

Stand der Entwicklung der Elektronen-Spin-Resonanz-Messung zum Nachweis bestrahlter Lebensmittel

N. Helle, B. Linke, M. Mager, G. Schreiber und K.W. Bögl

Institut für Sozialmedizin und Epidemiologie des Bundesgesundheitsamtes
Fachgebiet Lebensmittelbestrahlung, Berlin

Evaluation of the electron spin resonance technique for the detection of irradiated foodstuffs

Zusammenfassung: Die Elektronen-Spin-Resonanz-Spektroskopie kann zum Nachweis der Bestrahlung diverser Lebensmittelgruppen eingesetzt werden. In diesem Bericht werden die Ergebnisse des Bundesgesundheitsamtes bei der Entwicklung von ESR-Meßverfahren zur Identifizierung von strahlenbehandeltem Fleisch, Fisch und Frischobst sowie bestrahlten Trockenfrüchten, Gewürzen und Nüssen zusammengestellt.

Bei Fleisch und Fisch sind die ESR-Spektren der enthaltenen Knochen untersucht worden. Die Ergebnisse von zehn verschiedenen Tierarten haben zur Entwicklung einer amtlichen Routinemethode nach § 35 LMBG für knochenhaltiges Fleisch geführt. Nach Durchführung eines zur Zeit laufenden Ringversuches unter Beteiligung der Lebensmittelkontrollämter wird eine solche Methode auch für Fisch erstellt werden können.

Bestrahlte Trockenfrüchte können in der Regel leicht erkannt werden, da unbestrahlte Proben keinerlei ESR-Spektrum geben, während bestrahlte Proben ein partiell aufgelöstes Spektrum zeigen, das durch Zuckerradikale hervorgerufen wird. Interessanterweise ist die Struktur der Spektren unterschiedlich. Bei den untersuchten Fruchtarten wurden drei verschiedene Spektrentypen gefunden.

Bei Nußschalen ist der eindeutige Nachweis einer γ -Bestrahlung durch das Auftreten zweier zusätzlicher Linien im ESR-Spektrum gegeben. Auch für diese Lebensmittelgruppe wird nach Abschluß eines z.Z. laufenden Ringversuches eine Routinemethode formuliert werden.

Die wahrscheinlich durch die Bildung von Cellulose-Radikalen hervorgerufenen Signale in den ESR-Spektren bestrahlter Nußschalen können bei geeigneter Einstellung des Meßgerätes auch bei frischem Obst und einigen Gewürzen beobachtet und zum Nachweis herangezogen werden. Die Mehrzahl der untersuchten bestrahlten Gewürze und Kräuter zeigte diese Linien jedoch nicht, so daß in diesen Fällen mit Hilfe der ESR kein Nachweis der Bestrahlung erfolgen konnte.

Abkürzungen:

ESR:	Elektronen-Spin-Resonanz
GC/MS:	Gaschromatographie/Massenspektrometrie
LM:	Lebensmittel
LMBG:	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz
BCR:	Community Bureau of Reference der EG
mT:	Millitesla
kGy:	Kilogray
GHz:	Gigahertz

Summary: Electron spin resonance spectroscopy can be used for the detection of irradiation of various groups of foodstuffs. The results of ESR-measurements on irradiated meat and fish and fresh fruit, as well as dried fruit, spices and nuts as performed by the food irradiation laboratory of the German Federal Health Office are summarized in this report.

For the detection of irradiated meat and fish, we examined the bones. Using the results from 10 different animal bones, we were able to develop an official method according to the German law § 35 LMBG. A similar routine method for fish will be established in 1992 (at the moment, an intercomparison with German food control laboratories is in progress).

Irradiated dried fruit can be identified easily, because unirradiated samples give no ESR-spectra, while irradiated fruit show a partially resolved spectrum, which is caused by radiation induced sugar radicals. Interestingly, the structure of the resulting spectra is not identical for all irradiated species of fruit. We found three different types of ESR-spectra for irradiated dried fruit.

Irradiated nutshells show an ESR-spectrum which reveals two additional lines (from cellulose-radicals) beside the main signal, while unirradiated samples show only the main signal. An official method for identifying irradiated nuts will be proposed in 1992.

Irradiation specific ESR-signals of the cellulose radical were not only found for nutshells but also for fresh fruit and some spices, while most of the irradiated spices and herbs could not be identified by ESR-measurements.

