

## کاهش کلیفرمها و اشريشیاکلی در شیرهای آلوده با استفاده از الکترونیهای پرنرزی

بهرام و خشور\*، اقدس مهدیزاده، نیره فلاح نژاد، رضا امرائی، حسین مسعودی، فرزنان فلاحتی

سازمان انرژی اتمی ایران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کاربرد پرتوها

### چکیده:

در شیر میکروارگانیسم های متعددی وجود دارد و هدف از این تحقیق، کاهش کلی فرمها و اشريشیاکلی و نیز افزایش طول مدت نگهداری شیر می باشد. در این راستا ابتدا نمونه های شیر از منابع مختلف تهیه شد سپس بیشترین تعداد احتمالی کلی فرمها و اشريشیاکلی تعیین شد. پس از پرتودهی هر نمونه با دزهای ۰/۵ تا ۲/۰ کیلوگری ارزش  $D_{10}$  که مشخص کننده مقاومت جمعیت باکتریها به پرتو می باشد مشخص گردید. آزمایشات مختلف نشان داد که پرتودهی علاوه بر رساندن آلودگی میکربی شیر تا حد مطلوب، تغییر محسوسی در طعم، بو و نیز  $PH$  شیرهای مورد آزمون ایجاد نکرد. برای پرتودهی نمونه ها از باریکه الکترون  $10 MeV$  استفاده شد.

کلمات کلیدی: شیر، اشريشیاکلی، کلی فرمها، پرتودهی، باریکه الکترون

### ۱- مقدمه :

پرتودهی اثر فوق العاده ای بر ایمنی مواد غذایی دارد. محققین در طول ۴۰ سال گذشته دریافته اند که پرتودهی مواد غذایی را می توان برای رسیدن به اهدافی همچون از بین بردن حشرات و انگلها در انواع مواد غذایی، جلوگیری از جوانه زدن محصولات نظیر سیب زمینی و پیاز، تأخیر در رسیدن میوه های تازه و سبزیجات و کاهش تعداد میکروارگانیسمها استفاده کرد.

شروع پرتودهی مواد غذایی در دنیا بر اساس پذیرش استاندارد پرتودهی مواد غذایی در سال ۱۹۸۳ بود. این استاندارد بوسیله کمیته غذایی، سازمان خواربار و کشاورزی جهانی و سازمان بهداشت جهانی به نمایندگی بیش از ۱۳۰ کشور دنیا بر اساس تایید کمیته مشترک کارشناسی پرتودهی مواد غذایی (JECFI) مورد قبول قرار گرفت [۱،۲].

بیماریهای حاصل از مصرف مواد غذایی آلوده یکی از مسائل حائز اهمیت در بهداشت و سلامت عمومی جامعه می باشد. باکتریهای نظیر سالمونلا، کمپیلوباکتر و اشريشیاکلی عامل بروز بیماریهای حاصل از مواد غذایی آلوده در کشورهای صنعتی از سال ۱۹۶۵ تا ۱۹۹۰ بوده است. در طی فرآیند پرتودهی، مواد غذایی در معرض منبع انرژی یونیزان به گونه ای قرار می گیرند که دز مشخص و معینی از پرتو را جذب کنند.

پرتودهی مواد غذایی مزایای زیادی دارد که یکی از مزایای عمده آن کاهش میکربهای بیماریزا در مواد غذایی می باشد، اگر چه بطور کامل آنها را حذف نمی کند.

برخی از اثرات پرتو بر روی فعالیتهای بیولوژیک میکروارگانیسمها عبارتند از:

تغییر غشای سلولی که باعث اختلال در ورود و خروج مواد حیاتی مورد نیاز برای سلول می گردد.

تأثیر روی عملکرد آنزیمها.

تأثیر روی واکنشهای سنتزی درون سلول به خصوص سنتز اسیدهای نوکلئیک.

اثر بر روی متابولیسم انرژی درون سلولی با کاهش فسفریلاسیون.

تغییرات شیمیایی DNA موجود در میکروارگانیسمها که تمام اعمال حیاتی آنها به خصوص همانندسازی را تحت تأثیر قرار می دهد.

از بین این تغییرات تأثیر پرتو بر روی اسیدهای نوکلئیک بسیار حائز اهمیت می باشد. DNA (یا RNA در برخی از ویروسها) هدف اصلی پرتو در از بین بردن میکروبها است [۲].

