

APARATURA

BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

Zastosowanie metod analitycznych w wykrywaniu napromieniowania żywności.

Przegląd najnowszych metod w świetle regulacji unijnych

Radioliza pulsowa, spektroskopia w podczerwieni i ramanowska w analizie napromieniowanej żywności

HANNA LEWANDOWSKA¹, ANTONI JAKUBCZAK², RENATA ŚWISŁOCKA^{2,3},
MILENA ALICJA STACHELSKA², WŁODZIMIERZ LEWANDOWSKI^{2,3}

¹INSTYTUT CHEMII I TECHNIKI JĄDROWEJ, ZAKŁAD NAUKOWY CENTRUM RADIOBIOLOGII
I DOZYMETRII BIOLOGICZNEJ,

²PAŃSTWOWA WYŻSZA SZKOŁA INFORMATYKI I PRZEDSIĘBIORCZOŚCI W ŁOMŻY,
INSTYTUT TECHNOLOGII ŻYWNOSCI I GASTRONOMII

³POLITECHNIKA BIAŁOSTOCKA, WYDZIAŁ BUDOWNICTWA I INŻYNIERII ŚRODOWISKA,
ZAKŁAD CHEMII

Słowa kluczowe: sterylizacja radiacyjna, żywność, spektroskopia w podczerwieni, spektroskopia ramanowska, radioliza impulsowa

STRESZCZENIE

Napromienianie żywności jest metodą konserwacji o niemal stuletniej tradycji. Pomimo, że zostało zaakceptowane przez organy kontroli jakości w wielu krajach na całym świecie, nadal budzi kontrowersje. Nie ulega kwestii, że procesy napromieniania żywności powinny być monitorowane, a żywność sterylizowana radiacyjnie powinna podlegać bardzo ścisłej kontroli jakości. Z tej przyczyny poszukuje się nowych metod wykrywania i dozymetrii napromieniowanej żywności. Obecnie wśród metod analitycznych wykrywania żywności poddanej napromieniowaniu, znormalizowanych przez Europejski Komitet Normalizacyjny (CEN), są tylko dwie metody spektroskopowe: rezonans paramagnetyczny i luminescencja stymulowana światłem, jednak badania wskazują na możliwość zastosowania wielu innych dogodnych rozwiązań z zastosowaniem m.in. spektroskopii Ramana i widm w bliskiej podczerwieni. Spektroskopowe metody oceny napromieniowanej żywności dają możliwość szybkiego i precyzyjnego wykrycia zastosowanych dawek, dlatego zasługują na zainteresowanie ze strony zespołów badawczych i wdrożeniowych. Niniejszy przegląd omawia krótko obecny stan naukowy i prawny monitoringu napromieniania artykułów żywnościowych w Polsce i na świecie, a następnie prezentuje najnowsze doniesienia i osiągnięcia w zakresie zastosowania metod spektroskopowych w ocenie napromienionej żywności.

Application of analytical methods for detecting food irradiation. An overview of recent methods in regard of EU regulations

Keywords: radiation sterilization, food, infrared spectroscopy, Raman spectroscopy, pulse radiolysis

ABSTRACT

Food irradiation as a method of preservation is nearly a century old. Although it has been approved by the quality control in many countries around the world, it still remains a matter of controversy. There is no question that the process of food irradiation should be monitored, and irradiated foods should be subject to very strict quality control. For this reason the search for new methods of detection and dosimetry of irradiated foods is required. Currently, among the analytical methods for detecting irradiated foods standardized by the European Committee for Standardization (CEN) only two are the spectroscopic methods: EPR and photostimulated luminescence, but studies indicate the possibility of using a number of other convenient solutions, among others Raman and near-infrared spectra. Spectroscopic methods for assessing irradiated foods make it possible to quickly and accurately detect the applied dose, and shall draw attention of the research and implementation teams. This review briefly discusses the current scientific and legal status of irradiated food monitoring in Poland and worldwide and presents the latest achievements in the application of spectroscopic methods in the evaluation of food irradiation.

