

# Besugárzott cukor vizsgálata mikrobiológiai szempontból

VAJDA ÖDÖN és GÁL ILONA

Fővárosi Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézet

Érkezett: 1970. február 28.

Élelmiszerek eltarthatósági idejének növelésére világszerte folynak kísérletek. Bár maga a szilárd, kristályos cukor nem romlandó, de számos élelmiszeripari termék előállításához használják fel és így mikroflórája befolyásolja azok eltarthatóságát. Cukor besugárzásos sterilizálásának, valamint a keletkezett bomlástermékek tulajdonságainak tanulmányozása több mint két évtizede megindult. A felmerült kérdésekhez kapcsolódva mindenekelőtt három irányban folytattunk kutatásokat:

1. Vizsgáltuk a kristályos répacukor saját természetes szennyeződéséből eredő mezofil és termofil élőcsíraszámnak és csírázóképes spóraszámnak besugárzás okozta változását lemezöntéses módszerrel, minden esetben a savanyítók külön kiemelésével.

2. Tanulmányoztuk besugárzott kristályos répacukor hatását különböző mikroorganizmusokra folyékony tápoldatokban, turbidimetriás módszerrel.

3. Vizsgáltunk besugárzott kristályos répacukrot abból a szempontból, hogy képződik-e benne agardiffúziós módszerrel kimutatható antibiotikus hatású bomlástermék.

## 1. Besugárzás hatása kristályos répacukor természetes mikroflórájára

A készcukor mezofil és termofil mikroflóra hordozója, amely – mint a bevezetőben említettük – a vele készült élelmiszeripari termékek, pl. konzervek, üdítőitalok, édesipari termékek minőségét rontja, megromlásukat elősegíti. (1–5)

Csíramentes cukor felhasználása ezért nagy gazdasági jelentőségű lehet. Kiss, Farkas és munkatársaik (6) ebből kiindulva megvizsgálták az ionizáló sugárzás alkalmazási lehetőségét a cukor sterilizésére és az így kezelt cukor hatását zöldborsókonzerv előállításánál. Kristályos állapotban, szobahőmérsékleten besugárzott répacukor termofil mikroflórájának változását tanulmányozták lemezöntéses módszerrel és Sabine (7) közlésével összhangban megállapították, hogy a különböző kereskedelmi tételekből származó termofil összesíraszám 1–2 Mrad-os besugárzás után a lemezöntéses módszerrel mérhető alsó határérték (0,2 g) körül mozgott, vagy ennél is kisebb volt.

Első feladatunk eredményeik reprodukálása, illetve kiszélesítése volt. Evégből a termofil és mezofil élőcsíraszám, valamint a csírázóképes spóraszám besugárzás okozta változását vizsgáltuk, minden esetben külön számlálva a savanyító mikroorganizmusokat, amelyek a konzervek romlásában játszanak jelentős szerepet.

A vizsgálandó kristálycukrot részben közvetlenül a (selypi) cukorgyárból szereztük be, részben a kereskedelmi forgalomból származó 1 kg-os előrecsomagolt egységeket használtuk fel a vizsgálatokhoz. A besugárzást a MTA Izotóp Intézete végezte. Mindenkor lemezöntéses módszerrel dolgoztunk oly módon, hogy 20%-os olatokat készítettünk a besugárzott és besugárzatlan cukorral és

azokból 2 ml-eket oltottunk le brómkrezolbibort tartalmazó élesztős agar táptalajokra (4). A mezofil csírákat 28 C°-on, a termofilokat pedig 56 C°-on inkubáltuk. A csírázóképes spóraszám meghatározásához a cukoroldatot 5 percig forraltuk, majd lehűlés után vettük ki az alikvot részt, lemezt öntöttünk és inkubáltunk szintén 28 és 56 C°-on. A mérési sorozatok minden tagja 3 párhuzamosból állt. Minden mérést első ízben a besugárzást követő 24 órán belül végeztünk, majd két hét múlva újra megismételtünk. A köztes időben a cukormintákat sötét helyen, szobahőmérsékleten tároltuk.

