen X-ışını kırınım tekniği bir örnekten saçılan ışınların şiddetinin, saçılma açısı 2θ 'ya karşı grafiğe alınması esasına dayanır. Eğer örnek tamamen periyodik bir yapıda (kristal) ise, X-ışını kırınım deseninde bazı açılarda yüksek ve keskin maksimumlar görülür. Eğer madde bölgesel periyodiklik gösteriyorsa, X-ışını saçılma eğrisinde bir veya iki maksimumdan başka birşey görülmez. Nişasta bu anlamda semikristalin bir maddedir. Bu nedenle nişasta granüllerinin kırınım desenleri amorf taban üzerinde, keskin olmayan birkaç maksimum gösterir. X-ışını kırınım tekniği ile incelenen sağlam nişasta granülleri 3 farklı tipte X-ışını kırınım deseni vermektedir. Hububat nişastaları A deseni; patates gibi kök bitkilerinin nişastaları ile retrograde nişastalar B deseni; baklagil bitkilerin nişastaları ise C deseni verir (HOSENEY 1986).

MACARTHUR ve D'APPOLANIA (1984) tarafından yapılan bir çalışmada, uygulanan gamma radyasyonunun dozuna bağlı olarak buğday nişastasının bağlı kristalite oranının arttığı ileri sürülmüştür. Gamma ışınları ile ışınlama bir maddenin, kristalin yapısını etkiliyorsa bağlı şiddetin, dolayısıyla eğri altında kalan alanın değişmesi gerekir. Bu ise değişik ışınlama dozları uygulanan örneklerin kırınım desenlerinde, piklerin konumlarının aynı kalarak şiddetlerinin değişmesine neden olur. Eğri altında kalan toplam alanın hesaplanması ile, yapıdaki değişiklikler hakkında bilgi edinilebilir ve ışınlama dozuna bağlı olarak bağlı kristalite oranları elde edilebilir.

Bu araştırmada Ülkemiz gıda sanayiinde önemli bir yeri olan hububat sektörünün hammaddeleri olan buğday ve unun ışınlanıp ışınlanmadığı veya aşırı bir doza maruz kalıp kalmadığının tesbiti olanakları ele alınmıştır. Bu amaçla araştırmada, tarama elektron mikroskopu (scanning electron microscopy = SEM) ve x-ışını toz kırınım teknikleri kullanılarak un ve nişasta örnekleri incelenmiş ve elde edilen X ışını kırınım desenleri ve SEM mikrograflarının ışınlanma ve ışınlama dozuna etkilenip etkilenmediği araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmanın elektron mikroskopu ile yapılan bölümünde, materyal olarak Toprak Mahsülleri Ofisi'nden alınan iki adet ekmeçlik buğday örneği (Bczostaya ve Gerek-79) ile bir adet makarnalık buğday örneği (Kundur) kullanılmıştır. Bu örnekler H.Ü. Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü'ndeki ^{60}Co kaynağında 0,5; 1,0; 2,5; 5,0, kGy dozlarında ışınlanmıştır. Işınlanan buğday örnekleri, Brabender Quadromat Junior laboratuvar değirmeninde öğütülerek unları elde edilmiştir. Daha sonra un örnekleri hamur haline getirilip tampon çözelti ile yıkanarak nişastaları glutenden ayrılmış ve liyofilize edilerek kuru nişasta örnekleri elde edilmiştir. Nişasta ayırımında WALDEN ve McCONNELL (1955) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır.

Çalışmanın X-ışını kırınım tekniği ile yapılan bölümünde ise bir adet ticari un örneği (Tip 2) daha yüksek dozlara kadar (1, 3, 5, 7, 9, 10, 20, 30 kGy) ışınlanmıştır. Un örneklerinin ışınlanmasında Lalahan Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü'nde bulunan ^{137}Cs kaynağı kullanılmıştır.