Schlüsselwörter: ESR; Lebensmittelbestrahlung; Knochen; Früchte; Nüsse; Gewürze

Key words: ESR; food irradiation; bones; fruits; nuts; spices

Einleitung

Die lebensmittelrechtlichen Bestimmungen in den Mitgliedsländern der europäischen Gemeinschaft sehen zur Zeit noch sehr unterschiedliche Regelungen bezüglich des Einsatzes ionisierender Strahlung zur Verbesserung der Hygiene oder zur Haltbarmachung von Lebensmitteln vor. So ist in Frankreich, Belgien und den Niederlanden die γ -Bestrahlung einer breiten Produktpalette zulässig und kommerzielle Anlagen führen dieses Behandlungsverfahren bereits in einem Umfang von mehreren zehntausend Tonnen pro Jahr durch. Auf der anderen Seite ist in der Bundesrepublik Deutschland jegliche Vermarktung strahlenbehandelter Lebensmittel untersagt. Während noch vor zehn Jahren unter den Experten die Meinung vorherrschte, daß ein Nachweis der Behandlung mit ionisierenden Strahlen nicht möglich sei, da keine spezifischen Veränderungen der LM stattfinden würden, ist seit etwa 5 Jahren durch den Einsatz der Lumineszenz-Techniken (Chemilumineszenz und Thermolumineszenz) der Nachweis der Bestrahlung zumindest bei einem Teil der Gewürze und Trockengemüse zweifelsfrei möglich und es konnte eine amtliche Kontrollmethode nach § 35 LMBG (Lebensmittel und Bedarfsgegenstände Gesetz) erstellt werden, die auf den Lumineszenztechniken basiert. In den letzten Jahren wurden weitere Methoden zum Nachweis bestrahlter LM erarbeitet und getestet, die zum Teil ebenfalls gute Ergebnisse erzielen konnten (z.B. GC/MS an Fettfraktionen, Viskosimetrie). Diese Nachweisverfahren sind allerdings genauso wie die Lumineszenztechniken nur auf eine beschränkte Palette von Lebensmitteln anwendbar.

Auf der Suche nach einem Meßverfahren, das für eine möglichst große Zahl verschiedener Lebensmittelgruppen einsetzbar ist, führt das Fachgebiet für Lebensmittelbestrahlung seit Februar dieses Jahres Elektronenspinresonanz-(ESR) Spektroskopie-Messungen durch. Zu diesem Zweck wird ein BRUKER ESP 300 E X-Band-Spektrometer eingesetzt.

Grundlagen

Die ESR-Spektroskopie ist eine vom Prinzip her der bekannteren Kernresonanz-(NMR)-Spektroskopie nahe verwandte Methode. In einem starken externen Magnetfeld (ca. 340.0 m Tesla) wird auf eine Probe, die sich in einem Hohlraumresonator befindet, eine definierte Mikrowellenfrequenz (bei üblichen Spektrometern ca. 9.5 GHz) eingestrahlt. Befinden sich in der Probe paramagnetische Verbindungen, d.h. Moleküle oder Ionen mit einem oder mehreren ungepaarten Elektronen, so kommt es beim „Durchfahren“ des Magnetfeldes an einer ganz bestimmten Stelle zur Erfüllung der Resonanzbedingung

$$\Delta E_{\text{Spinnversion}} = h \nu_{\text{ESR}}$$

d.h. zum Umlappen der im Magnetfeld entarteten Elektronenspins. Dieser Prozess wird als eine Absorption der Mikrowellenstrahlung registriert. Die ESR-Spektroskopie kann also radikalische Spezies nachweisen. Darüber hinaus erhält man z.B. durch die Wechselwirkung der ungepaarten Elektronen mit paramagnetischen Kernen (des Moleküls oder auch der Umgebung) kompliziert aufgebaute Spektren, die Informationen über die Struktur des Radikals geben können.

Die in Lebensmitteln vorhandenen chemischen Bausteine (Proteine, Fette, Kohlehydrate) werden durch die Einwirkung von γ -Strahlung angegriffen und chemisch modifiziert. Dabei verlaufen die Reaktionen über die primäre Bildung von Radikalen, die in der Regel sehr kurzlebig sind und in Sekundenbruchteilen zu Folgeprodukten umgesetzt werden. Solche Folgeprodukte sind z.B. die aus Fetten entstehenden Kohlenwasserstoffe, die mittels GC/MS gaschromatographisch nachgewiesen werden können. Sind die primär gebildeten Radikale jedoch langlebig genug, kann ihre ESR-spektroskopische Detektion zur Identifizierung bestrahlter Lebensmittel dienen. Prinzipiell beschränkt sich der Einsatz der Elektronenspinresonanz-Spektroskopie damit auf Lebensmittel, die fest und trocken sind oder zumindest Bereiche mit niedrigem Wassergehalt aufweisen, so daß den primär gebildeten Radikalen kaum Reaktionspartner zur Verfügung stehen und ein Nachweis noch nach Wochen, Monaten oder gar Jahren möglich ist.

Trockene, feste Bereiche sind in vielen Lebensmitteln vorhanden. Im folgenden berichten wir über die Anwendung der ESR-Methode bei knochenhaltigem Fleisch, Fisch, Trockenfrüchten, Nüssen, frischem Obst und Gewürzen.

Experimenteller Teil

γ -Bestrahlung

Die Strahlenbehandlung der Proben erfolgte am Hahn-Meitner-Institut Berlin (^{60}Co -Quelle mit einer Dosisrate von ca. 15 Gy/min). Bestrahlt wurden generell die gesamten Lebensmittel in den handelsüblichen Verpackungen. Fisch und Fleisch wurden in tiefgefrorenem Zustand, die übrigen LM bei Raumtemperatur bestrahlt und gelagert.

Probenvorbereitung

Für die ESR-Messungen werden Proben von ca. 100 mg der zu untersuchenden Lebensmittel bzw. der verwendeten Bestandteile verwendet. Das Knochen- bzw. Grätenmaterial wird nach Entfernung des Fleisches und Zerkleinerung für ca. zwei Stunden bei ca. 60 °C in einem Vakuumtrockenschrank getrocknet. Diese Behandlung bewirkt keine signifikante Beeinflussung der ESR-Signalintensitäten. Bei Nüssen ist keine weitere Probenvorbereitung notwendig. Es wer-

den Stücke der Schalen bzw. der Kerne verwendet. Bei Trockenfrüchten kann es je nach Restwassergehalt ebenfalls notwendig sein, die Proben vor der Messung zu trocknen, da anderenfalls die Mikrowellendämpfung der Probe zu groß ist. Aus dem frischen Obst (z.B. Erdbeeren) wurden die Kernchen bzw. Samen entnommen, auf einem weichen Papiertuch getrocknet und zur Messung gebracht. Gewürze wurden in der handelüblichen Pulverform untersucht.