در اواخر دهه ۱۹۴۰ و اوایل ۱۹۵۰، پتانسیل ۵ نوع مختلف پرتو (نور ماوراء بنفش، اشعه X، الکترون ها، نوترون ها و ذرات آنها) برای پرتودهی مواد غذایی بررسی شد. تحقیقات نشان داد که فقط اشعه کاتدی (الکترونها) ویژگیهای ضروری کارایی، ایمنی و قابل کاربرد بودن را داشتند. براساس این تحقیقات اشعه X کاربردی نبود، زیرا راندمان تبدیل الکترون به اشعه X با امکانات آن زمان بسیار پائین بود. نور UV و ذرات آنها نیز بدلیل توانایی محدودشان در نفوذ به ماده غیر قابل کاربرد شناخته شدند. نوترونها نفوذ زیادی داشتند و در تخریب و غیرفعال سازی باکتریها خیلی موثر بودند اما بدلیل پتانسیل بالای آنها در ایجاد رادیواکتیویته در غذا، نامناسب بودند [۳ و ۴].

در دهه ۱۹۴۰ اولین منابع تولید پرتوهای یونیزان ماشینهایی بودند که باریکه های الکترون با انرژی بالا تا ۲۴ میلیون الکترون ولت تولید می کردند همچنین در همان زمان رادیونوکلئوتیدهای ساخته شده از قبیل کبالت ۶۰ و سزیم ۱۳۷ (که در زمان فروپاشی، اشعه گاما ساطع می کنند) در دسترس قرار گرفتند [۵].

از میان انواع غذاهایی که روزانه به مصرف انسان می رسد، شیر و فرآورده های آن به دلیل تنوعی که دارند در میان گروههای سنی مختلف جایگاه ویژه ای دارد. شیر یکی از مناسبترین مواد غذایی است که علاوه بر انواع پروتئین ها، چربیها (که نسبت به سایر چربیها و روغنها قابلیت هضم بالاتری دارد)، املاح مورد نیاز بدن بخصوص فسفر و کلسیم، انواع ویتامین ها و نیز تمامی اسیدهای آمینه ضروری (که بدن قادر به ساخت آنها نیست) را داراست.

از آنجا که شیر عناصر لازم را در حد تعادل داراست، محیط بسیار مناسبی برای فعالیت انواع میکروارگانیسم های عامل فساد اعم از باکتری ها، مخمرها و کپکهاست و بسادگی در معرض انواع آلودگی ها قرار می گیرد. بنابراین کنترل بهداشت در تمامی مراحل از لحظه دوشیدن تا رسیدن به کارخانه و نیز فرآیند تولید امری اجتناب ناپذیر است. معمولاً شیر باید تحت فرآیندهای مختلفی قرار گیرد تا این آلودگی ها کاهش یافته یا حذف گردد.

در این تحقیق ما از پرتوهای الکترونی ۱۰ MeV تولید شده توسط شتابدهنده الکترون Rhodotron TT200 به منظور کاهش آلودگی شیر استفاده کردیم.

## ۲- مواد و روشها:

### ۲-۱- دزیمتری:

به انرژی در واحد جرم دز گفته می شود و به کلیه ابزارهایی که برای سنجش دز استفاده می شود دزیمتر گفته می شود. دزیمترها بر حسب نوع استفاده از آنها به دسته های مختلفی از جمله، فیلم دزیمترها، کالیمترها، دزیمترهای شیمیایی تقسیم می شوند که هر کدام از آنها بسته به نوع استفاده از آنها برای بازه های خاص دزیمتری کالیبره شده و استفاده می شوند. در این مرکز چون معمولاً از باریکه الکترون به منظور پرتودهی با دزهای بالا استفاده می شود، دزیمترهایی همچون کالیمتر، فیلم دزیمترهای CTA (سلولز تری استات) و B استفاده می شود. اما برای استفاده از دزهای پایین در جهت راه اندازی پروژه های تحقیقاتی چون این پروژه از دزیمترهایی که در محدوده دز پایین کار می کنند استفاده می شود. بدین منظور پس از آماده سازی نمونه ها، جهت بررسی اثر تابش بر رفتار آنها، پرتودهی بوسیله الکترونها ۱۰ MeV ناشی از شتابدهنده الکترون Rhodotron مدل (IBA, Belgium) TT200 در بازه دزهای جذبی  $X\text{-}\gamma$  kGy صورت گرفته است. جهت مقایسه منطقی نتایج، پرتودهی نمونه ها تحت شرایط یکسان صورت گرفته است. در محاسبه دز جذبی محلولها از قرص آلانین به عنوان دزیمتر استفاده شده است. بدین منظور از تکنیک تشدید پارامغناطیسی الکترون (Electron Paramagnetic Resonance) جهت استفاده از قرص آلانین به عنوان دزیمتر استفاده شده است [6] (ISO/ASTM 51261).

