

OSZACOWANIE METODAMI EPR, TL i PPSL ODPOWIEDZI PRÓBEK PRZY WYKRYWANIU POTENCJALNEGO NAPROMIENIOWANIA ŻYWNOŚCI

Evaluation of detection of potential radiation treatment of foodstuff samples using EPR, TL and PPSL methods.

Grzegorz P. Guzik

VI międzynarodowe porównanie wiarygodności trzech najważniejszych metod analitycznych stosowanych do wykrywania napromieniowanej żywności zorganizowano w 2015 r. pod auspicjami Ministerstwa Zdrowia i Hiszpańskiej Agencji Bezpieczeństwa Żywności i Żywnienia (AESAN) oraz Krajowego Centrum Żywności (CNA). W badaniu zatytułowanym „Międzynarodowe badanie porównawcze metodami TL, PSL i EPR, 6 runda” brało udział dziewiętnaście specjalistycznych laboratoriów z kilku krajów europejskich. CNA jest doświadczonym laboratorium, posiadającym akredytację do wykrywania napromieniowanej żywności metodami termoluminescencji (TL), fotostymulowanej luminescencji (PSL) i spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR). Większość laboratoriów uczestniczących w porównaniu międzylaboratoryjnym posiada również taką akredytację. Asortyment produktów spożywczych dostępnych na rynku jest coraz szerszy, jednak nie wszystkie z nich są testowane pod kątem ich potencjalnego napromieniowania. Jest to istotny argument przemawiający za udziałem wszystkich laboratoriów w porównaniach międzylaboratoryjnych, takich jak obecnie przeprowadzane.

Under the auspices of the Ministry of Health and the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) the National Food Centre (CNA) in 2015 has organised the 6th international exercise for testing the reliability of three most important analytical methods used for the detection of irradiated food. The study named "Intercomparative exercise for quality assurance on TL, PSL and EPR Irradiated food detection methods, 6th Round" assembled nineteen specialized laboratories from several European countries. The organizing institution CNA possess accreditation for the detection of irradiated food and is experienced in thermoluminescence (TL), photostimulated luminescence (PSL) and electron paramagnetic resonance spectroscopy (EPR). It is also the case with most of participating laboratories. Presently the spectrum of food products found in the market is significantly extended and many of this products were not tested or validated whether their radiation treatment is detectable. This is a strong argument for the need of the organization of intercomparative studies as the present one.

Słowa kluczowe: porównania międzylaboratoryjne, EPR, TL, PSL

Key words: intercomparative studies, EPR, TL, PSL

Wstęp

Pod patronatem Ministerstwa Zdrowia Hiszpanii i hiszpańskiej Agencji do spraw Bezpieczeństwa Żywności i Odżywiania (AESAN) oraz Narodowego Hiszpańskiego Centrum Żywnościowego (CNA) zorganizowano w 2015 r. VI międzynarodowe porównanie międzylaboratoryjne. Głównym celem tego porównania było testowanie niezawodności trzech najważniejszych metod analitycznych używanych dla wykrywania potencjalnego napromieniowania żywności promieniowaniem jonizującym. Oficjalna nazwa porównania to: „*Intercomparison exercise for quality assurance on TL, PSL and EPR Irradiated Food Detection Methods. 6th Round*”. Była to już kolejna runda porównań metod dedykowanych do wykrywania potencjalnego napromieniowania, w której brały udział zespoły dwudziestu dwóch wyspecjalizowanych laboratoriów z Francji, Niemiec, Polski, Rumunii i Hiszpanii.

Narodowe Hiszpańskie Centrum Żywnościowe (CNA) jest organizacją posiadającą akredytację w zakresie wykry-

wania napromieniowania żywności i ma duże doświadczenie w zakresie elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR), termoluminescencji (TL) oraz pulsacyjnej fotostymulowanej luminescencji (PSL). Zespoły laboratoriów biorących udział w teście międzylaboratoryjnym były zaangażowane w wykrywanie potencjalnego napromieniowania żywności, zarówno dla klientów komercyjnych, jak i wielkich sieci handlowych produkujących żywność.

Podstawowe procedury analityczne używane przez zespoły laboratoriów biorących udział w badaniach porównawczych oparte są na standaryzowanych metodach opracowanych przez CEN (*Committee European de Normalization*) w zakresie wykrywania potencjalnie napromieniowanej żywności jedną z metod fizycznych: EPR, TL lub PSL [1,2,3,4,5]. Wspomniane metody są najbardziej adekwatne do analizy prostych próbek modelowych napromieniowanych dawkami promieniowania jonizującego równymi albo bliskimi dawkami technologicznych polecanych w normatywnych dokumentach [6].