1. RYS HISTORYCZNY I PRAWNY

Tradycja konserwacji żywności za pomocą promieniowania sięga pierwszej połowy XX w., kiedy w roku 1906 Appleby i Banks uzyskali patent na sterylizację produktów zbożowych [1]. W 1951 roku Komisja Energii Atomowej Stanów Zjednoczonych zaczęła koordynować pierwsze prace badawcze dotyczące tej metody. W roku 1958 w Niemczech po raz pierwszy zastosowano tę metodę na skalę przemysłową do sterylizacji przypraw [2], a w 1970 utworzono Międzynarodowy Projekt Napromieniowania Żywności Federalnego Centrum Badań Przemysłu Spożywczego (Karlsruhe, Niemcy). W 1980 Wspólny Komitet Ekspertów Napromieniowania Żywności FAO / IAEA / WHO zalecił przyjęcie za dopuszczalną „ogólną średnią dawkę” do 10 kGy, a w 1983 wartość ta zostaje określona jako „całkowita średnia dawka” dopuszczalna przy sterylizacji żywności. Dawka ta, jako maksymalna, zostaje podtrzymana w obecnie obowiązujących standardach Codex Alimentarius (CODEX STAN 106-1983).

W Dyrektywie 1999/2/EC dotyczącej zagadnień napromieniowania żywności zapisany jest wymóg znakowania produktów napromieniowanych oraz wytworzonych z udziałem napromienionych składników. Przepis ten nie miałby zastosowania gdyby nie było możliwości rozpoznania, czy dany produkt został poddany działaniu promieniowa-

nia jonizującego. Problem konieczności identyfikacji sterylizowanych radiacyjnie produktów spożywczych poruszono już w 1988 roku na Międzynarodowej Konferencji w Sprawie Przyjęcia, Kontroli i Handlu Napromienioną Żywnością, organizowanej wspólnie przez FAO, IAEA, WHO, ITC - UNCTD/GATT (Genewa 1988). Zwrócono wówczas uwagę, że jakiegokolwiek wykrywanie zmian w napromienionym pożywieniu jest trudne i byłoby celowe opracowanie metod identyfikowania takich produktów, aby wzmocnić system kontroli administracyjnej oraz zwiększyć zaufanie konsumentów do tej żywności. Na początku lat 90. Komisja Europejska poprzez Referencyjne Biuro Wspólnoty Europejskiej (BCR) sfinansowała dwuletni program badawczy dla rozwoju i walidacji metod wykrywania żywności sterylizowanej promieniowaniem jonizującym. W ramach tego programu opracowano szereg skutecznych metod. W 1993 roku Komisja Europejska upoważniła Europejski Komitet Normalizacyjny (CEN) do ujednolicenia tych metod, czego wynikiem jest szereg norm opisanych krótko w dalszej części tego artykułu.

W Polsce pierwsze prace z zakresu wykrywania napromieniowania produktów spożywczych prowadzono w latach 1986-1990 w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej, metodami spektroskopii EPR i pomiaru termoluminescencji, w ramach programu badawczo-rozwojowego CPBR pt. “Metody

radiacyjne w rolnictwie”. Obecnie prace są realizowane w ramach kolejnych programów międzynarodowych. Od 1994 roku istnieje Samodzielne Laboratorium Identyfikacji Napromieniowania Żywności Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej, do którego zadań należy poszukiwanie, rozwijanie i wdrażanie najbardziej wiarygodnych metod analitycznych, pozwalających na ocenę czy dany produkt został utrwalony z zastosowaniem technik radiacyjnych.

Pomimo że metoda radiacyjnego utrwalania żywności została zaakceptowana przez światowe organy kontroli jakości, jednak wciąż budzi kontrowersje. Do niewątpliwych zalet tej metody należą: zapobieganie zatruciom pokarmowym, poprzez niszczenie szkodliwych bakterii (takich jak *Salmonella*, *Listeria*) w niektórych produktach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (drób, jaja, produkty z niepasteryzowanego mleka), przedłużenie okresu przechowywania produktów spożywczych, eliminowanie konieczności stosowania chemicznych środków konserwujących w przypadku ziół, przypraw oraz grzybów, a także znaczne ograniczenie strat spowodowanych psuciem. Jako wady wymienić należy możliwość poddawania napromieniowaniu żywności zanieczyszczonej mikrobiologicznie i wprowadzania jej do obrotu jako czystej i świeżej, podczas gdy mogą być w niej obecne toksyczne produkty przemiany materii zabitych mikroorganizmów, takie jak botulina. Ponadto poddawanie działaniu promieniowania jonizującego świeżych owoców i warzyw może być mylące dla konsumenta przy ocenie ich świeżości i stopnia dojrzałości. Radiacja może powodować niszczenie witamin, składników odżywczych, niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, a w związku z tym organizmowi będą dostarczane wyłącznie „puste kalorie”.