Işınlanmış ve ışınlanmamış buğday örneklerinin nişasta granülleri arasında farklılık olup olmadığı, örnekler elektron mikroskopu ile incelenerek belirlenmeye çalışılmıştır. Nişasta ve un örnekleri iki taraflı bant (3M) yardımı ile düz uçlu başlıklar (stub) üzerine yapıştırıldıktan sonra "Polaron Equipment Limited SEM coating unit E 5100" kaplama sisteminde altınla kaplanmıştır. Kaplanan örnekler Leitz-AMR 1000 marka tarama elektron mikroskopu ile, ikinci elektron modunda incelenerek tipik alanlar resimlenmiştir.

Un örneklerinin kırınım desenleri Philips (Model PV 1140) difraktometrede aynı koşullar altında alınmıştır. Çalışma sırasında bakır hedefli X-ışını tüpüne uygulanan voltaj 40 kV, akım 18 mA, tarama hızı 2°/dak, kağıt hızı 2 cm/dak olarak seçilmiştir. Bağlı şiddet eğri altında kalan alanla orantılı olduğu için deney süresince şiddeti etkilememek amacı ile bu koşullar sabit tutulmuştur. Difraksiyon eğrileri altında kalan alanlar $2\theta = 5-30^\circ$ arasında planimetre kullanılarak ölçülmüştür.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

X-Işını Kırınım Tekniği ile Yapılan İncelemeler

Daha önce yapılan bir çalışmada, çeşitli dozlarda ışınlanan iki adet ekmeklik ve bir adet makarnalık buğday örneğinden ayrılan nişasta örneklerinin difraksiyon desenleri altında kalan alanlar Çizelge 1'de verilmiştir (KÖKSEL ve ark., 1992).

Çizelge 1 incelendiğinde tüm ışınlama dozlarında makarnalık ve ekmeklik buğdalardan elde edilen nişasta örneklerinin bağlı alan değerlerinde, ışınlanmamış örneğe göre artış olduğu, fakat bu artışın düzenli olmayıp, ışınlama dozlarındaki artış ile paralellik göstermediği belirlenmiştir.

NARA ve çalışma arkadaşları (1978) patates nişastasını ile yaptığı araştırmalarında, rutubet oranının X-ışını kırınım desenlerini etkilediğini belirlemiştir. Diğer bir çalışmada, nişasta örneklerinin nem oranları arasındaki farkların sonuçları etkilemesini engellemek amacı ile çeşitli dozlarda ışınlandıktan sonra nem oranı dengelenmiş nişasta örneklerinin X-ışını kırınım desenlerinden elde edilen toplam alan ve bağlı alan değerleri incelenmiştir. Nem oranı dengelenmiş nişasta örneklerinde de, tüm ışınlama dozlarına ait bağlı alan değerlerinde, ışınlanmamış örneğe göre artış olduğu gözlenmiştir. Fakat artışın düzenli olmadığı ve ışınlama düzeyindeki artış ile paralellik göstermediği bildirilmiştir (KÖKSEL ve ark., 1992).