### ۲-۲- تعیین آلودگی میکروبی:

برای تعیین تعداد میکروارگانیسمها، نمونه های شیر از منابع مختلف تهیه شد سپس شیرها در ظروف استوانه ای در پیچ دار استریل به قطر ۴ سانتیمتر و ارتفاع ۳ سانتیمتر ریخته شد تا مورد پرتودهی قرار گیرد. سپس شیرها با دزهای ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵ و ۲/۰ کیلوگری پرتودهی شد. لازم به ذکر است که ۴ تکرار آزمایش برای هر دز در نظر گرفته شد و شمارش کلی فرمها طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱-۵۴۸۶ و ۲-۵۴۸۶ و شمارش اشرفیساکی مطابق با استاندارد شماره ۵۲۳۴ در ۱ میلی لیتر شیر بدست آمد [۷،۸،۹].

### ۲-۳- تعیین ارزش $D_{10}$ :

پس از مشخص شدن میزان آلودگی اولیه، نمونه ها با دزهای مختلف (۰/۵ تا ۲/۰ کیلوگری) پرتودهی شد و سپس میزان باکتری باقیمانده را در نمونه های پرتودهی شده بدست آوردیم. با استفاده از اطلاعات بدست آمده منحنی دز پایدگی مربوط به نمونه ترسیم شده و برای محاسبه ارزش  $D_{10}$  با استفاده از معادله حاصل از

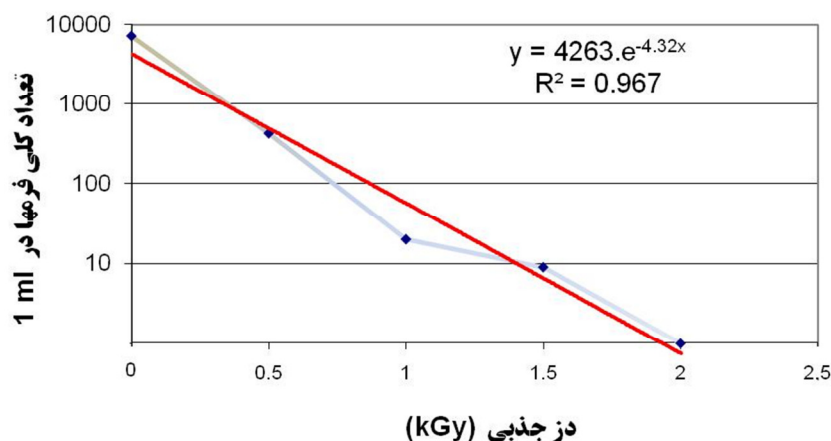
برازش منحنی‌ها، مقادیر دز را در سیکلهای متوالی محاسبه کرده و از تفاضل دو دز متوالی مقدار میانگین  $D_{10}$  معین می‌شود (شکل شماره ۱ و ۲).

برای محاسبه دز بهینه پرتودهی ( $D$ ) برای کاهش بار میکربی سه فاکتور مورد نیاز است ۱- میزان آلودگی میکربی اولیه ( $N_0$ ) ۲- ارزش  $D_{10}$  ۳- سطحی از آلودگی باقیمانده در مواد پس از پرتودهی که مطلوب و مورد نظر است ( $N_T$ ) [۱۰].