Meßbedingungen

KNOCHEN, GRÄTEN:

Magnetfeld: 348,5 mT Zentrum, 20 mT Sweepbreite

Mikrowelle: 9.79 GHz, 10.0 mW Leistung

Verstärker: 100 kHz Modulation; 0.30 mT Mod.amplitude; 5.0×10^4 Verstärkung 40 s pro Durchlauf, 20 ms Zeitkonstante, 5 Durchläufe

NUSSCHALEN, KERNE (OBST), GEWÜRZE:

Magnetfeld: 348,5 mT Zentrum, 20 mT Sweepbreite

Mikrowelle: 9.79 GHz, 0.1 mW Leistung

Verstärker: 100 kHz Modulation; 0.80 mT Mod.amplitude; 1.0×10^5 Gain 40 s pro Durchlauf, 20 ms Zeitkonstante, 5 Durchläufe

NUSSKERNE, TROCKENFRÜCHTE:

Magnetfeld: 348,5 mT Zentrum, 20 mT Sweepbreite

Mikrowelle: 9.79 GHz, 2.0 mW Leistung

Verstärker: 100 kHz Modulation; 0.20 mT Mod.amplitude; 5.0×10^4 Gain 40 s pro Durchlauf, 20 ms Zeitkonstante, 5 Durchläufe

ALLGEMEIN:

Temperatur: Raumtemperatur

Meßgefäß: Suprasil-Quarzküvetten, Durchm. (außen) 6.0mm, Länge 150mm

Ergebnisse

Fleisch

Ionisierende Strahlung wird in einer Reihe europäischer Staaten in erheblichem Umfang zur Behandlung von Fleisch und Fisch benutzt, um die Haltbarkeit des Produktes zu erhöhen und Hygiene-Probleme zu bekämpfen.

Die ersten erfolgversprechenden Ergebnisse bei der Erkennung bestrahlten Fleisches durch die ESR-spektroskopische Untersuchung des darin enthaltenen Knochenmaterials wurden bereits Mitte der 80er Jahre (1) veröffentlicht. Seitdem ist eine Reihe von Untersuchungen an dieser Produktgruppe durchgeführt worden (2, 3), die sich z.B. mit dem Einfluß der Lagerung oder der Erhitzung des Materials nach der Bestrahlung (4, 5) beschäftigten. Erste Untersuchungen des Bundesgesundheitsamtes ergaben bei Hähnchen- und Rinderknochen gute Ergebnisse (6).

Abbildung 1 zeigt die typischen ESR-Spektren unbestrahlter und bestrahlter Knochen am Beispiel des Schenkelknochens einer Ente. Das Spektrum des unbestrahlten Knochens zeigt entweder gar keinen oder wie im gezeigten Beispiel einen breiten, Intensitätsschwachen Peak. Die Lage dieses Signals im ESR-Spektrum wird durch den g-Faktor (beinhaltet die Werte für die Magnetfeldstärke und die Mikrowellenfrequenz) beschrieben und ist ein charakteristischer Wert. Bestrahlte Proben besitzen neben diesem unspezifischen ein bestrahlungsspezifisches, unsymmetrisches und aus zwei Komponenten (beschrieben durch die

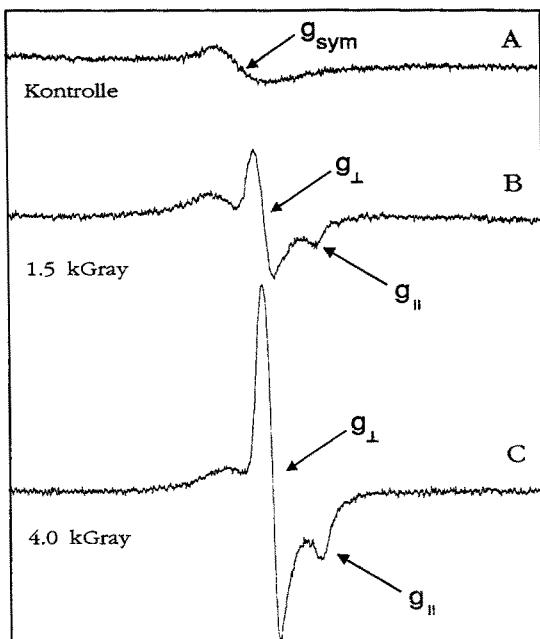


Abb. 1. ESR-Spektren der Schenkelknochen unbestrahlter und mit unterschiedlichen Dosen bestrahlter Enten.

g -Faktoren g_{\parallel} und g_{\perp}) bestehendes Signal, welches, wie die Spektren B (1.5kGy) und C (4.0kGy) zeigen, mit zunehmender Dosis an Intensität zunimmt. Die Bildung des bestrahlungsspezifischen Signals wird auf die Erzeugung von Radikalen in der Hydroxylapatitmatrix des Knochens zurückgeführt, wobei die Radikale durch die Matrix isoliert sind und deshalb eine extrem lange Lebensdauer besitzen.