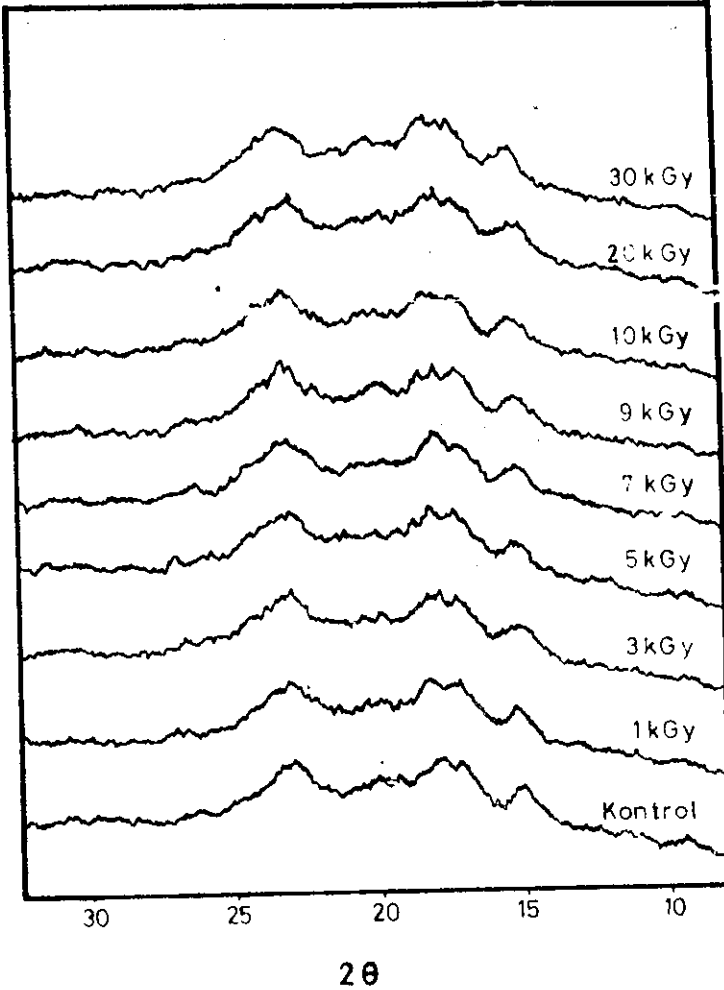
Nişasta örneklerinin hazırlanması sırasında nişastanın yıkanarak ayrılması ve liyofilizasyon işlemlerinin, nişastanın granüler yapısında değişiklik yaratıp yaratmadığının da irdelenmesi gereklidir. Bilindiği gibi unun bileşiminin büyük bir çoğunluğunu nişasta oluşturmaktadır. Unun bileşiminde nişastadan sonra en fazla protein bulunmaktadır. Ancak proteinin miktarca daha az ve amorf yapıda olması nedeni ile un örneğinin X-ışını difraksiyon desenindeki kristalite ile ilgili olan pikleri etkileyemeyeceği beklenmektedir. Bu durumu incelemek üzere yapılan bir ön çalışmada çeşitli un örnekleri ile bu undan elde edilen nişastalara X-ışını kırınım desenleri karşılaştırılmıştır. Un örneği de nişasta örneği gibi tipik A deseni vermiştir. Bu nedenle bu çalışmada un örneklerinin X-ışını kırınım desenleri alınırken nişastaları ayrılmamıştır. Bu difraksiyon desenleri Şekil 1'de birlikte verilmiştir. Difraksiyon eğrileri altında kalan alanlar ise Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 1. Çeşitli Nişasta Örneklerinin X-ışını Kırınım Desenleri Altında Kalan Alan Değerlerinin Işınlama Dozları ile Değişimi (KÖKSEL ve ark., 1992)

Işınlama Dozu (Krad)	Bezostaya		Gerek		Kunduru	
	Toplam Alan (cm ²)	Bağlı Alan (%)	Toplam Alan (cm ²)	Bağlı Alan (%)	Toplam Alan (cm ²)	Bağlı alan (%)
Kontrol (0)	47,32	100,0	47,73	100,0	48,24	100,0
50	47,58	100,6	54,76	114,7	50,11	103,9
100	49,20	104,0	51,49	107,9	56,62	117,4
250	51,89	109,7	55,47	116,2	54,82	113,6
500	48,24	101,9	53,63	112,4	53,91	111,8

Çizelge 2. Un örneklerine ait X-ışını Kırınım Desenleri Altında Kalan Alan Değerlerinin Işınlama Dozları ile Değişimi ($2\theta = 5-30^\circ$ arası)