Vizsgálati adataink egy reprezentatív sorozatát az 1. táblázatban mutatjuk be oly módon, hogy a besugárzatlan próbák csíraszám-átlagát 100%-nak tekintve, százalékokban fejeztük ki a csíraszámnak besugárzás hatására bekövetkezett csökkenését. A táblázatban feltüntetett besugárzatlan próbák csíraszámainak (100%-ok) abszolút értékei 1 g cukorra számítva, lekeresítve a következők voltak:

28 C°-on összes élő csíraszám	3000, ebből savképző 2600
csírázóképes spóraszám	400, ebből savképző 300
56 C°-on összes élőcsíraszám	1500, ebből savképző 400
csírázóképes spóraszám	500, ebből savképző 200

1. táblázat

Kristályos répacukor csíraszámának százalékos csökkenése besugárzás hatására

Sugárdózis (Mrad)	Élőcsíraszám %				Csírázóképes spóraszám %			
	28 C°-on		56 C°-on		28 C°-on		56 C°-on	
	Összes	Savképző	Összes	Savképző	Összes	Savképző	Összes	Savképző
0	100	100	100	100	100	100	100	100
0,5	48	41	40	32	41	43	44	34
1,0	19	17	18	23	22	21	18	9
2,0	<0,03	<0,08	<0,2	<0,1	<0,05	<0,3	<0,07	<0,06

A táblázatból látható, hogy a dózis növekedésével fokozatosan és közelítőleg egyenlő mértékben csökkent a mezofil és termofil csírák, valamint a csírázóképes spórák száma, mindenütt beleértve a savanyító mikroorganizmusokat is:

0,5 Mrad-os dózis hatására a csíraszámok kb. 40%-ra,

1,0 Mrad-os dózis hatására a csíraszámok kb. 20%-ra,

2,0 Mrad-os dózis hatására a csíraszámok kb. 0-ra

csökkentek.

A két hét múlva megismételt kísérletek eredményei tapasztalatunk szerint az alakísérletekétől lényegbevágóan nem különböztek.

A 2 Mrad-dal kapott eredmények az irodalmi adatokkal meggyőzően arra mutatnak, hogy ezzel a sugárdózissal a cukor gyakorlatilag csírártlanítható.

A továbbiakban külön tájékoztató kísérletsorozatokat végeztünk annak felderítésére, vajjon a besugárzással csírártlanított cukor csírákkal szennyezett környezetben tárolva, majd a leírt módon kezelve újracsírazódik-e, vagy pedig a cukornak besugárzás okozta kémiai változása, a keletkezett bomlástermékek a vizes oldatban kifejtenek-e olyan antibiotikus hatást, amely a másodlagos csírák lemezen való növekedését gátolja.

Évégből 2 Mrad-os dózissal csírártlanított, valamint besugárzatlan – ismert csíraszámú – minták 100–100 g-nyi mennyiségét vékony rétegben kiterítve

a laboratóriumban, szobahőmérsékleten 48 óráig tároltuk, majd 20%-os oldatokat készítve, a szokásos módon lemezeket öntöttünk és 28 °C-on inkubáltunk.

Megállapítottuk, hogy a besugárzással csíráatlanított minták élőcsíraszámára nem növekedett kisebb mértékben, mint a besugárzatlan összehasonlító minták élőcsíraszámára, vagyis a szilárd állapotban 2 Mrad-os besugárzással okozott kémiai elváltozás az utólagos szennyeződés ellen nem nyújtott védelmet, illetve a másodlagosan a cukorra került csírák életképességét nem befolyásolta.

## 2. Besugárzott kristályos répacukor antibiotikus hatásának vizsgálata folyékony tápközegben

Besugárzással készült „steril” cukor antibiotikus hatásának vizsgálata élelmiszeripari szempontból azért lehet érdekes, mert ha ilyen hatás kimutatható, ez csökkenti a vele készült termékek csíraszámát és ezzel a termék tartósságát növelheti, illetve a tartósítás hőszükségletét is kedvező irányban befolyásolhatja.

Szilárd, kristályos állapotban besugárzott glükóz vizes oldatainak antibakteriális hatását Molin és Ehrenberg vizsgálata (8) *Pseudomonas* sp. 128 teszt törzsrre, szintetikus tápoldatban. A kimutatás alsó határa 10 Mrad dózisonál volt, de jól észlelhető hatás általában csak akkor jelentkezett, ha a cukor 20 Mrad-os dózist kapott. Szacharózt az említett szerzők nem vizsgálták, de figyelembe véve Ehrenberg, Ehrenberg és Löfroth kémiai jellegű tanulmányát (9), akik szilárd szénhidrátok bomlástermékeit vizsgálva megállapították, hogy a D-glükóz a besugárzásra sokkal érzékenyebben reagál, mint a D-fruktóz, vagy a szacharóz, a besugárzott szacharóz vizes oldataitól a jelzett teszt törzsrre csak 20 Mrad-onál lényegesen nagyobb sugárdózis alkalmazása esetén várható antibiotikus hatás.