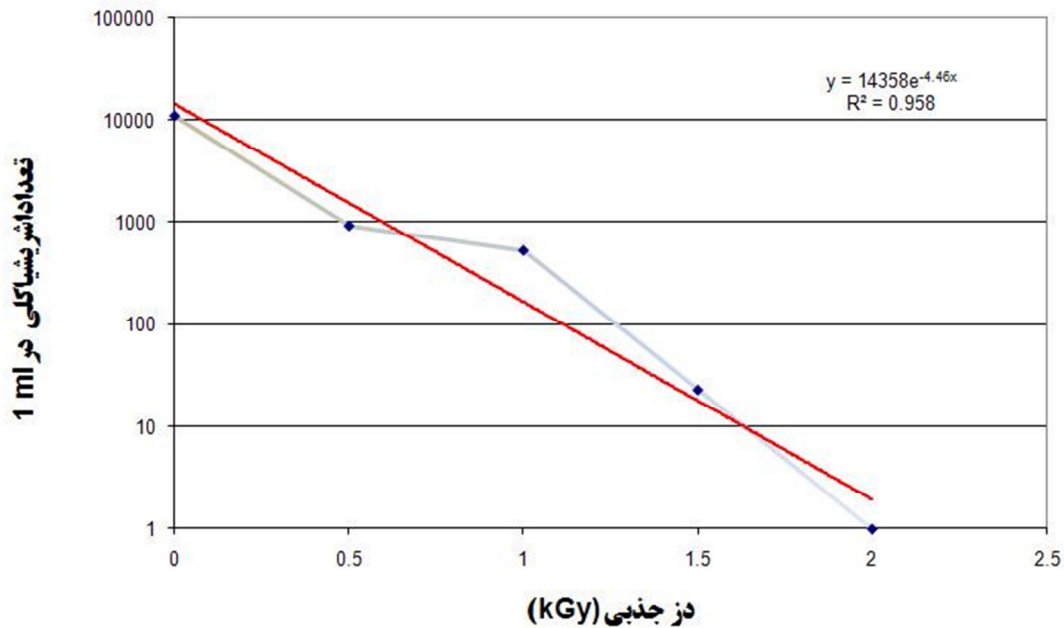
$$D = D_{10}(\log N_0 - \log N_T) \quad (\text{فرمول شماره ۱})$$

### ۳- نتایج :

با انجام آزمایش بر روی نمونه های متعدد شیر قبل و بعد از پرتودهی مشاهده شد که بیشترین تعداد احتمالی کلی فرمها قبل از پرتودهی از ۷۵۰۰ تا ۱۱۰۰۰۰ باکتری در میلی لیتر متغیر بود و پس از پرتودهی با دز  $2/0 \text{ kGy}$  این سطح آلودگی دامنه تغییری بین ۱ تا ۱۰ باکتری در میلی لیتر را نشان داد. در ضمن فاکتور  $D_{10}$  برای کلی فرمها در نمونه های مختلف از  $0/38 \text{ kGy}$  تا  $0/8 \text{ kGy}$  متغیر بود که پس از میانگین گیری دز  $0/6 \text{ kGy}$  به عنوان فاکتور  $D_{10}$  برای کلیفرمهای موجود در شیر بدست آمد. همچنین بیشترین تعداد احتمالی اشیریشیا کلی قبل از پرتودهی از ۲۳۰۰ تا ۲۲۵۰۰ باکتری در میلی لیتر متغیر بود و پس از پرتودهی با دز  $2/0 \text{ kGy}$  این سطح آلودگی به کمتر از ۱ باکتری در میلی لیتر رسید. در ضمن فاکتور  $D_{10}$  برای اشیریشیا کلی در نمونه های مختلف از  $0/43 \text{ kGy}$  تا  $0/58 \text{ kGy}$  متغیر بود که پس از میانگین گیری دز  $0/5 \text{ kGy}$  به عنوان فاکتور  $D_{10}$  برای اشیریشیا کلی موجود در شیر بدست آمد لازم بذکر است که دامنه تغییرات PH نمونه های پرتودهی شده نسبت به نمونه های شاهد در تمامی موارد کمتر از ۱ واحد بود که نتایج آن در جدول شماره ۱ آورده شده است.