Gamma Işını Dozu (KGy)	Gerek 79	
	Toplam Alan (cm ²)	Bağlı Nem (%)
Kontrol (0)	56,7	100,0
1	56,9	100,4
3	57,3	101,1
5	59,6	105,1
7	60,2	106,2
9	58,6	103,4
10	57,7	101,8
20	63,2	111,5
30	62,4	110,1



Şekil 1. Değişik dozlarda ışınlanan unların X-ışını kırınım desenleri

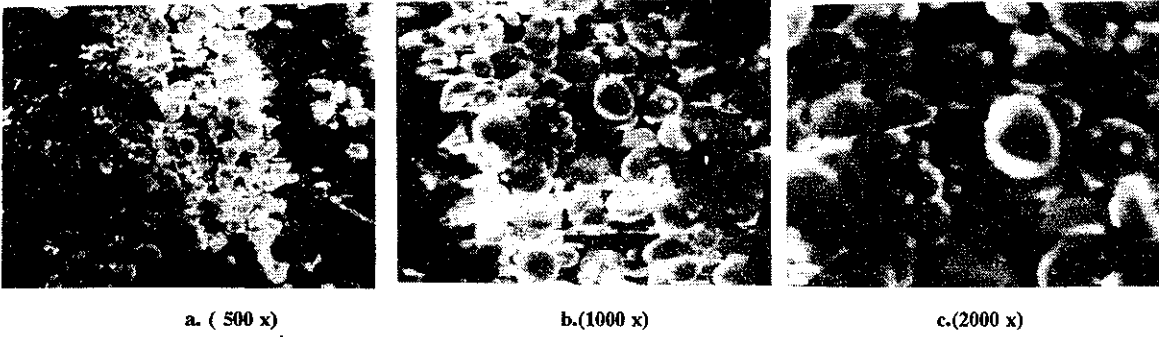
3a, b, c'de verilmiştir. Şekillerin incelenmesinden anlaşılacağı gibi 5 kGy dozda ışınlanmış örnekler ile ışınlanmamış örnekler arasında önemli bir fark görülmemiştir. Nişasta örneklerinde granüllerin ışınlama uygulanması ile değişikliğe uğramadığı belirlenmiştir. Aynı gözlem Kunduru ve Gerek çeşitleri için de elde edilmiştir. Fakat bu çeşitlerde de ışınlanmış ve ışınlanmamış örnekler arasında önemli bir fark görülmediği için SEM ile çekilen fotoğraflar verilmemiştir. Bu bulgular MACARTHUR ve D'APPOLONIA (1984) tarafından elde edilen bulgular ile paralellik göstermektedir. Bu araştırmacılar da 3 kGy'e kadar ışınlanan buğday örneklerinin nişastaları ile ışınlanmamış örneklerin nişastaları arasında herhangi bir farklılık gözleyememiştir.

Sonuç olarak buğday ve unlara ışınlama uygulanıp uygulanmadığını belirlenmesinde X-ışını kırınım ve SEM tekniklerinin tek başlarına yeterli olmadığı görülmüştür. X-ışını kırınım tekniği ile elde edilen bilgiler ancak diğer yöntemlerle elde edilen bulguları destekleyici olarak kullanılabilir. Mikrostrüktürel yapı elektron mikroskobu ile incelendiğinde ise, bu araştırmada uygulanan dozlarda ışınlanmış örneklerin nişasta granüllerinin ışınlama uygulanması ile değişikliğe uğramadığı görülmüştür.

