

LABORATUVAR KARŞILAŞTIRMA ÇALIŞMALARI: IŞINLANMIŞ GIDALARIN FARKLI TEKNİKLER KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Semra TEPE ÇAM^{1✉}, Canan AYDAŞ², Talat AYDIN³

¹Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Ankara, Türkiye,

semra.cam@taek.gov.tr

²Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Ankara, Türkiye,

canan.aydas@taek.gov.tr

³Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Ankara, Türkiye,

talat.aydin@taek.gov.tr

1. ÖNSÖZ

Bütün ülkeler halkın ihtiyaç duyduğu sağlıklı ve besleyici gıda maddelerini doğrudan veya dolaylı olarak sağlamakla yükümlüdür. Bu maddelerin çok çeşitli ve yüksek kalitede olması insan sağlığı açısından son derece önemlidir. İklim şartlarındaki değişimler, teknolojik yetersizlikler, çoğu gıdaların mevsimlik olması ve bunlarda oluşan doğal bozulmalar ülkelerin her an yüksek kalitede gıda maddelerini bulmalarını zorlaştırır. Bu nedenle tüm ülkeler, gıdaların bozulmadan uzun süre saklanabilmelerini sağlayacak gıda koruma yöntemleri üzerinde önemle durmaktadırlar. Bu amaca yönelik olarak tarihsel süreç içerisinde kurutma, tuzlama, mayalama, konserve gibi yöntemler oldukça yaygın bir şekilde kullanılmış ve halen de kullanılmaktadır. Son 20-30 yılda bilinen eski yöntemlere alternatif olarak gıdaların iyonlaştırıcı radyasyona tutularak korunması önerilmiştir. Işınlama ile gıdaların korunması hem uygulama alanları ve hem de yaratabileceği sağlık sorunları açısından tartışmaya açılmış ve diğer gıda işleme yöntemlerinde olmadığı kadar tartışılmıştır. Her ne kadar günümüzde, bu konu ile ilgili olarak geniş bir veri tabanı oluşturulmuş ise de, ışınlama yöntemi ile besinlerin korunması yine de yoğun tartışmaların yapıldığı bir uygulama alanıdır. Günümüzde ülkemiz de dahil 40 kadar ülke, iyonlayıcı ışınlama ile gıdaların korunması ve raf ömürlerinin uzatılması uygulamalarına izin vermektedir[1]. 1980 yılında WHO önderliğinde Genova’ da toplanan FAO/IAEA/WHO birleşik komitesinin 1981 yılında yayınlanan raporunda, ortalama 10 kGy’ lik doz değerinde ışınlanmış gıdaların toksikolojik olarak herhangi bir değişime uğramadığını ve bu nedenle 10 kGy’ lik doz değerinin altında ışınlanmış gıdalar için toksikolojik testlerin yapılmasına gerek olmadığını bildirmiştir [2]. Ayrıca, bu doz değerlerinde yapılan ışınlamaların gıdalarda mikrobiyolojik ve besin değeri açılarından da herhangi bir problem yaratmadığı belirtilmiştir. Bu nedenle ışınlanmış gıdaların teşhis edilmesi ve ışınlama işleminde WHO, FAO ve IAEA gibi uluslararası kuruluşların belirlemiş oldukları doz limitlerine uyulup uyulmadığının tespiti büyük önem taşımaktadır. Teşhis yöntemleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler olmak üzere üç kategoride toplanmaktadır. Teşhis için en yaygın olarak kullanılan fiziksel teknikler Elektron Spin Rezonans (ESR) ve Termolüminesans (TL) teknikleridir. Bu çalışma kapsamında kurumumuz laboratuvarlarında çeşitli gıda örneklerinin ESR ve TL teknikleri ile teşhisi gerçekleştirilmiştir.