Głównym celem każdego testu międzylaboratoryjnego jest ocena sprawności laboratorium testującego żywność. Ciągłe doskonalenie badań odgrywa istotną rolę w rozwoju programu gwarancji jakości produkowanej żywności. Udział w teście umożliwia ocenę niezawodności metod pomiarowych adresowanych do określonego artykułu żywnościowego. Po zebraniu wyników dostarczonych od przedstawicieli laboratoriów, organizatorzy przeanalizowali i ocenili ich prawidłowość. Zebrane wyniki zostały przedstawione w końcowym protokole. Rezultaty udziału laboratoriów w teście międzylaboratoryjnym były kodowane numerami znanymi odpowiednio każdemu z przedstawicieli laboratoriów.

Organizacja porównań

Laboratorium CNA przygotowało 8 próbek, przy czym część próbek była napromieniowana natomiast pozostałe nie naświetlone. Zestawy próbek były dostarczone do uczestników testu za pośrednictwem poczty, celem dalszej analizy z użyciem jednej z trzech metod wykrywania opartych o termoluminescencję (TL), fotoluminescencję (PPSL) i spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR). Każda próbka posiadała krótki opis i kod.

Każdy komplet próbek zawierał:

- 1 próbkę do badania metodą TL (każda próbka w dwóch powtórzeniach),
- 1 próbkę do badania metodą PPSL (każda próbka w dwóch powtórzeniach),
- 6 próbek do badania metodą EPR (każda próbka w dwóch powtórzeniach) odpowiednio dla wykrywania napromieniowania w produktach zawierających celulozę (dwie próbki przypraw i orzechów), krystaliczne cukry (dwie próbki owoców suszonych) i hydroksyapatyt (dwie próbki skorupiaka i dwie skorupy mięczaka).

Napromieniowanie próbek przygotowywanych do testu w CNA, Hiszpania

Założone dawki promieniowania w wybranych próbkach testowych laboratorium CNA uzyskało z użyciem dawkomierzy ECB. Były one wcześniej kalibrowane w *High Dose Reference Laboratory* działającym w ramach *Risø National Laboratory, Denmark*. Moc dawki promieniowania źródła wynosiła 6,94 kGy/h. Organizator dołączył do materiałów testu trzy świadectwa napromieniowania z marca 2015 r. zawierające informację o celowym napromieniowaniu pięciu próbek jak pokazano w Tabeli 1.

Tabela 1. Żywność poddana napromieniowaniu (marzec 2015 r.) przez CNA

Określenie próbki	Dawka napromieniowania
Cebula	5 kGy
Papryka słodka	1 kGy
Papryka ostra	1 kGy
Rodzynki	1 kGy
Krewetki	2 kGy

Kalibrowane napromieniowanie próbek w IChTJ, Warszawa

W Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej próbki analizowane metodami TL oraz PSL były napromieniowane kontrolowaną dawką technologiczną 1 kGy w źródle Co 60. Moc dawki w źródle gamma była kontrolowana dawkomierzem rodanko-

wym (dawkomierz Fricke'go). Tak zmierzona moc dawki wyniosła 4,620 kGy/h dla źródła Gamma Chamber 5000 (fot.1).



Fot. 1. Wygląd zewnętrzny źródła kobaltowego Gamma Chamber 5000
Photo.1. The cobaltic source - Gamma Chamber 5000

Następnie wszystkie próbki (Tabela 2) były testowane z użyciem metod:

- Termoluminescencji **TL**: papryka ostra w całości,
- Fotoluminescencji **PPSL**: papryka słodka proszek,
- Spektroskopii **EPR**: fragmenty pancerzyka krewetki, skorupa małży, skorupa orzecha, suszone owoce rodzynek (dwie próbki) oraz wiórki cebuli.