Kiss, Farkas és munkatársaik (6) a szilárd állapotban különböző sugárdózissal (max. 2 Mrad) kezelt répacukornak *Bacillus cereus*-ra és egy *Bacillus coagulans* típusú, termotoleráns baktérium törzsrre gyakorolt hatását vizsgálták turbidimetriás módszerrel. A cukrot 4%-os koncentrációban oldották fel univerzál tápoldatban és az említett törzsek spóracsírázására és szaporodására gyakorolt hatását tanulmányozták zöldborsókonzerválási szempontból. Megállapították többek között, hogy a besugárzott cukor jelenléte gátolja a mezofil *Bacillus cereus* vegetatív szaporodását és a gátló hatás a felhasználandó besugárzott cukor vizes oldatainak előzetes hőkezelése esetében fokozódik. A besugárzott cukor és a tápoldat együttes hőkezelése után gátló hatást nem észleltek.

Saját kísérleteinkben mindenekelőtt a *Bacillus cereus*-ra kimutatott mikrobiológiai hatást próbáltuk reprodukálni, de vizsgálatainkat kiterjesztettük tejsav típusú baktérium-, valamint élesztőtörzsekre is, mert ezek a gyümölcsle feloldozó ipar szempontjából jelentősek.

### Kísérleti rész

Felhasznált teszt törzsek:

*Bacillus cereus* (V 1202)

*Leuconostoc mesenteroides* (ATCC 8014)

*Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014)

*Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* T<sub>22</sub> (409)

*Hansenula anomala* (63/XXXII)

Tápoldatok: MSZ 3644 szerint készült (univerzál) húsleves a *B. cereus* tenyésztéséhez (pH 7,2), továbbá paradicsomszérum (10) a tejsavbaktériumok és élesztők számára (pH 4,2).

Cukor: 2 Mrad-dal besugárzott és besugárzatlan kristálycukor.

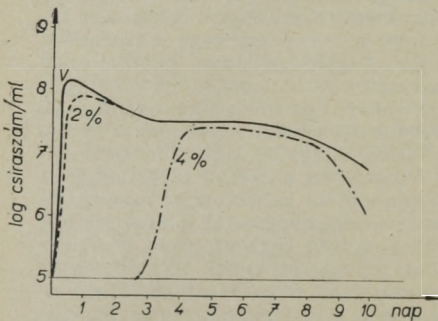
### A kísérletek kivitelezése:

Minden esetben 40%-os törzsoldatot készítettünk a besugárzott és besugárzatlan cukorral, mégpedig *a*) vízzel és *b*) tápoldattal; ezeket az oldatokat 120 C°-on 30 percig hőkezeltük, majd lehűlésük után a kémcsövekben levő 9–9 ml tápoldatokhoz adagoltunk a hőkezelt oldatokból 1–1 ml-t, ezzel cukorkoncentrációjukat 4%-ra állítottuk be. A cukortartalmú tápoldatokat most beoltottuk a vizsgálandó tesztörzsekkel (*B. cereus*-nál sejttáplapot szempontjából kevert tenyészeteket használtunk) úgy, hogy a baktériumoknál  $10^5$ /ml, élesztőknél pedig  $10^4$ /ml legyen a kezdeti csíraszám. Minden esetben 28 C°-on inkubáltunk, statikus módon és a fejlődést naponként turbidimetriás mérésekkel követtük (szükség esetén további leolvasásokat iktattunk közbe).

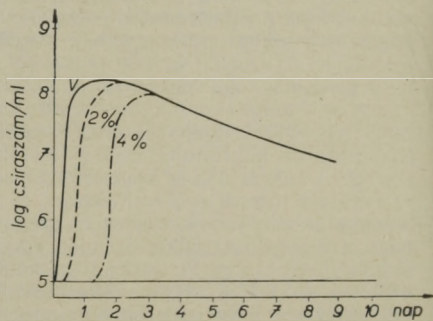
### Kísérleti eredmények:

Mikrobiológiai hatást egyetlen esetben sem tudtunk kimutatni, akár *a*) „külön” vizes oldatban, akár *b*) tápoldattal együtt hőkezeltük a cukrot.