2. DO JAKICH PRODUKTÓW ŻYWNOSCIOWYCH MOŻNA STOSOWAĆ STERYLIZACJĘ RADIACYJNĄ W POLSCE, W UE I NA ŚWIECIE?

Komisja FAO i WHO ds. Codex Alimentarius wspólnie z innymi organami ustawodawczymi określa zasady dotyczące napromieniania żywności oraz podstawowe procedury kontrolujące i regulujące ten proces. W Europie wszelkie postanowienia dotyczące żywności i składników żywnościowych, które wystawione były na działanie promieni jonizujących, zawarte są w Dyrektywie Unii Europejskiej 1999/2/EC.



Rysunek 1 Radura jest międzynarodowym symbolem, używanym w celu oznaczenia napromieniowanej żywności. Zgodnie z Codex Alimentarius znak ten powinien być umieszczony na każdej partii produktu zawierającego napromienione komponenty.

Figure 1 Radura is an international symbol used to indicate irradiated food. According to the Codex Alimentarius, the mark should be placed on each lot of product containing irradiated components.

Na całym świecie ponad 40 państw zezwala na utrwalanie radiacyjne łącznie ponad 60 artykułów spożywczych, w tym kurczaków, ziaren kakaowca, suszonych daktyli, owoców mango i papai, ziemniaków, cebuli, jadalnych nasion roślin strączkowych (np. fasola, groch) oraz ryżu, przypraw, surowych truskawek, surowych ryb i ich przetworów oraz zbóż. W Unii Europejskiej radiacyjne utrwalanie żywności jest dozwolone w Belgii (6 produktów), Francji (16 produktów), Włoszech (3 produkty), Holandii (8 produktów) i Wielkiej Brytanii (10 produktów) [3].

W Polsce przepisy dotyczące napromieniania żywności reguluje Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 20 czerwca 2007 r. w sprawie napromieniania żywności promieniowaniem jonizującym (Dz. U. z dnia 6 lipca 2007 r.): Środki spożywcze mogą być poddawane napromienianiu promieniowaniem jonizującym pochodzącym ze źródeł wytwarzających:

- 1) promieniowanie gamma z radionuklidów ^{60}Co lub ^{137}Cs ;
- 2) promieniowanie rentgenowskie wytwarzane w urządzeniach pracujących na poziomie energii nominalnej do 5 MeV;
- 3) elektrony generowane w urządzeniach pracujących na poziomie energii do 10 MeV.

Średnia sumaryczna dawka promieniowania jonizującego pochłonięta przez środki spożywcze poddane napromienianiu nie może przekraczać 10 kGy.

Tabela 1 Dawki promieniowania stosowane w sterylizacji produktów żywnościowych dopuszczone w Polsce [4]**Table 1** Doses of radiation, used in sterilization of food, approved in Poland [4]

Lp.	Rodzaj środka spożywczego	Cel napromienienia	Dawka [kGy]
1	Ziemniaki	Hamowanie kiełkowania	0,025-0,10
2	Cebula	Hamowanie kiełkowania	do 0,060
3	Czosnek	Hamowanie kiełkowania	0,030-0,15
4	Pieczarki	Zahamowanie wzrostu i starzenia się grzybów	1,0
5	Przyprawy suche, w tym suszone aromatyczne zioła, przyprawy korzenne i przyprawy warzywne	Obniżenie poziomu zanieczyszczeń biologicznych	10,0
6	Pieczarki suszone	Obniżenie poziomu zanieczyszczeń biologicznych	1,0
7	Suszone warzywa	Obniżenie poziomu zanieczyszczeń biologicznych	1,0