Tabela 2. Próbki żywnościowe przygotowane przez organizatora testu do bezpośredniej analizy przez uczestników porównania międzylaboratoryjnego

Numer	Określenie próbki	Dawka napromieniowania
1	Cebula	5 kGy
2	Skorupa orzecha	brak napromieniowania
3	Rodzynka	brak napromieniowania
4	Rodzynka	1 kGy
5	Skorupa małży	brak napromieniowania
6	Pancerzyk krewetki	2 kGy
7	Papryka ostra	1 kGy
8	Papryka słodka cała	1 kGy

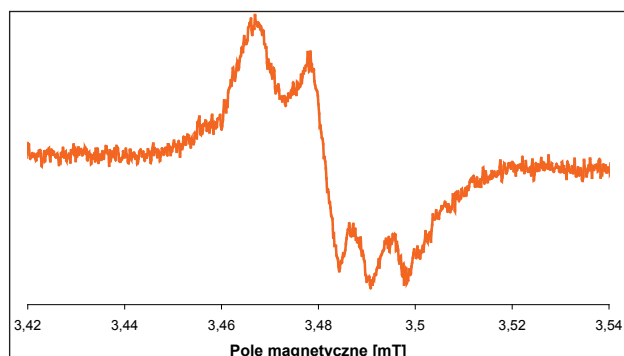
Próbki badane metodą EPR w IChTJ

Próbki testowe były badane w Samodzielnym Laboratorium Identyfikacji Napromieniowania Żywności zgodnie z procedurami stosowanymi w Laboratorium podczas wykrywania potencjalnego napromieniowania zgodnie z Europejskimi Standardami:

- EN - 1786 (skorupa małży i pancerzyk krewetki);
- EN - 1787 (cebula i skorupa orzecha);
- EN - 13708 (rodzynka 3 i rodzynka 4).

Pomiary EPR były przeprowadzone z użyciem aparatu Bruker ESP 300 w paśmie X. Próbki testowe wprowadzono do kapilar cienkościennych firmy Wilmad, USA (kapilara o średnicy wewnętrznej 4 mm, wysokości około 25 mm). Warunki pomiaru EPR zostały ustalone zgodnie z proponowanymi w wy-

mienionych standardach. Próbkę przed napełnieniem rurek były suszone w suszarce ze stałym odprowadzaniem wilgoci w temperaturze nie przekraczającej 40°C przez około dobę. Dla każdego pomiaru EPR stosowano parametry określone szczegółowo w wyżej wymienionych normach. Pojawienie się lub brak charakterystycznego sygnału EPR było porównywane z wymaganiami norm [1,2,3,4]. Przykładowe widmo rodzynek oznaczonej numerem 4 w Tabeli 2 przedstawia rys. 1.



Rys. 1. Próbkę rodzynek oznaczonej numerem 4 w Tabeli 2 pobranej do badania metodą EPR i zidentyfikowanej jako napromieniowana

Fig. 1. Sample of raisin labelled number 4 in Table 2 analysed EPR method (final result: irradiated)

Próbki badane metodą PPSL w IChTJ

Próbki były badane na aparacie PPSL firmy SURRC (Szkocja) zainstalowanym w Laboratorium według procedury opisanej w Europejskim Standardzie EN - 13751. Badany proszek papryki słodkiej był wprowadzony do naczynek Petri'ego o średnicy około 5 cm jak pokazano na fot. 2. Warunki pomiaru PPSL zostały ustalone zgodnie z proponowanymi w wymienionej normie.



Fot. 2. Aparat do badania napromieniowania przypraw roślinnych metodą luminescencji stymulowanej impulsami światła - urządzenie SURRC Irradiated Food Screening System

Photo. 2. The apparatus to the detection of radiation of seasonings with the luminescence stimulated with impulses of the light method - the device SURRC Irradiated Food Screening System

Próbki badane metodą TL w IChTJ

Frakcja mineralna była izolowana z badanej próbki papryki ostrej, ważącej około 20g. Wydzielone minerały ulokowano na specjalnych miseczkach ze stali kwasoodpornej. Pomiar przeprowadzono na Czytniku RISØ TL/OSL DA 20 TL zainstalowanym w Laboratorium IChTJ zaprezentowanym na fot. 3. Przyjęto następujące warunki pomiarowe:

- zakres temperatur 50-450°C;
- zakres całkowania 150-250°C;
- wskaźnik szybkości wzrostu temperatury: 6°C/min.