2. GİRİŞ

Son 20-30 yılda gıdaların radyasyonla ışınlanarak filizlenmelerinin önlenmesi, olgunlaşmalarının geciktirilmesi, bunlarda ortaya çıkan bakteri ve böceklerin öldürülmesi ve bu yolla raf ömürlerinin uzatılması, yeni bir gıda koruma yöntemi olarak kabul görmüştür. WHO, FAO ve IAEA gibi uluslararası örgütlerin önderliğinde yapılan gıda ışınlama çalışmalarında 10 kGy'lik doz değerine kadar olan ışınlamalarda, gıdaların besin değerlerini yitirmediği ve kullanım için risk oluşturmadıkları saptanmıştır [2]. Pratikliği, yüksek girginliği, ucuzluğu, çok düşük sıcaklık artışı yaratması vb. nedenlerden dolayı gıdaların radyasyonla sterilizasyonu dünyada ve ülkemizdeki gıda sektörlerinde gittikçe artan bir biçimde kullanılmaya başlanmıştır. Bu yüzden gıda örneklerinin ışınlanıp ışınlanmadıklarının ve ışınlanmış iseler uluslararası kurumların belirlemiş oldukları doz limitlerine uyulup uyulmadığının tespiti büyük önem taşımaktadır. Birimimizde Elektron Spin Rezonans (ESR) ve Termoluminesans (TL) teknikleri ile gıdaların yukarıda adı geçen uluslararası örgütlerin öngördüğü doz aralığında ışınlanıp ışınlanmadıklarının tespiti çalışmaları yapılmaktadır. Bilindiği gibi ESR tekniği, çiftlenimsiz elektrona sahip atom, molekül, iyon ve molekül parçalarını inceleyen bir spektroskopi dalıdır. ESR spektroskopisi terminolojisinde, bünyesinde çiftlenimsiz elektron bulunduran atom, molekül, iyon ve molekül parçalarına radikal denmektedir. ESR tekniği ile ışınlanmış gıda örneklerinin teşhisi ışınlama sonucunda gıda örneklerinde oluşan serbest radikallerin verdiği ESR sinyalleri ile mümkün olabilmektedir [3-13]. Doğru ve güvenilir bir teşhis için bu sinyallerin zamana bağlı kararlılıkları da büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle ESR tekniği ile teşhiste genel olarak gıda örneklerinin kuru ve sert kısımlarında çalışmak daha güvenilir sonuçlar vermektedir[10].

İyonize radyasyon çeşitli gıda örneklerinden kimyasal yöntemler ile çıkarılan kuartz ve feldspar gibi luminesans özelliklere sahip silikat minerallerinin minerallerin valans bandında yer alan elektronları uyararak üst iletkenlik bandına atlamalarına neden olur. Bu elektronlar ışınım salarak geri dönerken bir miktar elektron mineralin yasak band aralığında bulunan elektron tuzaklarında yakalanır. Isıl yöntemle elektronların tuzaklardan boşaltılması işlemi Termoluminesans (TL) yöntem ile mümkün olabilmektedir. [14]. Işınlanmış gıdaların dedeksiyonunda TL analizleri en hassas ve güvenilir yöntemlerden biridir. Ancak analiz için yeterli miktarda silikat mineralinin elde edilmesi işlemi oldukça zahmetlidir ve uzun zaman alır. En büyük avantajı ışınlamadan sonra TL sinyallerinin yıllarca kalabilmesidir. Bu yöntem ile 1 kGyden daha düşük dozlarda ışınlanmış gıdaların dedeksiyonu yapılabilmektedir. Bu yöntemle şimdiye kadar otlar baharatlar kuru meyveler deniz ürünleri ve patatesler çalışılmıştır. [10,15-18].

Bu kapsamda TAEK, Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Teknoloji Bölümü, Malzeme ve Detector Teknolojileri Biriminde hem ESR tekniği kullanılarak ışınlanmış

selüloz, kemik ve şeker içeren çeşitli gıda örneklerinin ilgili standartlara göre teşhisleri yapılmış, hem de beş çeşit örneğin muhtemel bir ışınlama işlemine maruz kalıp kalmadığı Termoluminesans tekniği ile TS EN 1788:2007 (Gıda Maddeleri- Silikat Minerallerinin Ayrılabilirdiği Gıdalarda Işınlamanın Belirlenmesi-Termoluminesans Yöntemi) standardı temel alınarak araştırılmıştır.