Im Fachgebiet Lebensmittelbestrahlung wurde auf der Grundlage eigener und der Literaturergebnisse eine Routinemethode entwickelt, für die bereits die Aufnahme in die amtliche Sammlung der Verfahren nach § 35 LMBG beantragt werden konnte. Zur Erarbeitung dieser Methode wurden vor allem Messungen an verschiedenen Tierarten und mit verschiedenen, praxisrelevanten Dosen durchgeführt. In Abbildung 2 sind diese Meßergebnisse in einer Grafik dargestellt. Bei allen untersuchten Tierarten konnte die niedrigste gewählte Bestrahlungsdosis (0.5 kGy) noch eindeutig nachgewiesen werden. Interessant ist die unterschiedliche Intensität des ESR-Signals, die auf die verschiedene Kalzifizierung der Knochen zurückzuführen ist. Die Grafik demonstriert auch den in allen Fällen nahezu linear verlaufenden Anstieg der Signalamplitude, die bei Kenntnis der spezifischen Knocheneigenschaften (Kalzifizierungsgrad) auch eine Abschätzung der verwendeten Strahlendosis ermöglicht. Langzeitversuche an Hähnchenschenkeln und Lammkeulen haben gezeigt, daß die Intensität des bestrahlungsspezifischen Signals auch nach mehreren Monaten Lagerung nicht abnimmt.

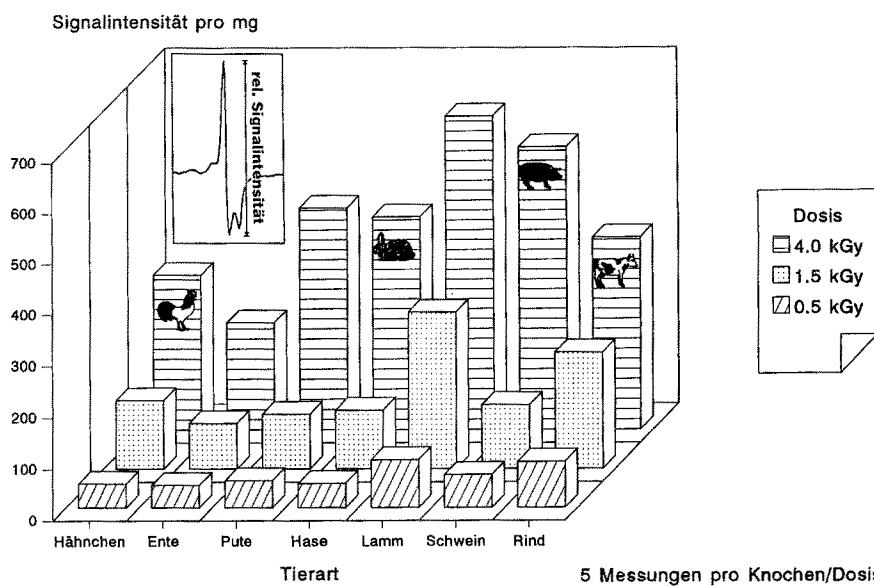


Abb. 2. Vergleich der relativen ESR-Signalintensitäten der Knochen verschiedener γ -bestrahlter Tierarten.

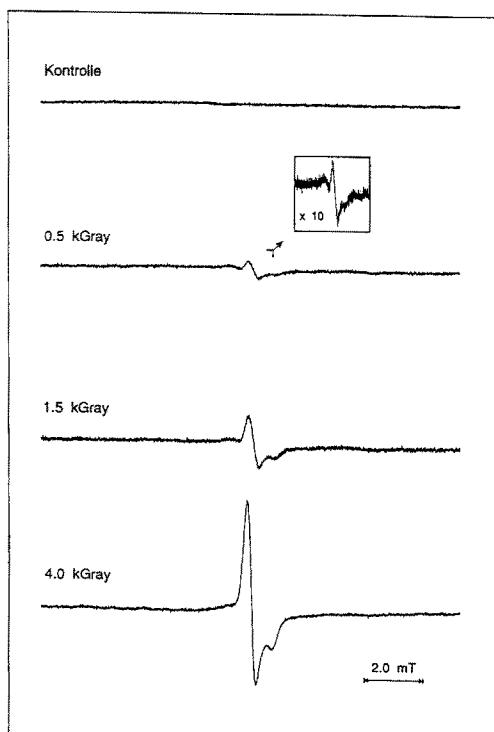


Abb. 3. ESR-Spektren der Gräten unbestrahlten und mit verschiedenen Dosen γ -bestrahlten Fisches (Kabeljau, Rückgrat).

Fisch

Der Nachweis einer Behandlung von Fisch mit ionisierender Strahlung basiert wie bei knochenhaltigem Fleisch auf der Bildung von Radikalen in der Hydroxyapatitmatrix des Knochenmaterials (Gräten), so daß prinzipiell ESR-Spektren erhalten werden, die den oben beschriebenen Spektren für Knochen entsprechen (7, 8). Abbildung 3 zeigt als Beispiel die ESR-Spektren unbestrahlten und mit verschiedenen Dosen bestrahlten Kabeljaus (Rückengräte). In einem 1990 durchgeführten internationalen Ringversuch (9) des BCR (Community Bureau of References der EG), an dem auch das Fachgebiet Lebensmittelbestrahlung des BGA teilgenommen hat, ergaben sich jedoch im Vergleich zu den Messungen an Knochen erhebliche Probleme bei der Identifizierung bestrahlter Proben. Unsere Untersuchungen an 10 Fischarten haben gezeigt, daß zwischen den einzelnen Fischarten bei gleicher Strahlendosis sehr große Unterschiede in der Intensität des spezifischen Signals beobachtet werden, so daß in einigen Fällen bei niedrigen Dosen (0.5 kGy) eine Identifizierung bestrahlter Proben erschwert wird. In Tabelle 1 sind die im BGA untersuchten Fischarten aufgezählt. Der Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse liegt sicherlich in den im Vergleich zu den untersuchten Knochen erheblich größeren Differenzen in der Beschaffenheit der Gräten. Bei geeigneter Einstellung der ESR-Meßparameter konnten dennoch alle bestrahlten Gräten (Dosen: 0.5, 1.5 und 4.0 kGy) identifiziert werden. Eine Einführung der ESR-Messung an Fischgräten als Routinemethode des Nachweises der Bestrahlung von Fisch nach § 35 LMBG wird nach Abschluß einer zur Zeit laufenden Lagerzeitstudie sowie eines Ringversuches unter Teilnahme der Lebensmittelkontrollämter 1992 erfolgen können.