Fot. 3. Urządzenie do identyfikacji napromieniowania artykułów spożywczych metodą termoluminescencji - czytnik RISØ TL/OSL-DA-20

Photo. 3. Device to the identification of radiation of foodstuffs with the thermoluminescence method - reader RISØ TL/OSL-DA-20

Kryteria zastosowane do wykrywania potencjalnego napromieniowania badanych próbek

1. EPR: identyfikacja sygnału EPR specyficznego dla napromieniowanych próbek szczegółowo opisanych w normach [1,2,3,4];
2. PPSL: porównanie wartości otrzymanych podczas pomiaru próbki z dwiema wartościami progowymi T (niższą T1=700 cpm i wyższą T2=5000 cpm). Dopuszczalne jest również obliczenie stosunku intensywności świecenia zarejestrowanego dla próbki surowej wobec próbki napromieniowanej dawką kalibracyjną.
3. TL: identyfikacja maksimum krzywej świecenia dla próbki surowej i ocena stosunku wartości zmierzonych dla krzywej świecenia 1 wobec krzywej świecenia 2 (zintegrowana wartość intensywności świecenia TL) w granicach temperatur 150-250°C. Stosunek ten dla próbki napromieniowanej powinien być większy od 0,1.

Porównanie wyników otrzymanych w laboratorium IChTJ oraz CNA

A. Test na metodę EPR (Tabela 3)

Wszystkie napromieniowane próbki były sklasyfikowane poprawnie z wyjątkiem fragmentu panczerzyka krewetki, która była sklasyfikowana jako nie napromieniowana.

Tabela 3. Zebrane wyniki testów badań metodą EPR

Próbka	Masa próbki [mg]	Wynik testu IChTJ	Wynik testu CNA
Cebula	98,19	pozytywny	pozytywny
Skorupa orzecha	104,81	negatywny	brak napromieniowania
Rodzynek	107,37	negatywny	brak napromieniowania
Rodzynek	102,23	pozytywny	pozytywny
Skorupa małży	101,86	negatywny	brak napromieniowania
Pancerzyk krewetki	98,49	negatywny	pozytywny

B. Test na metodę PSL i TL (Tabela 4)

Wszystkie napromieniowane próbki były sklasyfikowane poprawnie.

Tabela 4. Zebrane wyniki testów badanych próbek analizowanych metodą PSL i TL

Próbka	Świecenie A dla próbki surowej	Świecenie B dla próbki napromieniowanej dawką kalibracyjną 1 kGy	Stosunek świeceń A do B	Wynik testu IChTJ	Wynik testu CNA
Papryka ostra	107664	246361	0,437	pozytywny	pozytywny
Papryka słodka cała	8271517	9420144	0,878	pozytywny	pozytywny

Wnioski

Udział w VI porównaniu międzylaboratoryjnym uwiarygodnił niezawodność standardowych metod wykrywania potencjalnego napromieniowania w produktach spożywczych. Napromieniowana próbka papryki ostrej ocenianej metodą PPSL również została oceniona prawidłowo przez wszystkie laboratoria. W odróżnieniu do ubiegłorocznych wyników testu intensywność świecenia A dla próbek surowych papryki było na tyle silne, że interpretacja wyniku początkowego była jednoznaczna. Ocenę próbek papryki jako napromieniowanej potwierdził pomiar kalibracyjny po dopromieniowaniu dawką 1 kGy.

Rozszerzony asortyment artykułów żywnościowych badanych metodą EPR, a nie analizowanych wcześniej był w większości oceniony prawidłowo przez wszystkie laboratoria biorące udział w badaniu.

Próbka skorupy mały była badana metodą EPR opartą o wykrywanie specyficznego asymetrycznego sygnału (współczynniki rozszczepienia żyroskopowego $g_1=2,002$ i $g_2=1,998$) wyznaczonego dla centrów paramagnetycznych w hydroksypatycie (EN - 1786). Pozytywny wynik analizy dla tej próbki nie wymaga dodatkowych komentarzy. Również obie próbki (cebula i skorupa orzecha) zawierające rodniki celulozowe były prawidłowo ocenione zgodnie z wymaganiami normy EN - 1787. To samo można stwierdzić przy analizie wyników otrzymanych dla dwóch próbek rodzynek. Pojawienie się określonego wieloskładnikowego sygnału w napromieniowanej próbce (zob. rys. 1) oraz jego brak w nie napromieniowanej próbce (EN - 13708) składają na stwierdzenie, że metoda EPR jest dla owoców zawierających krystaliczne cukry całkowicie niezawodna.