10. ESR ve TL TEKNİKLERİ İLE ÖLÇÜMLER

10.1. ESR ve TL Teknikleri ile Işınlanmış Gıdaların Belirlenmesi

ESR ve TL fiziksel teknikleri kullanılarak ışınlanmış gıdaların dedeksiyonunda aşağıda kısaca anlatılan başlıca dört standart kullanılmaktadır.

EN 13708 Kristal Şeker İçeren Işınlanmış Gıdaların ESR Spektroskopisi ile Belirlenmesi

Bu standart kullanılarak şeker ve türevleri, kuru meyveler (incir, kuru üzüm, kuru kayısı ..) gibi ışınlanmış gıdaların ESR tekniği ile tespiti yapılmaktadır. Şeker içeren ışınlanmış gıdaların ESR spektrumu 70-90 Gauss magnetik alan genişliğinde çözümlenemeyen birden fazla ESR sinyalinin örtüşmesinden oluşmuş geniş bir spektrumdur. Işınlanmamış örnekler ya ESR spektrumu vermezler yada tek çizgili ESR spektrumu verirler.

EN 1787 Selüloz İçeren Işınlanmış Gıdaların ESR Spektroskopisi ile Belirlenmesi

Bu standart kullanılarak, baharatlar (karabiber, kimyon, nane, kırmızı pul biber, kekik), aromatik bitkiler (defne yaprağı,..), çaylar (yeşil çay, siyah çay, ada çayı ...vb.), kabuklu ve çekirdekli gıdalar (ceviz kabuğu, fındık, antep fıstığı,..) gibi selüloz içeren ışınlanmış gıdaların tespiti yapılmaktadır. Bu tür selüloz içeren ışınlanmış gıdaların ESR spektrumunda şiddetli bir orta pik ile bu orta pikten eşit mesafede (30 Gauss) iki adet selüloz sinyali bulunur. Bu ikili sinyal arasındaki mesafe 60 Gauss civarındadır. Işınlamayı karakterize eden bu selüloz sinyallerinin gözlenmesi ışınlanmanın göstergesidir. Ancak, bu sinyallerin gözlenememesi numunenin ışınlanmamış olduğunun göstergesi değildir. Işınlamayı karakterize eden selüloz piklerin şiddeti ışınlama dozuna ve numunenin selüloz içeriğine bağlıdır.

EN 1786 Kemik İçeren Işınlanmış Gıdaların ESR Spektroskopisi ile Belirlenmesi

Bu standart kullanılarak kemik içeren et ürünleri (balık kılçığı, tavuk ve sığır kemiği..) gibi ışınlanmış gıdaların tespiti yapılmaktadır. Işınlanmamış kemik örneklerinde ESR spektrumu zayıf şiddette tek çizgili simetrik bir ESR sinyali gözlenir. Işınlanmış kemik örneklerinde ise şiddetli asimetrik bir ESR sinyali gözlenir. Tespit işlemi ışınlama sonucu oluşan asimetrik ESR sinyalini veren hidroksiapatit radikallerin kararlılığına ve kemiğin kristalinitesine bağlıdır. Işınlamayla oluşan radikal ömrü yüksek olduğu için ışınlama işleminin tespiti, 12 aya varan depolama süresince mümkün olmaktadır.

TS EN 1788:2007 Silikat Minerallerinin Ayrılabilirdiği Gıdalarda Işınlanmanın Belirlenmesi -Termoluminesans Yöntemi

Bu yöntemde teşhis için gıdanın kendisi değil gıda üzerine yapışmış inorganik toz örnekleri incelenir. Bu toz örnekleri kuartz, feldspar, kalsit, diğer toprak minerallerinin karışımını ihtiva eder. TL tekniği ile ölçüm yapmaya imkan verebilecek kadar toz örnek

toplayabilmek için en az 1-2 kg'lık gıda örneğine ihtiyaç duyulur. Örnek hazırlamak için bir dizi fiziksel ve kimyasal işlem uygulanır. Baharatlar ve şifalı otların ve kalsit içeren bazı kabuklu deniz ürünlerinin analizi yapılabilir. Bu yöntemde gelen her gıda örneğinden TL tekniği ile ölçüm yapmaya imkan verebilecek miktarda inorganik toz örnek toplanamaması ve örnek hazırlama işleminin uzun sürmesi yöntemin en önemli dezavantajlarından birisini oluşturmaktadır.