3. METODY ANALITYCZNE NAPROMIENIANIA ŻYWNOSCI

Zmiany, jakie zachodzą w żywności pod wpływem promieniowania jonizującego wynikają z dwóch podstawowych efektów oddziaływania promieniowania jonizującego z materią: bezpośrednio i pośrednio. Bezpośredni efekt wynika z fizycznego oddziaływania fotonów z atomami. Pośrednie oddziaływanie, innymi słowy uszkodzenie oksydacyjne, jest wynikiem reakcji łańcuchowych wywołanych przez indywidualnie pierwotnie zjonizowane lub będące w stanach wzbudzonych. W żywności świeżej (mięso, jaja, świeże owoce itp.) dominuje efekt pośredni, związany z wychwytywaniem produktów radiolizy wody. Naświetlanie produktów suchych często pozwala na obserwację zmian charakterystycznych wynikających z bezpośredniego oddziaływania promieniowania z cukrami (np. w zbożu), kolagenem (w mięsie) lub hydroksyapatytem (w kościach). Metody uznane i stosowane do identyfikacji napromienionej żywności możemy podzielić na: metody fizyczne (spektrometria rezonansu spinu elektronowego, termoluminescencja, chemiluminescencja, luminescencja stymulowana światłem, wiskozymetria, pomiar oporności elektrycznej, spektroskopia w bliskiej podczerwieni, rezonansowa spektroskopia Ramana), metody chemiczne (oznaczanie węglowodorów, 2-alkilocyklobutanonów, o-tyrozyny, gazów: wodoru i tlenu węgla, produktów radiolizy DNA) oraz metody

biologiczne (test DEFT (direct epifluorescent filter technique) / APC (aerobic plate count), test LAL (limulus amoebocyte lysate) / GNB (Gram-negative bacteria), ocena fragmentacji DNA próbą kometową, ocena zdolności kiełkowania, biologicznej aktywności zarodkowej lub szybkości wysypywania zarodników). Część z tych metod doczekała się normalizacji przez Europejski Komitet Normalizacyjny (CEN). Poniżej prezentujemy ich pełny wykaz.

3.1 Metody fizyczne, w tym spektroskopowe

- 1) EN 1784:2003 Wykrywanie napromieniowania żywności zawierającej tłuszcze. Analiza zawartości węglowodorów za pomocą chromatografii gazowej
- 2) EN 1785:2003 Wykrywanie napromieniowania żywności zawierającej tłuszcze. Analiza zawartości 2-alkilcyklobutanonów za pomocą chromatografii gazowej/spektrometrii masowej (ulepszona)
- 3) EN 1786:1996 Wykrywanie napromieniowania żywności zawierającej kości za pomocą spektroskopii EPR
- 4) EN 1787:2000 Wykrywanie napromieniowania żywności zawierającej celulozę za pomocą spektroskopii ESR
- 5) EN 1788:2001 Termoluminescencyjna metoda wykrywania napromieniowania żywności, z której można wyizolować minerały krzemianowe
- 6) EN 13708:2001 Wykrywanie napromieniowania żywności zawierającej cukier krystaliczny przy użyciu spektroskopii EPR

7) EN 13751:2002 Wykrywanie napromieniowanej żywności za pomocą luminescencji stymulowanej światłem

3.2 Metody biologiczne

1) EN 13783:2001 Wykrywanie napromieniowania żywności za pomocą techniki DEFT/ APC. Metoda przesiewowa

2) EN 13784:2001 Test kometa DNA do wykrywania napromieniowanych środków spożywczych - metoda przesiewowa

3) EN 14569:2004 Mikrobiologiczne badania przesiewowe w napromieniowanej żywności z wykorzystaniem procedury LAL/GNB.

Istnieje szereg doniesień na temat nowych metod, zwłaszcza spektroskopowych, pozwalających na identyfikację i dozymetrię napromieniowanej żywności [5-7].