A leírt kísérleteket nagy dózissal (100 Mrad) besugárzott kristályos répacukorral is megismételtük. Az így sugárkezelt cukor külső megjelenésében barnásszínű volt, a 2 Mrad-dal kezeltnél lényegesen sötétebb árnyalatú, kristályszemcséi egymástól jól elkülönültek.



1a. ábra. Szilárd állapotban 100 Mrad-dal besugárzott répacukor 4 és 2%-os tápoldatainak hatása *Bacillus cereus*-ra. (Cukor vizes oldatban külön hőkezelve.)



1b. ábra. Szilárd állapotban 100 Mrad-dal besugárzott répacukor 4 és 2%-os tápoldatainak hatása *Bacillus cereus*-ra. (Cukor a tápoldattal együtt hőkezelve.)

A *Bacillus cereus*-ra gyakorolt mikrobiológiai hatást *a*) külön hőkezelés és *b*) együttes hőkezelés változatában egyaránt vizsgáltuk. A 4%-os összkoncentráción kívül mindkét esetben 2%-os és 1%-os összkoncentrációban is adagoltuk a hőkezelt cukoroldatokat a tápoldatokhoz. Kísérleti eredményeinket az 1/a és 1/b ábrák szemléltetik:

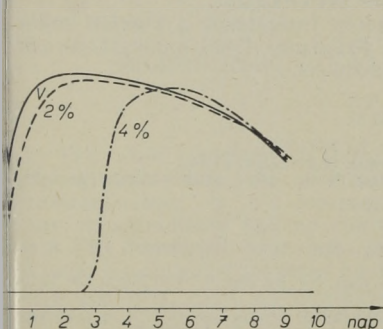
Az ábrákból látható, hogy a 4%-os koncentrációban adagolt 100 Mrad-os cukor a tesztörzs fejlődését gátolta, mégpedig külön hőkezelés mellett kb. 3 napig, együttes hőkezelés mellett kb. másfél napig, vagyis a hatás külön hőkezelés mellett nagyobb volt, ami tendenciájában egyezik Kiss, Farkas et al. vonatkozó megállapításaival (6). Feltehető, hogy az együttes hőkezelés esetében a besugárzott cukor biológiailag aktív bomlástermékei és a tápoldat egy vagy több alkotórésze között olyan reakciók játszódtak le, amelyek inaktív, illetve csökkent

aktivitású termékeket eredményeztek. A 2%-os koncentráció mellett külön és együttes hőkezelés esetében egyaránt mutatkozott némi (1 napon belül észlelhető) különbség a tesztörzs fejlődésében a besugárzott és vakpróbák között; 1%-os oldatban ilyen különbség már nem volt kimutatható, az 1%-os görbéje egybeesett a – V-vel jelölt – vakdatával, ezért az ábrán nincs külön feltüntetve. Megjegyezzük, hogy az ábrákon V-vel jelölt görbék 4%-os kezeletlen cukrot tartalmazó tápoldatokkal készültek, ezeknek a görbéknek a lefutása azonban egyúttal gyakorlatilag megegyezett a 2%-os és 1%-os vakoldatokéival is.

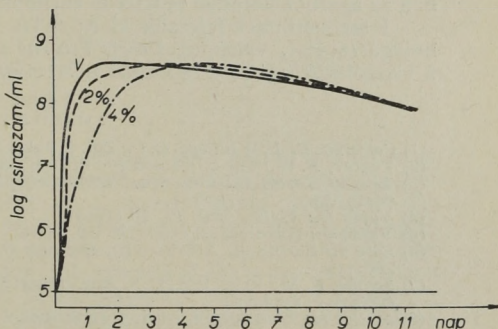
További kísérleteinkben a hatásosabbnak látszó „külön” hőkezelést alkalmaztuk.

A besugárzott cukor hatását tejsav típusú baktérium tesztörzseinkre a 2. és 3. ábrákon szemléltetjük.

*Leuconostoc mesenteroides* esetében – mint a 2. ábrán látható – a 4%-os, besugárzott cukorral készült oldat hatásossága gyakorlatilag megegyezett a *B. cereus*ra egyező körülmények között gyakorolt hatással, amennyiben igen lassított ütemű fejlődés ebben is kb. 3 napig folyt; a vakhoz képest a 2%-os oldat még némileg, az 1%-os pedig már egyáltalán nem gátolta a szaporodást.