10.2. Deneysel İşlemler

10.2.1 Örnek Hazırlama

10.2.1.1. ESR Ölçümleri İçin Örnek Hazırlama

Gama ışınları ile ışınlanmış 12 çeşit örneğin ESR tekniği ile teşhisine yönelik çalışmalarda kullanılan malzemeler SANAEM Kalite Yönetim Biriminden gönderilmiştir. Örnekler gerektiğinde havanda öğütülüp elekten geçirilerek toz örnekler elde edilmiştir. Elde edilen bu toz örnekler ESR ölçümlerinde kullanılmıştır.

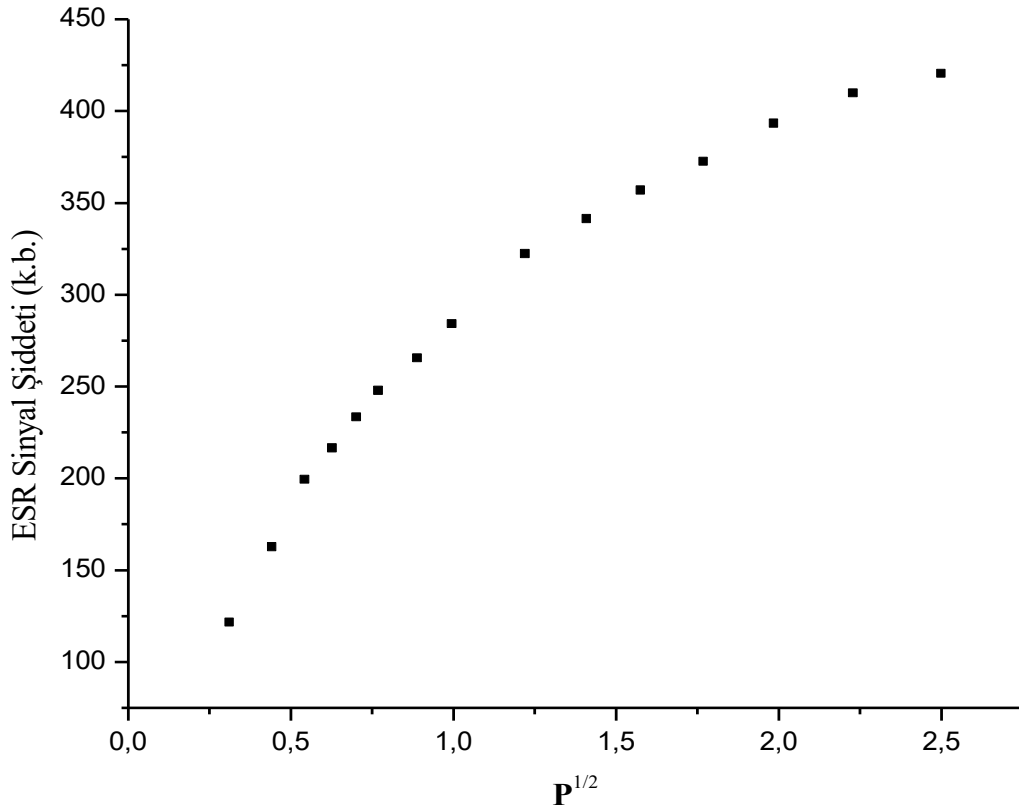
10.2.1.2. TL Ölçümleri İçin Örnek Hazırlama