Metody spektroskopowe z użyciem promieniowania bliskiej podczerwieni oraz efektu Ramana dają możliwość obserwowania zmian w składzie produktu w sposób kompleksowy, w postaci obserwacji kilku składników produktu żywnościowego jednocześnie, na podstawie drgań pochodzących od różnych składników, takich jak nienasycone kwasy tłuszczowe, wiązania amidowe białek czy ich struktura drugorzędowa. Ma to znaczenie z tego względu, że zmiany w złożonym produkcie pochodzenia naturalnego zachodzą w sposób skomplikowany i jeden wyznacznik może nie wystarczyć do precyzyjnej oceny dawki napromieniowania. Niemniej jednak badania nad zastosowaniem tych metod są we wstępnej fazie i wymagają jeszcze nakładu pracy. Podejmowane są próby zastosowania wymienionych technik badawczych do oceny jakości produktów żywnościowych [8-10]. Zaletą spektroskopii FTIR jest to, że może być ona stosowana do żywności będącej w różnych formach, takich jak między innymi: susz i produkty świeże, pokarmy płynne i w postaci stałej. Ponadto jest szybką i czułą techniką, łatwą i taną w zastosowaniu. Zapewnia precyzyjną metodę pomiaru, która nie wymaga kalibracji zewnętrznej. Dzięki spektroskopii FTIR, możliwe jest monitorowanie zmian w strukturze i właściwościach biomolekuł, takich jak DNA, RNA, białka, węglowodany, lipidy w tkankach i komórkach jednocześnie [11, 12]. Jako przykład próby oceny zmian, które zachodzą pod wpływem rosnących dawek promieniowania γ w żywności, może służyć praca Dogan i wsp. [13]. Badali oni zmiany zachodzące w widmie orzecha laskowego pod wpły-

wem dawek 1,5 oraz 10 KGy. Wyniki tych badań wykazały, że obróbka radiacyjna spowodowała widoczne zmiany w pasmach pochodzących od głównych składników orzecha laskowego, takich jak lipidy i białka. Wzrost intensywności absorpcji pasm przy 3006 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} i 1746 cm^{-1} oraz wzrost stosunku drgań symetrycznego rozciągającego CH_2 (2854 cm^{-1}) do symetrycznego rozciągającego CH_3 (2873 cm^{-1}), a także zginającego CH_2 (1462 cm^{-1}) do amidowego I (1652 cm^{-1}) oraz estrowego rozciągającego $\text{C}=\text{O}$ (1746 cm^{-1}) do amidowego I (1652 cm^{-1}) sugeruje, że całkowita zawartość lipidów w napromieniowanych próbkach orzecha laskowego uległa wzrostowi przy niskich dawkach napromieniowania i uległa wzrostowi przy wysokich dawkach. Dogan i wsp. zauważyli dalej znaczne zmniejszenie intensywności pasm charakterystycznych dla tłuszczów nienasyconych (3600 cm^{-1} i drgania CH_2) pod wpływem wysokiej (10 KGy) dawki promieniowania, co autorzy wytłumaczyli peroksydacją lipidów. Efekt ten nie był widoczny dla dawki 1,5 KGy. Zauważyli również, że niska dawka promieniowania powodowała zmniejszenie stosunku intensywności pasm amidowe I/amidowe II, podczas gdy wysoka dawka powodowała wzrost tego stosunku. Analiza komponentów pasma amidowego I ujawniła, że po napromienieniu niską dawką zmalała intensywność sygnału pochodzącego od struktury alfa-helikalnej białek. Wysoka dawka również powodowała zmniejszenie tej intensywności, ale jednocześnie obserwowano duży wzrost sygnału przypisywanego strukturze kłęбка statystycznego, co sugeruje denaturację białka. Podobne wyniki uzyskali także inni badacze [14-16]. Podsumowując, zmiany obserwowane w widmach FTIR mają charakter złożony, ale możliwe jest stworzenie wzorców zmian widm w zależności od dawki dla danego typu materiału.

Jeszcze lepszym narzędziem do badania zmian poradiacyjnych w produktach pochodzenia naturalnego wydaje się rezonansowa spektroskopia ramanowska. W odróżnieniu od podczerwieni daje ona znacznie mniej skomplikowane i dobrze zdefiniowane widma. Za pomocą spektroskopii Ramana z transformacją Fouriera (FTR) Sailer i wsp. [17] badali kinetykę uszkodzeń radiacyjnych generowanych w liposomach. Ramazan i Irudayaraj [5] wykazali, że spektroskopia ramanowska pozwala wyjaśnić zmiany zachodzące pod wpływem promieniowania gamma w strukturach chemicznych fruktozy i miodów w zakresie stoso-