Tab. 1. 1991 im BGA untersuchte Fischarten (Gräten) und die relative Intensität der ESR-Signale bestrahlter Proben

Fischart:	Hai	Forelle	Lachs	Heilbutt	Hering	Sardine	Plötze	Aal	Makrele	Dorsch
rel. Int.:	(+)	(0)	(+)	(0)	(-)	(-)	(-)	(0)	(+)	(+)

(-): geringe, (0): mittlere, (+): hohe relative Intensität des ESR-Signals

Trockenfrüchte

Bei Trockenfrüchten wird die Anwendung der γ -Strahlung vor allem zur Desinfektion erwogen, da bei der in den tropischen Erzeugerländern stattfindenden Lufttrocknung der Früchte die Gefahr des Befalls mit Schädlingen besteht. So ist z.B. in Frankreich die Bestrahlung von Trockenfrüchten mit einer Dosis von 1.0 kGy seit 1988 erlaubt.

Trockenfrüchte enthalten neben einem Restwassergehalt von 15 bis 25 Gew. % große Mengen an Mono- und Disacchariden (insges. ca. 65–75 Gew. %), insbesondere Saccharose, Glucose und Fructose.

ESR-Messungen an unbestrahlten Trockenfrüchten zeigen allgemein eine Grundlinie, d.h. selbst bei großer Verstärkung des Signals kann keine paramagnetische Verbindung detektiert werden (siehe Abbildung 4, links oben). Bestrahlte Proben ergeben dagegen bereits bei relativ geringen Dosen von 0.5 bis 1.0 kGy charakteristische ESR-Spektren (9, 10, 11). Aufgrund unserer bisherigen

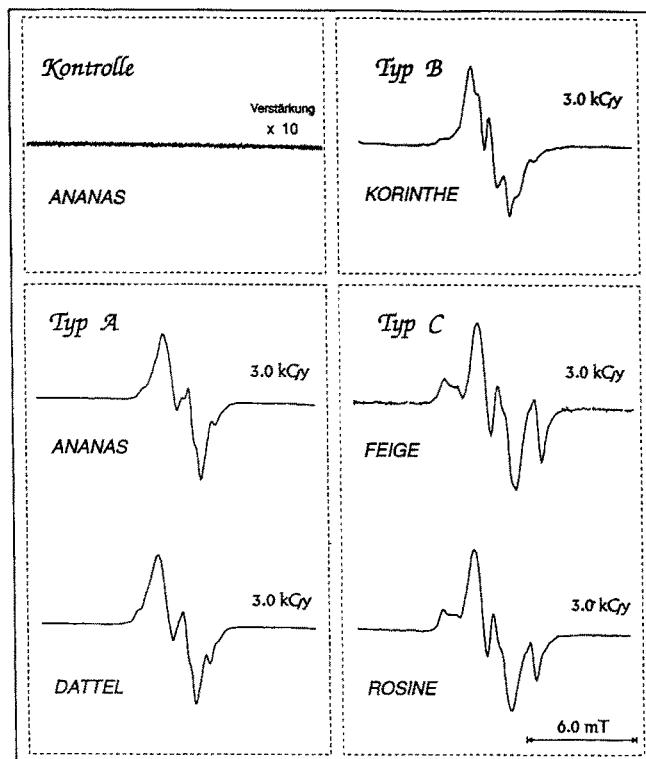


Abb. 4. ESR-Spektren γ -bestrahlter Trockenfrüchte.

Untersuchungen an acht Trockenfruchtarten (*Aprikosen, Ananas, Datteln, Feigen, Korinthen, Papayas, Rosinen und Sultaninen*) können bei den ESR-Spektren bestrahlter Trockenfrüchte drei Typen unterschieden werden, die zusammen mit dem Spektrum einer unbestrahlten Probe in Abbildung 4 dargestellt sind. Die unterschiedlichen Spekrentypen sind mit großer Wahrscheinlichkeit auf Unterschiede in der Saccharidzusammensetzung und damit auf die Struktur der gebildeten Zuckerradikale zurückzuführen. So zeigen Trockenfrüchte mit hohem Saccharoseanteil, wie z.B. Datteln oder getrocknete Aprikosen ein Typ A-Spektrum, welches dem Spektrum der bestrahlten reinen Saccharose stark ähnelt.

Einer Aufnahme der ESR-Messung an Trockenfrüchten zum Nachweis einer Bestrahlung in die amtliche Sammlung des § 35 LMBG steht unseres Erachtens nichts mehr im Wege, da der signifikante Unterschied zwischen unbestrahlten und bestrahlten Proben auch nach längeren Lagerzeiten (in einem Fall bis zu drei Jahren!) noch eine einwandfreie Identifizierung ermöglicht. Weitere Untersuchungen sind allerdings noch bei der Aufklärung der Struktur der ESR-Spektren sowie bei der quantitativen Bestimmung der verwendeten Dosen notwendig.