TS EN 1788:2007 (Gıda Maddeleri- Silikat Minerallerinin Ayrılabilirliği Gıdalarda Işınlamanın Belirlenmesi-Termoluminesans Yöntemi) standardı temel alınarak örnekler hazırlanmıştır. Yaklaşık 500 gr örnek ıslak eleme yöntemi ile elendi. Eleğin üst kısmında kalan örnekler atıldı ve 125 µm den küçük olan elenen örnek –su karışımı 1000 ml lik 5 adet bir behere toplandı. Beherdeki örnekler bir süre ultrasonik banyoda bekletildikten sonra üst kısımdaki örnek- su karışımı döküldü. Dibe çöken örnekler daha büyük kapta tekrar su ile yıkandı ve üst kısımdaki su dökülerek dibe çöken silikat örneklerinin bir kısmı petri kabına alındı ve 50°C de etüvde kurutuldu. Örneğin içerisindeki mineral çeşidini belirlemek üzere kurutulan yaklaşık 3 gr örneğe XRD ile bakıldı ve yoğunlukla kuartz minerali olduğu gözlemlendi. Kabın dibine çöken minerallerin bir kısmı 15 ml' lik 4 adet santrifüj tüpüne kondu ve örnek içerisindeki organiklerden kurtulmak için üzerlerine yaklaşık 5 ml, konsantrasyonu 2g/ml olan Sodyum Politungustat (SPT) çözeltisi eklendi. SPT içerisindeki örnek, 1000 g de 3 dakika santrifüjlendi. Örnek 2 kez saf su ile yıkandı ve SPT kalıntısı uzaklaştırıldı. Yaklaşık 2 ml hidroklorik asit (HCL) ile örnek içindeki karbonatlar 10 dk kadar yakıldı. HCL yi nötralize etmek için yaklaşık 2 ml Amonyum hidroksit örnek üzerine eklendi ve ardından 3 kez saf su ile santrifüjlenerek yıkandı. Santrifüj tüpünün dibinde kalan silikat minerallerine yaklaşık 5 ml aseton eklendi ve tekrar santrifüjlendi. Silikat mineralleri santrifüj tüplerinden asetonla birlikte ayrı bir petri kabına alındı. Deneyde kullanılacak TL diskleri ultrasonik banyoda yıkandıktan sonra örneğin bulunduğu petri kabıyla beraber etüvde 50°C de 1 gece kurutuldu. Sonra paslanmaz çelikten yapılmış TL disklerine yaklaşık 3.9 mg'lık iki örnek sabitlendi. Tüm işlemler fazla aydınlık olmayan loş laboratuvar ışığı altında yapıldı.

10.2.2 ESR ve TL ölçümleri

10.2.2.1 ESR Spektrum Parametrelerinin Belirlenmesi

Yukarıda belirtilen biçimde hazırlanan toz örneklerin spektrumlarının alınabilmesi için öncelikle spektrum parametreleri belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla örnekler güç çalışması yapıldı. Değişik mikro dalga güç değerlerinde ESR alan değerlerine bakıldı. Şekil 1'de mercimek örneği için ESR Alan – Mikrodalga Gücü grafiği verilmiştir.



Şekil 1. Mercimek örneği için ESR alan – mikro dalga güç grafiği

Diğer spektrometre parametreleri olan modülasyon genliği, tarama zamanı, kazanç parametresi vb. parametreler değiştirilerek bu parametreler için de Şekil 1’de olduğu gibi benzer grafikler çizilerek optimum spektrum şartları sağlandı. Optimum spektrum şartlarını sağlayan spektrometre parametreleri Tablo 1’ de verilmiştir.

Tablo 1. ESR Spektrometre parametreleri ve kullanılan spektrometre parametre değerleri

Spektrometre parametreleri	Spektrometre parametre değerleri
Mikrodalga frekansı	9.8 GHz
Mikrodalga gücü	1.58 mW
Modülasyon Alanı Genliği	1 G
Merkezi Magnetik Alan	3488 G
Tarama Aralığı	100 G
Tarama sayısı	10
Tarama zamanı	5,24 s
Kazanç	$3,17 \times 10^2$

10.2.2.2. ESR Spektrumlarının Alınması

ESR doz-cevap eğrilerinin oluşturulabilmesi amacıyla oda sıcaklığında doz hızı 1.1 kGy/saat olan ^{60}Co - γ kaynağı ile farklı dozlarda ışınlanmıştır. Işınlanan örneklerin ESR spektrumları oda sıcaklığında Bruker e-scan X-band spektrometresinde ölçülmüştür. Her bir ESR ölçümünde 150 mg toz örnek kullanılmıştır.