2. ábra. Szilárd állapotban 100 Mrad-dal besugárzott répacukor 4 és 2%-os tápoldatainak hatása *Leuconostoc mesenteroides*-re. (Cukor vizes oldatban külön hőkezelve.)



3. ábra. Szilárd állapotban 100 Mrad-dal besugárzott répacukor 4 és 2%-os tápoldatainak hatása *Lactobacillus plantarum*-ra. (Cukor vizes oldatban külön hőkezelve.)

*Lactobacillus plantarum* (3. ábra) esetében a besugárzott cukorral készült 4%-os oldat hatása valamivel kisebb mértékű volt, mint a másik két tesztörzsnél, a 2%-osé megegyező, az 1%-osé pedig itt is hatástalan.

Élesztőtesztörzseinkre a besugárzott cukor 4%-os koncentrációban oldva nem gyakorolt mikrobiológiai hatást.

#### Következtetések

A 2 Mrad-dal csírátlanított kristálycukor mikrobiológiai hatástalansága és más kutatók (6) eltérő megállapításai miatt a kérdés további széles körű vizsgálatokat igényel, amelyeket – gyakorlati szempontból – feltétlenül érdemes elvégezni, mihelyt az ily módon sterilizett cukor élelmiszeripari felhasználásra kerül.

A 100 Mrad-dal besugárzott cukor mikrobiológiai hatására vonatkozó adataink inkább tudományos érdekességűek. Az aránylag csekély hatás véle-

ményünk szerint alátámasztja *Ehrenberg, Ehrenberg és Löfroth* (9) következtéseit a tekintetben, hogy a szilárd szacharóznak csak igen nagy dózissal való besugárzása eredményez antibiotikus hatást vizes oldatokban.

### 3. Besugárzott kristályos répacukor antibiotikus hatásának vizsgálata agaros táptalajon

A vizsgálatokat lyuklemez módszerrel végeztük (11), 2 és 100 Mrad-dal besugárzott kristálycukor felhasználásával. Tesztörzseink a következők voltak: *Bacillus cereus* (V 1202), *Bacillus subtilis* (ATCC 6653), *Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus* T<sub>22</sub> (409) és *Hansenula anomala* (63/XXXII). Az MSZ 3644-ben előírt táptalajokkal dolgoztunk, vagyis a baktériumokat húsleves alapú, az élesztőket malátalé alapú agaros tápközegekre oltottuk. A cukoroldat koncentrációja 4% és 2% volt.

Minden esetben *negatív* eredményt kaptunk, gátlási zónák sehol sem alakultak ki, *Bacillus cereus* esetében sem.

Tekintettel arra, hogy 100 Mrad-os cukor egyező összetételű folyékony táptalajon *Bacillus cereus*ra nézve aktívnak bizonyult, feltételezhető, hogy a besugárzott cukor mikrobiológiailag aktív bomlástermékei valamilyen formában az agarhoz kötődve vesztek el antibiotikus aktivitásukat.

Köszönetünket fejezzük ki az MTA Izotóp Intézetének a kísérleti cukor besugárzásáért, valamint *Fekete Tiborné* és *Pribelszky Ágnes* munkatársaknak a vizsgálatokban való technikai közreműködésükért.

#### I R O D A L O M

- (1) *Cameron, E. J., Williams, C. C.*: Zbl. f. Bakt. II. 76, 28 (1928)
- (2) *Tanner, F. W.*: The microbiology of foods, Garrard, Champaign, 1944.
- (3) *Telegdy Kováts L.*: Cukoripari mikrobiológia MÉTI Bp. 1954. (Felsőoktatási Jegyzet-ellátó V.)
- (4) *Vajda Ö.*: Élelm. Ipar 17, 10 (1963)
- (5) *Vajda Ö.*: Kandidátusi értekezés Bp. 1964.
- (6) *Kiss I., Farkas J., Andrassy E., Beczassy O.* Gy.: Konzerv- és Paprikaipar, 1966, 6. sz. 230. o.
- (7) *Sabine, F. M.*: Prog. Rpt. U. S. Army Quartern. Con. No. 34. Am. Crystal Sugar Co. 1956. (Idézte 6. nyomán)
- (8) *Molin, N., Ehrenberg, L.*: Int. J. Rad. Biol. 8, 223 (1964)
- (9) *Ehrenberg, A., Ehrenberg, L., Löfroth, G.*: Acta Chem. Scand. 17, 53 (1963)
- (10) *Gál I., Vajda Ö.*: ÉVIKE 14,3, (1968)
- (11) *Gál I., Vajda Ö., Bekés I.*: ÉVIKE 15, 208 (1969)