Nüsse

Nüsse gehören zu den Lebensmitteln, bei denen lange Lagerzeiten bis zum Verzehr üblich sind. Während der Lagerung besteht vor allem eine Gefahr des Befalls mit Schimmelpilzen, deren Stoffwechselprodukte für den menschlichen Or-

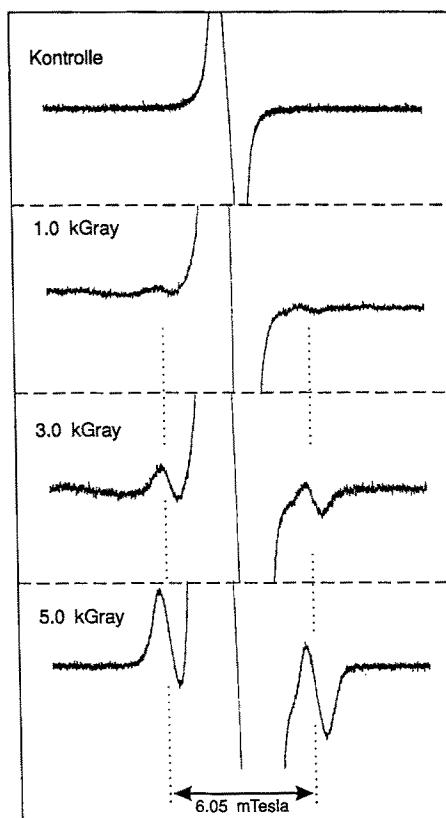


Abb. 5. ESR-Spektren unbestrahlter und mit verschiedenen Dosen γ -bestrahlter Nüsse (Paranüß, Schale).

ganismus giftig sein können (Aflatoxine). Die Anwendung ionisierender Strahlen stellt eine technologische Möglichkeit dar, die Bildung von Schimmel zu verhindern. Die langen Lagerzeiten bei Nüssen bedingen, daß eine mögliche Nachweismethode noch nach mehreren Monaten zuverlässige Ergebnisse liefern muß.

Die ESR-Messungen an Nüssen ergaben bei der Untersuchung der Schalen einen signifikanten Unterschied zwischen bestrahlten und unbestrahlten Proben. Im ESR-Spektrum der Schalen unbehandelter Nüsse wird lediglich ein unaufgelöstes Signal gefunden, dessen Intensität stark von der Nußart abhängt. Bei bestrahlten Proben (siehe Abbildung 5 am Beispiel von Paranüssen) beobachtet man dieses Signal ebenfalls, wobei seine Intensität gegenüber unbestrahlten Proben der gleichen Art deutlich an Intensität gewinnt. Wegen den großen Schwankungen zwischen den verschiedenen Nüssen kann diese Intensitätszunahme jedoch nur als ein Hinweis auf die Strahlenbehandlung dienen. Eindeutig kann eine bestrahlte Probe an zwei zusätzlich auftauchenden Linien geringerer Intensität zu beiden Seiten des Hauptsignals erkannt werden. Der Abstand der beiden Signale (siehe Abbildung 5) voneinander ist eine charakteristische Größe (Hyperfeinkopplungskonstante) und beträgt ca. 6.05 mTesla. Dieses Linienpaar wird auf die

Bildung eines Cellulose-Radikals zurückgeführt (12). Insgesamt besitzt das Spektrum des Celluloseradikals drei Linien (Triplet). Die mittlere Linie kann jedoch in den Spektren der bestrahlten Nußschalen nicht beobachtet werden, da sie unter dem unspezifischen zentralen Signal eines unbekannten Radikals verborgen ist.

Bei geeigneter Einstellung des ESR-Gerätes (niedrige Mikrowellenleistung, hohe Modulationsamplitude) konnten die bestrahlungsspezifischen Signale in den Spektren aller acht von uns untersuchten Nußarten (*Erdnüsse, Haselnüsse, Kokosnüsse, Macadamianüsse, Mandeln, Paranüsse, Pecannüsse, Walnüsse*) bis hinab zu einer Dosis von 1.0 kGy beobachtet werden, wobei durch mehrwöchige Lagerung keine signifikanten Intensitätsverluste des bestrahlungsspezifischen Linienpaars hervorgerufen und die Identifizierung strahlenbehandelter Proben somit nicht beeinträchtigt.

Untersuchungen an Nußkernen wurden ebenfalls durchgeführt. Während unbestrahlte Proben nur ein sehr intensitätsschwaches, unstrukturiertes Signal zeigen, beobachtet man kurz nach der Bestrahlung einer Probe ein strukturiertes, breites (ca. 6.0 mT Gesamtbreite) ESR-Spektrum. Allerdings zeigt sich bereits nach wenigen Tagen eine Veränderung des Spektrums zu einem einzelnen Signal (siehe Abbildung 6). Obwohl auch dieses durch seine unsymmetrische Form und deutlich höhere Intensität vom Spektrum einer unbestrahlten Nuß unterschieden werden kann, müssen bei Kernen noch weitere (insbesondere Langzeit-) Untersuchungen durchgeführt werden, bevor ein Urteil über die Eignung der ESR-Messung an Nußkernen für den Routineeinsatz getroffen werden kann.