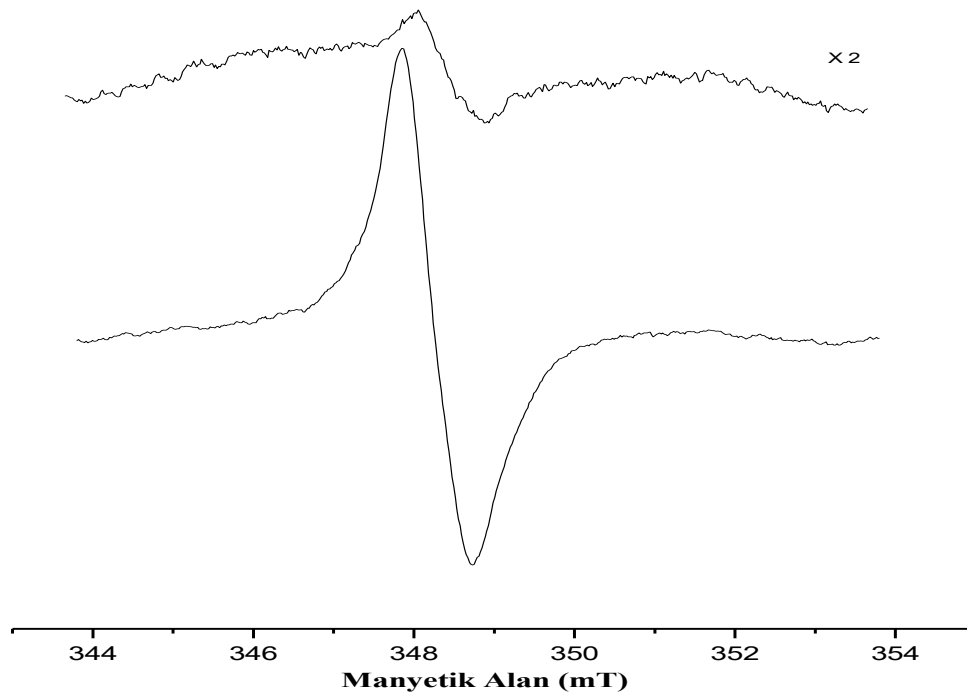
10.2.2.3. TL ölçüm parametreleri

Ölçümler, 7.5 mm kalınlığında Hoya U-340 filtresi yerleştirilmiş Riso TL/OSL DA-20 okuyucusunda karanlık oda şartlarında yapıldı. Işık dedeksiyonu maksimum dedeksiyon etkinliği 300-400 nm aralığında olan bir alkali EMI 9235QA fotoçoğaltıcı tüp ile gerçekleştirildi. 70-500 °C sıcaklık aralığında 6 °C/s ısıtma hızında ve sıvı azot atmosferinde çalışıldı.

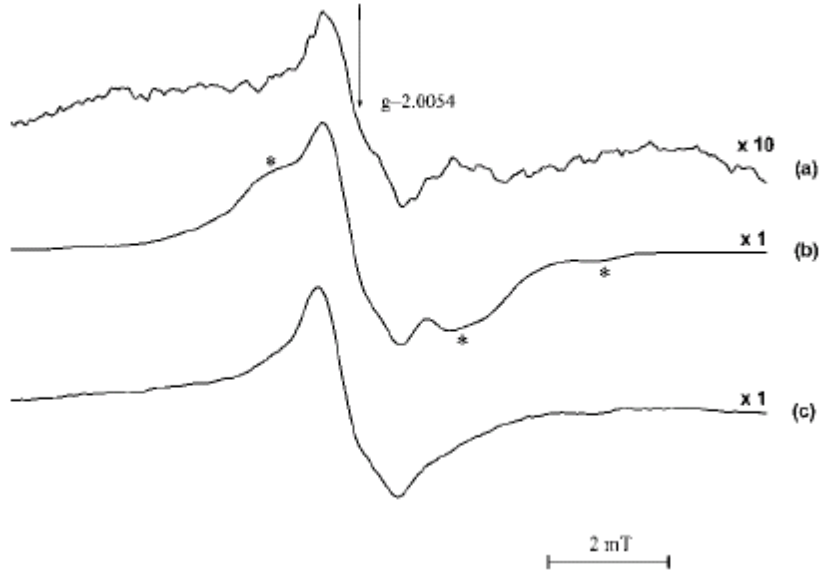
11. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