wanych dawek. Najdokładniejszymi wskaźnikami dawki napromieniowania okazały się zmiany w strukturze pierścienia i w obrębie wiązań C-H węglowodanów. Wyniki pokazują, że w połączeniu z odpowiednią metodą rozpoznawania wzorców, korelacyjna spektroskopia Ramana jest przydatna w wyjaśnieniu molekularnych zmian w strukturze napromieniowanych węglowodanów występujących w żywności w sposób szybki i nieinwazyjny z około 98% dokładnością. Precyzyjnych danych (będących w zgodzie z wcześniej przytoczonymi, na bazie spektroskopii w podczerwieni) na temat zmian w strukturze białek w mięsie łososia dostarczyła praca Herrero i wsp. [9]. Proponowana metodologia oferuje duże możliwości bezpośredniego badania napromieniowania żywności przetworzonej.

4. ZASTOSOWANIE RADIOLIZY IMPULSOWEJ DO BADAŃ MODELOWYCH NAD SYGNAŁAMI WYWOŁYWANYMI NA SKUTEK PROMIENIOWANIA W MATERIALE BIOLOGICZNYM

Zrozumienie pochodzenia i właściwa interpretacja sygnałów spektralnych pojawiających się na skutek napromieniowania materiału biologicznego stwarza możliwość większej kontroli podczas szacowania dawek promieniowania użytych podczas sterylizacji żywności. Szczególne znaczenie ma to w przypadku, gdy do oszacowania dawki próbujemy zastosować metodę dającą złożone widmo, jak np. FTNIR, a nawet FTR. Stąd wynika potrzeba badań na modelowych przedstawicielach substancji powszechnie występujących w sterylizowanych produktach, a więc na białkach, cukrach, lipidach, związkach fenolowych. Obok prostego zastosowania metod spektroskopowych w badaniach dozymetrycznych na wymienionych związkach, warto rozważyć użycie metody, która pozwoli scharakteryzować również fizykochemiczne podstawy powstawania (lub zanikania) podczas napromieniowania sygnałów, a zatem odpowiadających im indywidualów chemicznych. Znakomite rezultaty w tym zakresie są uzyskiwane z zastosowaniem radiolizy impulsowej, metody, która pozwala na obserwację powstawania i przemian wolnych rodników w niezwykle krótkim czasie po napromienieniu. Radioliza impulsowa polega na podziałaniu na badaną próbkę impulsem (impulsami) promieniowania pochodzącego z akceleratora elektronów, a następnie detekcji produktów radiolizy przy pomocy metod optycznych,

takich jak spektroskopia absorpcyjna lub emisyjna (fluorescencyjna). Pozwala to na identyfikację krótkożyciowych produktów przejściowych oraz śledzenie kinetyki reakcji przebiegających w czasach rzędu mikrosekund i krótszych. Dzięki radiolizie impulsowej możliwe jest określenie żywotności poszczególnych stanów wzbudzonych i form przejściowych, a także ich dynamiczny udział w obserwowanym sygnale spektroskopowym. Radioliza impulsowa pozwala nie tylko na badanie drogi powstawania wolnych rodników w pojedynczych indywidualach chemicznych, ale również pozwala określić wzajemny wpływ różnych substancji, jeśli zostaną one napromienione w tej samej próbce [18-20].

5. PODSUMOWANIE

Metody spektroskopowe, a szczególnie spektroskopia w podczerwieni i rezonansowa spektroskopia ramanowska oraz ich odmiany korelacyjne stanowią niewykorzystane w pełni źródło wiedzy na temat zmian zachodzących w materii pod wpływem promieniowania jonizującego. Mogą one również dostarczyć potencjalnie łatwego w użyciu i niskonakładowego narzędzia do oceny napromieniowania żywności, jednak zarówno od strony podstaw teoretycznych jak i metodologii, badania spektroskopowe nad preparatami pochodzenia naturalnego wymagają rozwinięcia. W opinii autorów ten niezwykle szeroki i złożony aspekt zastosowania spektroskopii stanowi znakomite naukowe wyzwanie dla specjalistów zarówno w dziedzinie chemii żywności jak i chemii fizycznej oraz fizycznej chemii organicznej.