### ИСПЫТАНИЯ ОБЛУЧЕННОГО САХАРА С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИИ

Ед. Вайда и И. Гал

Свекловичный сахар облученный в твёрдом кристаллическом виде практически стерилизуется дозой 2 Mrad, но доза не оказывает защитное действие против перезаражения. Сахарный раствор облученный этой дозой и растворенный до концентрации 4% является не эффективным на *Bacillus cereus*, *Leuconoste mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* и два вида испытываемых дрожжевых штаммов. Питательный раствор облученный дозой 100 Mrad и растворенный до 4% концентрации в большей, а до концентрации 2%, в меньшей степени оказывает тормозящее действие на развитие упомянутых штаммов бактерий, а в то же время эта доза облучения не оказывала антибиотическое действие на дрожжевые штаммы. На твёрдой питательной среде (на агаре) как 100 Mrad так и 2 Mrad дозой облученные 4%-ые и 2%-ные растворы сахара не оказывали микробиологическое действие на бактерии (*B. cereus*, *B. subtilis*) и на дрожжевые тестовые штаммы.

# MIKROBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN MIT BESTRAHLTEM ZUCKER

Ö. Vajda und I. Gál

In festem kristallinischem Zustand bestrahlter Rübenzucker war mit einer Dosis von 2 Mrad praktisch sterilisierbar; die Dosis gewährte gegen Reinfektion keinen Schutz. Der mit dieser Dosis bestrahlte Zucker war in einer 4%-igen Konzentration, in einer Nährlösung gelöst, wirkungslos auf *Bacillus cereus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* und zweierlei Hefestämme; der mit 100 Mrad bestrahlte Zucker in einer Nährlösung aufgelöst, hemmte bei einer Konzentration von 4% das Wachstum der erwähnten Bakterienstämme in grösserem, bei einer Konzentration von 2% in geringerer Masse, blieb aber auf die Hefestämme ohne Wirkung. Auf festem (agarhaltigen) Nährboden übten die 4 und 2%-igen Lösungen des mit 2, sowie mit 100 Mrad bestrahlten Zuckers keinerlei mikrobiologische Wirkung auf die Bakterien- (*B. cereus*, *B. subtilis*) und Hefeteststämme aus.

## MICROBIOLOGICAL STUDY OF IRRADIATED SUGAR

Ö. Vajda and I. Gál

Practically germfree beet sugar could be obtained by a 2 Mrad irradiation in solid crystalline state, this dose having, however, no protecting effect against recontamination. A 4% concentration in a liquid culture medium of the sugar thus irradiated had no effect on the growth of *B. cereus*, *L. mesentericus*, *L. plantarum* and two yeast test-strains. The same concentration of sugar irradiated by 100 Mrad inhibited the growth of above bacterial strains more markedly, while a concentration of 2% showed a less marked effect. No antibiotic action on yeasts could be observed with either concentration. In a solid agar medium neither of these concentrations of sugar samples irradiated by 2 and 100 Mrad, resp., had any microbiological effect on bacterial (*B. cereus*, *B. subtilis*) or yeast strains.

## ETUDE MICROBIOLOGIQUE DU SUCRE IRRADIÉ

Ö. Vajda et I. Gál

Une dose de 2 Mrad suffit à rendre pratiquement stérile le sucre de betterave irradié en état cristallin, ne protégeant toutefois pas contre une récontamination. Dans un milieu liquide de culture une concentration de 4 p. c. du sucre irradié à la même dose n'exerça aucun effet sur la croissance de *B. cereus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* et deux souches de levure. Une teneur de 2% en sucre irradié à 100 Mrad suffit à rendre faiblement inhibiteur le milieu de culture quant à la croissance de susdites souches de bactéries, cet effet étant encore plus prononcé à une teneur de 4 p. c. de sucre, tandis que nulle action antibiotique ne se fit observer envers les levures. Dans un milieu solide de gélose les teneurs de 4 et de 2 p. c. en sucre irradié à 2 et à 100 Mrad respectivement, furent également inactifs envers la croissance des bactéries (*B. cereus*, *B. subtilis*) et des levures.