11.1. ESR Ölçümleri İçin Sonuç ve Değerlendirme

Kalite Yönetim biriminden laboratuvarlar arası karşılaştırma deneyleri kapsamında laboratuvarımıza gönderilen nohut, fasulye, nane, çörek otu, kimyon, kekik, karabiber, antep fıstığı, kırmızı ve yeşil mercimek, barbunya örneklerin ışınlanıp ışınlanmadıkları ESR tekniği ile belirlenmiştir. Gama ile ışınlanmış kırmızı mercimek ve nohut örneklerinin ESR ile teşhisi de bu çalışmada incelenmiştir. Işınlanmamış mercimek (kontrol) örneklerinin oda sıcaklığındaki EPR spektrumu çizgi genişliği $\Delta H_{pp} \approx 0.9$ mT ve spektroskopik yarıлма çarpanı $g = 2.005$ olan tek çizgili bir spektrumdur. Işınlanmamış ve ışınlanmış mercimek ve nohut örnekleri için ESR spektrumları Şekil 1 ve 2’de verilmiştir.



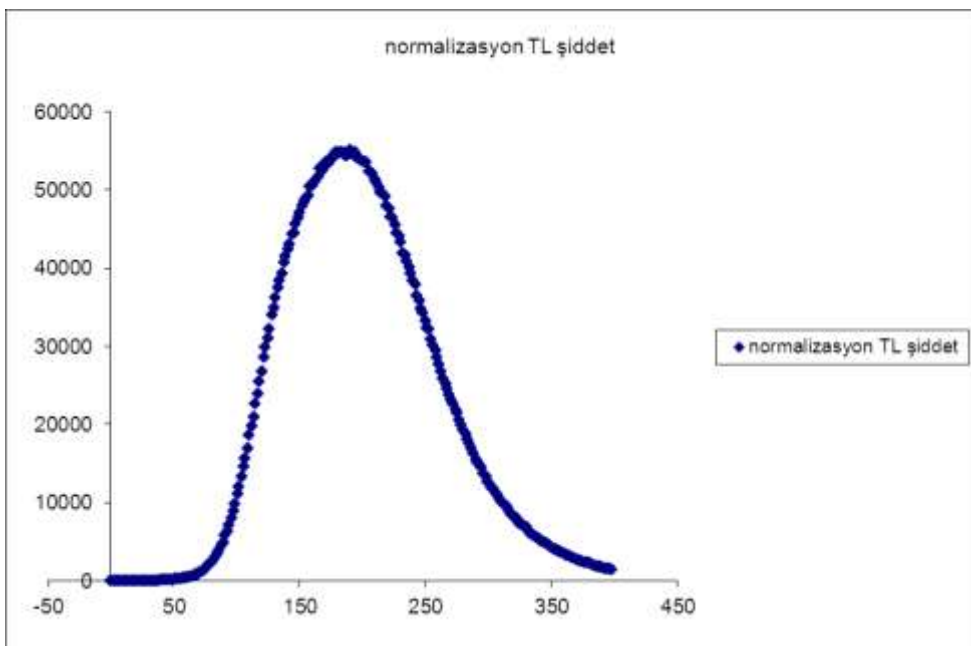
Şekil 1. Işınlanmamış ve ışınlanmış mercimek örnekleri için ESR spektrumları