Problemem prawie połowy laboratoriów biorących udział w teście międzylaboratoryjnym była właściwa ocena napromieniowania próbki panczerzyka krewetki. Niewątpliwą przyczyną była trudność w zakwalifikowaniu próbki do oceny właściwą metodą badawczą. Singlet ze współczynnikiem rozszczepienia żyroskopowego $g=2,004$ nie był charakterystyczny ani dla próbek zawierających hydroksypatyt (EN - 1786) ani dla próbek zawierających rodnik celulozowy (EN - 1787). Przy niższych i wyższych wartościach pola magnetycznego nie znalazłem jakichkolwiek śladów linii satelitarnych oczekiwanych w napromieniowanej próbce zawierającej rodnik celulozowy. Również intensywność zidentyfikowanego singletu nieznacznie przekraczała intensywność szumów sygnału EPR. Dlatego próbka panczerzyka krewetki została zakwalifikowana jako nie napromieniowana, chociaż

zgodnie z deklaracją organizatora testu była napromieniowana (zob. Tabela 1). W opinii autora tekstu powód leży również w niskiej stabilności sygnału krewetki w czasie. Próbki analizowane podczas testu międzynarodowego były napromieniowane w marcu, podczas gdy ich dostarczenie i badanie odbyło się w maju 2015 r. Na podstawie wcześniejszych pomiarów przeprowadzonych przez zespół p. doktora Waława Stachowicza [7], dla niektórych próbek sygnał EPR zanika całkowicie już po 3 miesiącach magazynowania. Dlatego lepiej jest badać potencjalne napromieniowanie krewetek metodą TL lub ostatecznie PPSL, niż metodą EPR. Drobinę minerałów występujące obficie w ich przewodach pokarmowych są łatwe do wydzielenia i dają zawsze wiarygodne wyniki potencjalnego napromieniowania.

Obecnie, głównie z powodów ekonomicznych producenci żywności i sprzedawcy stosują dawki zmniejszone w porównaniu z zalecanymi dawkami technologicznymi, jedynie do minimalnego poziomu, który jeszcze zapewnia skutek konserwacji i bezpieczeństwo mikrobiologiczne żywności. Takie "optymalne" dawki z technologicznego punktu widzenia, prawdopodobnie będą niebawem stosowane na całym świecie i będą dużo niższe niż te zalecane w Kodeksie [6]. Z każdym rokiem asortyment artykułów żywnościowych występujących na rynku ulega znacznemu rozszerzeniu i wiele z tych produktów nie było jeszcze przetestowanych, czy ich napromieniowanie możliwe jest do jednoznacznego wykrycia. To silny argument przemawiający za potrzebą organizacji tak zwanych *professional tests / interlaboratory comparison -PT/ILC* (międzylaboratoryjnych testów), jak bieżące porównanie.

Obecnie to już VI międzylaboratoryjne porównanie zorganizowane przez specjalistów z Hiszpanii z udziałem kilku europejskich krajów. Każdy z wcześniejszych pięciu testów dotyczył próbek różnego rodzaju i asortymentu. Jednak każdy kolejny test stanowił pewne uzupełnienie już poprzednio przeprowadzonych analiz.

mgr Grzegorz P. Guzik,
Instytut Chemii i Techniki Jądrowej,
Samodzielne Laboratorium Identyfikacji
Napromieniowania Żywności,
Warszawa

Literatura

1. PN-EN 13708:2003: Foodstuffs - Detection of irradiated food containing crystalline sugar by ESR spectroscopy. European Committee for Standardisation (CEN), Brussels;
2. PN-EN 1788:2001: Foodstuffs - Thermoluminescence detection of irradiated food from which silicate minerals can be isolated. European Committee for Standardisation, Brussels;
3. PN-EN 13751:2009: Foodstuffs - Detection of irradiated food using photo stimulated luminescence. European Committee for Standardisation, Brussels;
4. PN-EN 1786:2000: Foodstuffs - Detection of irradiated food containing bone - Method by ESR spectroscopy. European Committee for Standardisation (CEN), Brussels;
5. PN-EN 1787:2001: Foodstuffs - Detection of irradiated food containing cellulose by ESR spectroscopy. European Committee for Standardisation (CEN), Brussels;
6. General Standard for Irradiated Foods: Codex Alimentarius: Codex Stan 106-1983 Rev.1-2003; IAEA WHO; Geneva 1981;
7. K. Lehner, W. Stachowicz, 2003, IChTJ Raport Seria B, nr 4/2003, 14 stron.