شکل شماره ۱: منحنی دز پایدگی کلی فرمها در نمونه شیر "مهریز" پس از پرتودهی با دزهای مختلف



شکل شماره ۲: منحنی دز پایدگی اشیریشیا کلی در نمونه شیر "چاه اکرمی" پس از پرتودهی با دزهای مختلف

جدول شماره ۱: تغییرات PH در تعدادی از نمونه های مختلف شیر بر اثر پرتودهی

نمونه	دز جذبی (kGy)	۰	۰/۵	۱/۰	۱/۵	۲/۰
اشکذر	۶/۱	۶/۱	۶/۱	۶/۱	۶/۰	۶/۰
چرخاب	۶/۴	۶/۴	۶/۴	۶/۴	۶/۴	۶/۴
چاه اکرمی	۶/۰	۶/۰	۶/۰	۶/۰	۵/۸	۶/۷
مهریز	۶/۲	۶/۲	۶/۲	۶/۱	۶/۱	۶/۰
علی آباد	۶/۳	۶/۳	۶/۳	۶/۳	۶/۳	۶/۲

#### ۴- بحث :

با توجه به اینکه در بین اقلام غذایی پرتودیده تغییر طعم و بو در شیر و محصولات شیری محسوس تر است [۶]، در این تحقیق با استفاده از آلودگی اولیه شیرها و ارزش  $D_{10}$  (چون ارزش  $D_{10}$  کلیفرمها بالاتر از اشیریشیاکلی است به عنوان مبنای محاسبه دز بهینه پرتودهی مورد استفاده قرار گرفت) دز بهینه تعیین شد و نمونه های مختلف مورد پرتودهی قرار گرفتند که بعنوان مثال آلودگی نمونه شیری با بیشترین تعداد احتمالی



کلیفرم ۱۸۷۰۰ در میلی لیتر و بیشترین تعداد احتمالی اشیریشیاکلی ۱۲۰۰۰ در میلی لیتر پس از پرتو دهی با دز ۳kGy به کمتر از ۱ در میلی لیتر رسید، علاوه بر اینکه تغییر محسوسی در طعم و بوی نمونه های پرتو دهی شده ایجاد نگردید. به علاوه با این دز سرعت دلمه شدگی نمونه های پرتو دهی شده نسبت به نمونه های پرتو دهی نشده تغییر نیافت و با توجه به بهبود کیفیت میکربی شیر پس از پرتو دهی می توان از این روش برای فرآوری شیرهای بسیار آلوده به کلیفرمها و اشیریشیاکلی استفاده نموده و از این شیرها در صنایع کنار دستی همچون تهیه پودرهای شیر خشک و مکملها برای تغذیه دام استفاده نمود و در مجموع میتوان پرتو دهی با باریکه الکترون را روشی بسیار سریع، مفید، ایمن و قابل قبول در بهبود کیفیت شیر در نظر گرفت.

#### ۵-منابع:

- ۱- ترجمه حمیدرضا ذوالفقاریه "حقایق در مورد پرتو دهی مواد غذایی" انتشارات آژانس بین المللی انرژی اتمی، مین، اطیش، دسامبر ۱۹۹۱.
- ۲- حسین خلفی، محمد قنادی مراغه، فائزه فاطمی، "پرتو دهی مواد غذایی - اصول و کاربردها" انتشارات زلال کوثر با همکاری روابط عمومی پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، پاییز ۱۳۸۶.
3. O.P.Snyder , D.M.Poland ; "Food Irradiation Today " ; Hospitality Institute of Technology and Management; St. Paul, Minnesota ; copyright 1995
- 4- Josephson ES, Peterson MS. Preservation of food by ionizing irradiation. Florida: Boca Raton, 1982
- 5 . Revision of the Opinion of the Scientific Committee on Food on the Irradiation of Food ; European commission ; April 2003
- 6-ISO/ASTM 51649(E), "Standard practice for dosimetry in an Electron beam facility for radiation processing at energies between 300 keV and 25MeV," (2005).
- ۷- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، "شیر و فرآورده های آن- شمارش کلیفرمها قسمت اول روش شمارش پرگنه ها در ۳۰ درجه سیزیوس- بدون تقویت سازی" شماره ۱-۵۴۸۶، (۱۳۷۹)
- ۸- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، "شیر و فرآورده های آن- شمارش کلیفرمها قسمت دوم روش شمارش بیستترین تعداد احتمالی در ۳۰ درجه سیزیوس" شماره ۲-۵۴۸۶، (۱۳۷۹)
- ۹- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، "شیر و فرآورده های آن شمارش اشیریشیا کلی- روش بیشترین تعداد احتمالی" شماره ۵۲۳۴، (۱۳۷۸)
- 10- Branka Katusin-Razem, Boris, Novak, Dusan, Razem, "Microbiological decontamination of botanical raw materials and corresponding pharmaceutical products by irradiation," Radiation Physics and chemistry, 62, 261-275, (2001).