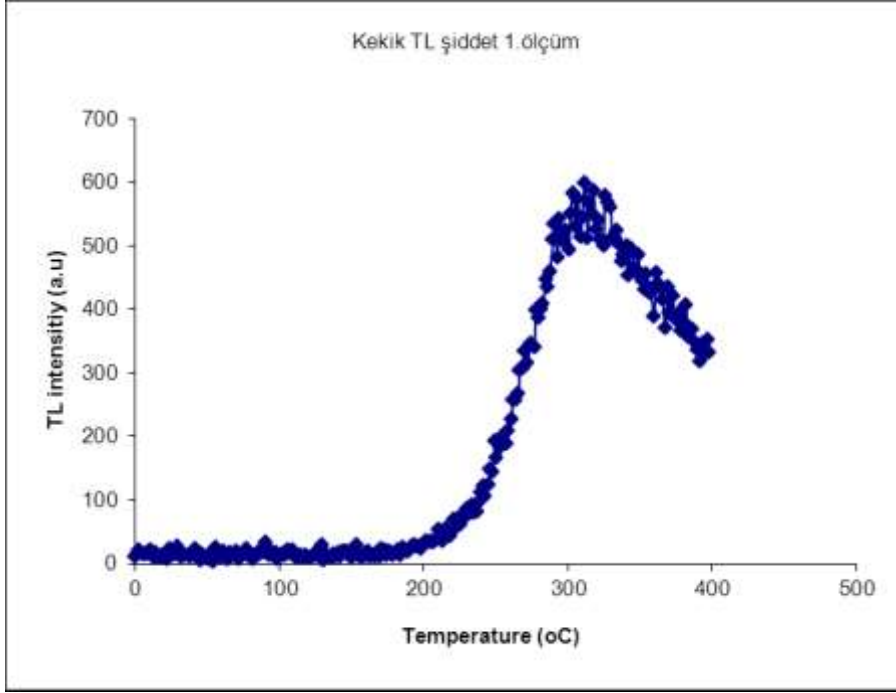


Şekil 2. Işınlanmış ve ışınlanmamış nohut örnekleri ESR spektrumları

11.2. TL Ölçümleri için Sonuçlar ve Değerlendirme

Önce boş TL diskinin TL ışınma eğrisi kaydedildi. (Şekil 24). Ardından aynı okuma şartlarında 3.9 mg silikat mineralinin bulunduğu diskin TL okuması yapıldı ve TL1 olarak kaydedildi.(Şekil 25) . Ardından TL1 ışınma eğrisi alınan disk normalizasyon amacıyla 1 kGy ışınlandı ve ışınlamadan sonra 1 gece boyunca 50° C de etüvde bekletildi. Bu diskin TL ölçümü alındı ve TL2 olarak kaydedildi (Şekil 26). Kekik örneğinin TL sinyalleri şekil 3 ve 4'te verilmiştir.





Şekil 3,4 Kekikl örneği TL sinyalleri

TS EN1788:2007 standardına göre ışınlanmış gıdalar genellikle 150-250 °C sıcaklık aralığında bir pik verirken ışınlanmamış örnekler düşük radyoaktivitenin neden olduğu 300 °C nin üzerinde TL pikleri verirler. Bu örneklerde TL ışınma eğrilerinde radyasyon ışınlamasını karakterize eden 150-250 °C sıcaklık aralığında (standartda belirtildiği üzere ± 10 °C hata aralığında) herhangi bir TL sinyali gözlenmemiştir.

TS EN1788:2007 standardına göre tavsiye edilen sıcaklık aralığında TL1 ve TL2 ışınma eğrilerinin integralleri alındıktan sonra belirlenen TL1/TL2 oranı ışınlanmış örneklerde 0.5 den büyükken ışınlanmamış örneklerde 0.1 in çok altındadır. Bu nedenle örneğin laboratuara geldiği biçimiyle TS EN1788:2007 standardına göre ışınlanmış olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu tür numunelerin teşhisinde kullanılan TL sinyallerinin varlığı (şiddeti) çevresel koşullardan (ortam sıcaklığı, nem, ışık ...vb) büyük ölçüde etkilenmektedir. Özellikle gün ışığının silikat minerallerinden kaynaklanan ve örneğin ışınlanıp ışınlanmadığının teşhisine olanak veren TL sinyallerini sıfırladığı bilinmektedir.