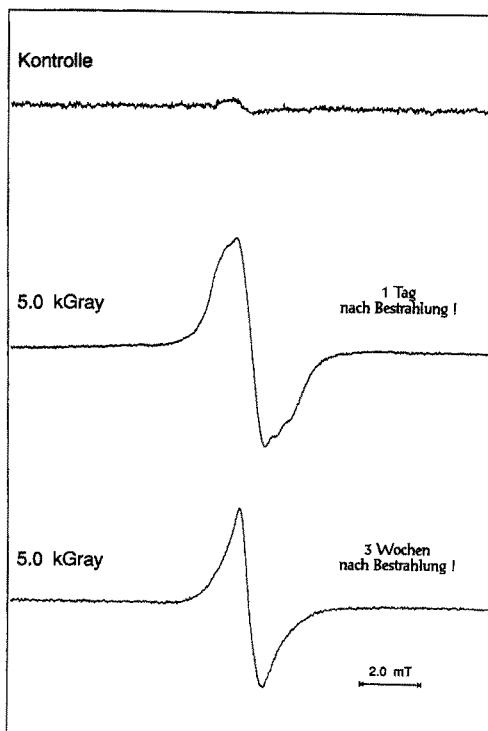


Abb. 6. ESR-Spektren unbestrahlter und γ -bestrahlter Erdnüsse (Kerne).

Frischobst

Eine bereits intensiv getestete Anwendung der Lebensmittelbestrahlung ist die Verzögerung der Reifung und Verlängerung der Haltbarkeit von empfindlichem Obst, wie z.B. Mangos, Papayas oder Erdbeeren. Obwohl bereits in der Literatur beschrieben wurde (13), daß bei der ESR-Untersuchung von Kernen oder Samen bei bestrahlten Proben ein Linienpaar auftritt, wie es auch bei bestrahlten Nußschalen gefunden wird, konnten diese Versuche von einer Reihe anderer ESR-Laboratorien nicht reproduziert werden. Erste Untersuchungen im BGA verließen ebenfalls unbefriedigend. Kürzlich gelang es jedoch durch Änderung der ESR-Meßparameter (siehe experiment. Teil) dieses Linienpaar zunächst bei der Untersuchung von Erdbeersamen und Pflaumenkernen zu detektieren. Abbildung 7 zeigt die typischen ESR-Spektren der Samen unbestrahlter (A) und bestrahlter (B) Erdbeeren (Messung 2 Tage nach der Bestrahlung). Neben dem unspezifischen zentralen Signal wird ein breites Sextett beobachtet, das von enthaltenen Manganionen verursacht wird. Nur in bestrahlten Proben tritt ähnlich wie bei Nußschalen ein zusätzliches Dublett (Pfeile) auf. Im unteren Spektrum der Abbildung 7 (C) ist der zentrale Bereich noch einmal herausgestellt. Weitere Messungen z.B. an Mangos, Papayas und Kiwis sowie Lagerzeitexperimente müssen zeigen, ob dieses Linienpaar allgemein bei bestrahlten Proben detektierbar sein wird und bis zu welchen Mindestdosen der Nachweis möglich ist.

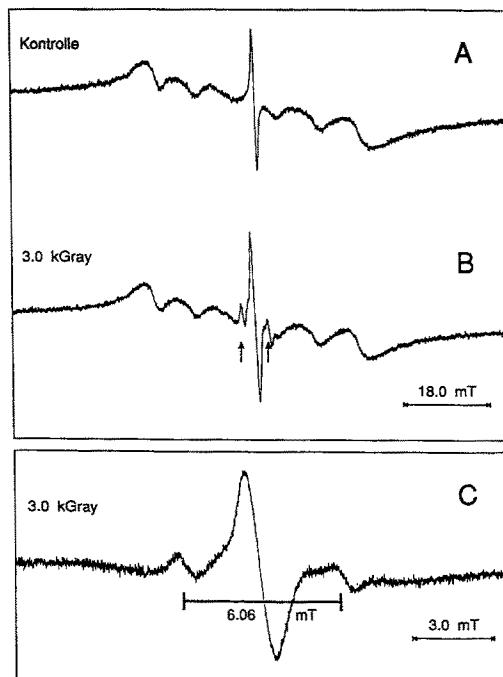


Abb. 7. ESR-Spektren der Samen unbestrahlter und γ -bestrahlter Erdbeeren.

Gewürze

Für Gewürze ist bereits vor einigen Jahren die Thermolumineszenzmessung als Routineverfahren eingeführt worden. Obwohl durch die Abtrennung der Minerale, die bei diesem Verfahren den größten Teil des Effektes der erhöhten Lumineszenz bestrahlter Proben verursachen, eine deutliche Verbesserung der Unterscheidung zwischen bestrahlten und unbestrahlten Proben erreicht wurde (14), kann dennoch nicht bei allen Gewürzsorten eine eindeutige Aussage getroffen werden. Als Alternativmethode oder zur Ergänzung wird z.B. die Messung der Viskosität von Gewürzsuspensionen (15) herangezogen. Untersuchungen mit Hilfe der ESR-Spektroskopie verliefern nicht zufriedenstellend (16), da die Intensität des beobachteten Signals zwar durch die Einwirkung der ionisierenden Strahlung auf das Gewürz erhöht wird, bereits nach wenigen Wochen Lagerung jedoch wieder nahezu auf die Ausgangsintensität des unbestrahlten Signals zurückgeht. Unsere Untersuchungen ergaben jedoch zumindest bei einigen Gewürzen (Paprika, Piment) eindeutige Ergebnisse. Wiederum können bei entsprechender Wahl der Meßparameter (siehe experiment. Teil) ähnlich wie bei der Messung an Obstkernen oder Nüssen ausschließlich bei bestrahlten Proben zwei zusätzliche Linien zu beiden Seiten eines unspezifischen zentralen Signals detektiert werden. In Abbildung 8 sind die ESR-Spektren von unbestrahltem und mit 10.0 kGy bestrahltem Paprika gegenübergestellt. Allerdings haben die Messungen gezeigt, daß die Intensität der Seitenlinien bei Gewürzen geringer ist als z.B. bei Nußschalen und der Nachweis der Strahlenbehandlung besonders bei niedrigeren Dosen schwerer zu führen ist. Bei einigen Gewürzen wurden nur sehr schwache Seitenlinien beobachtet (Curry, Pfeffer), während die ESR-Spektren der untersuchten Kräuter (Thymian, Majoran) keine Seitenlinien enthielten, so daß uns ein Nachweis mittels ESR bei diesen nicht möglich war.