**Praca wykonana w ramach projektu
G/WBiIS/9/2010**

LITERATURA

- [1] Appleby J., Banks A.J., Improvements in or relating to the treatment of foodstuffs, more especially cereals and their products; UK, 1906.
- [2] Maurer K.F., Zur Keimfreimachung von Gewürzen. Die Ernährungswirtschaft 5 (1), 1958, 45-47.
- [3] Annual Report from the Commission on food irradiation for 2010.
- [4] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 20 czerwca 2007 r. w sprawie napromieniania żywności promieniowaniem jonizującym (Dz. U. z dnia 6 lipca 2007 r.).
- [5] Kizil R., Irudayaraj J., Rapid evaluation and discrimination of γ -irradiated carbohydrates using FT-Raman spectroscopy and canonical discriminant analysis, *J. Sci. Food Agric.* 87, 2007, 1244-1251.
- [6] Ioannis S.A, Chapter 4 - Irradiation Detection; Irradiation of Food Commodities. Boston, Academic Press, 2010, 67-139.
- [7] Li-Chan E., Chalmers J.M., Griffiths P., Applications of Vibrational Spectroscopy in Food Science. 2010.
- [8] Dogan A., Siyakus G., Severcan F., FTIR spectroscopic characterization of irradiated hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Food Chem.* 100, 2007, 1106-1114.
- [9] Herrero A.M., Carmona P., Ordonez J.A., Hoz L., Cambero M.I., Raman spectroscopic study of electron-beam irradiated cold-smoked salmon. *Food Res. Int.* 42, 2009, 216-220.
- [10] Ciesla K., Salmieri S., Lacroix M., Irradiation Influence on the Structure and Properties of Calcium Caseinate Whey Protein Isolate Based Films. Part 2. Influence of Polysaccharide Addition and Radiation Treatment on the Structure and Functional Properties of the Films. *J. Agric. Food Chem.* 54, 2006, 8899-8908.
- [11] Takahashi H., French S.W., Wong P.T.T., Alterations in Hepatic Lipids and Proteins by Chronic Ethanol Intake: A High-Pressure Fourier Transform Infrared Spectroscopic Study on Alcoholic Liver Disease in the Rat. *Alcoholism, Clin. Exp. Res.* 15, 1991, 219-223.
- [12] Ci Y.X., Gao T.Y., Feng J., Guo Z.Q., Fourier Transform Infrared Spectroscopic Characterization of Human Breast Tissue: Implications for Breast Cancer Diagnosis, *Appl. Spectrosc.* 53, 1999, 312-315.
- [13] Dogan A., Siyakus G., Severcan F., FTIR spectroscopic characterization of irradiated hazelnut (*Corylus avellana* L.), *Food Chem.* 100, 2007, 1106-1114.
- [14] Ciesla K., Salmieri S., Lacroix M., Tien C.L., Gamma irradiation influence on physical properties of milk proteins, *Radiat. Phys. Chem.* 71, 2004, 95-99.
- [15] Lee S., Lee S., Song K.B., Effect of gamma-irradiation on the physicochemical properties of porcine and bovine blood plasma proteins, *Food Chem.* 82, 2003, 521-526.
- [16] Torreggiani A., Tamba M., Manco I., Faraone-Mennella M.R., Ferreri C., Chatgialiloglu C., Radiation damage of lysozyme in a biomimetic model: some insights by Raman spectroscopy, *J. Mol. Struct.* 74, 2005, 767-773.
- [17] Sailer K., Viaggi S., Nusse M., Kinetics of radiation and cytochrome c-induced modifications in liposomes analysed by FT-Raman spectroscopy, *Biochim. Biophys. Acta* 329, 1997, 259-268.
- [18] Bors W., Michel C., Schikora S., Interaction of flavonoids with ascorbate and determination of their univalent redox potentials: A pulse radiolysis study. *Free Radical Biol. Med.* 19, 1995, 45-52.
- [19] Forni L.G., Packer J.E., Slater T.F., Willson R.L., Reaction of the trichloromethyl and halothane-derived peroxy radicals with unsaturated fatty acids: A pulse radiolysis study. *Chem.-Biol. Interac.* 45, 1983, 171-177.
- [20] Garrison W.M., Reaction mechanisms in the radiolysis of peptides, polypeptides, and proteins. *Chem. Rev.* 87, 1987, 381-398.