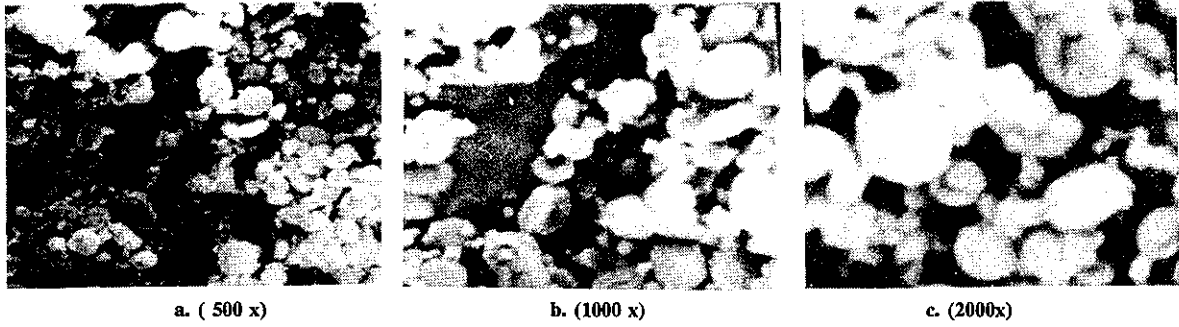
Çizelge 2 incelendiğinde 30 kGy'e kadar uygulanan tüm ışınlama dozlarında un örneklerinin X-ışını kırınım desenlerinden elde edilen bağıl alan değerlerinde artış olduğu gözlenmektedir. Fakat bu artış düzenli değildir ve ışınlama dozlarındaki artış ile paralellik göstermemektedir. Un örneklerinin çeşitli dozlarda ışınlanması sonucu elde edilen bu bulgular daha önce buğday örneklerinin ışınlanması ile elde edilen bulgularla aynı doğrultudadır (KÖKSEL ve ark., 1992). Yani buğday ve un örneklerinin ışınlanması sonucu bu örneklerin nişastaları için X-ışını kırınım desenlerinden yararlanılarak hesaplanan bağıl kristalite değerleri, ışınlama dozlarından benzer şekilde etkilenmiştir.

Tarama Elektron Mikroskobu ile Yapılan İncelemeler

Işınlanmamış ve 5 kGy dozda ışınlanmış Bezostaya çeşiti örneklerinin nişastalarında SEM ile yapılan mikrostrüktürel inceleme sonuçları çeşitli büyütme seviyelerinde Şekil 2a, b, c ve Şekil



Şekil 2. Işınlanmamış (kontrol) Bezostaya Örneği Nişastasının Mikrostrüktürel görünümü



Şekil 3. 5 kGy Dozda Işınlanmış Bezostaya Örneği Nişastasının Mikrostrüktürel görünümü

- DODD, N.J.F., SWALLOW, A.J. and LEY, F.J., 1985. Use of ESR to Identify Irradiated Food. *Radiat. Phys. Chem.* 26: 451-453.
- HOSENEY, R.C., 1990. *Principles of Cereal Science and Technology*. 2nd Printing. AACC Inc. St. Paul, MN, USA.
- KÖKSEL, H., ÖZBEY, S., ÇELİK, S., 1992. Işınlanmış Buğdayların Tespitinde X-Işını Kırınımı Tekniğinin Kullanılabilirliğinin Araştırılması. *Gıda Mühendisliği Ulusal Sempozyumu 1991-1992 Araştırmaları*, s.173-187. 22-23 Eylül 1992 Beytepe, ANKARA. Matser Basım San. Tic. LTd. ANKARA.
- KÖKSEL, H., ÇELİK, S., KAPTAN, Y., 1992. Buğdayda Işınlamanın Tespitinde Elektron Spin Rezonans Tekniğinin kullanımı. *E.Ü.Müh. Fak. Dergisi Seri :B Gıda Mühendisliği Cilt 11, Sayı 1* : 21-22
- MacARTHUR, L.A. and D'APPOLANIA, B.L., 1984. Gamma Radiation of Wheat. ii. Effects of Low-Dosage Radiations on starch Properties. *Cereal Chem.* 64: 321-326.
- NARA, S., MORL, A. and KOMIYA, T. 1978. Study on relative crystallinity of Moist Potato Starch. *Stärke* 30: 111-114.
- WALDEN, C.C. and McCONNELL, W.B., 1955. Studies on Techniques for Reconstituting Flours. *Cereal Chem.* 32: 227-236.