Zusammenfassung und Ausblick

Der in diesem Bericht dargestellte Überblick über die im Bundesgesundheitsamt durchgeführten ESR-Arbeiten zeigt die Leistungsfähigkeit der ESR-Spektroskopie auf dem Gebiet des Nachweises bestrahlter Lebensmittel. Bei den Lebensmittelgruppen Fleisch (knochenhaltig), Fisch, Trockenobst und Nüsse (mit Schalen) ist ein Nachweis bestrahlter Proben nach unseren Ergebnissen auch bei niedrigen, unterhalb der technologisch notwendig liegenden Dosen möglich, so daß einem Einsatz der Elektronenspinresonanz-Technik in der Routinekontrolle unseres Erachtens nichts mehr im Wege steht.

Bei frischem Obst sind die bisherigen Ergebnisse erfolgversprechend. Sollten sie sich bei weiteren Obstsorten und niedrigen Dosen bestätigen, so wird auch bei dieser Lebensmittelgruppe ein Routineeinsatz der ESR in Kürze möglich sein.

Zur Untersuchung von Gewürzen eignet sich die ESR-Spektroskopie nach den bisherigen Ergebnissen nur beschränkt, da eine Reihe von Gewürzen und Kräutern keine oder nur sehr intensitätsschwache bestrahlungsspezifische Signale zeigen. In einigen Fällen (Paprika) sind jedoch auch bei dieser Lebensmittelgruppe gute Ergebnisse erzielt worden.

Neben den in diesem Bericht aufgeführten Meßergebnissen wurden im BGA einzelne Messungen z.B. an Garnelen, Getreide und Zwiebeln unternommen, wobei zum Teil erste vielversprechende Ergebnisse erhalten wurden. Hier werden in naher Zukunft weitere Untersuchungen folgen.

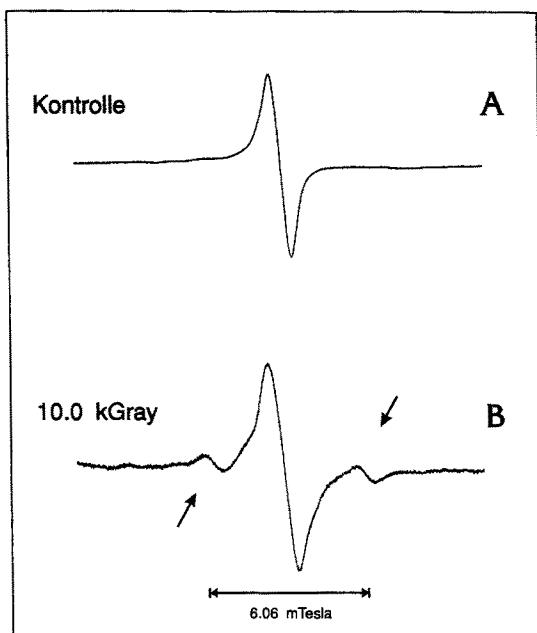


Abb. 8. ESR-Spektren γ -bestrahlter Gewürze (Paprika).

Die ESR-Spektroskopie stellt die zur Zeit vielseitigste Methode zum Nachweis bestrahlter Lebensmittel dar. Neben der breiten Anwendbarkeit weist sie die Vorteile geringer Vorbereitungsarbeiten und kurzer Meßzeit auf. Schließlich wird die Probe bei der ESR-Messung nicht zerstört und kann mehrfach untersucht werden. Der zur Zeit noch große Nachteil der ESR-Spektroskopie liegt in den hohen Anschaffungskosten und der Notwendigkeit von geschultem Meßpersonal. Im Herbst 1991 ist ein kommerziell erhältliches, preiswertes Routine-ESR-Spektrometer vorgestellt worden, wodurch das Hindernis des hohen Kaufpreises eines ESR-Gerätes auf dem Weg zur Routineanwendung ausgeräumt sein könnte. Das BGA wird dieses Gerät auf seine Tauglichkeit für den Nachweis bestrahlter Lebensmittel testen.

Literatur

1. Dodd NJF, Swallow AJ, Ley FJ (1985) Use of ESR to identify irradiated food. *Radiat Phys Chem* 26:451
2. Dodd NJF, Lea JS, Swallow AJ (1989) The ESR detection of irradiated food. *Appl Radiat Isot* vol 40, No. 10-12, pp 1211-1214
3. Desrosiers MF (1991) Electron spin resonance for monitoring radiation-processed meats containing bone. *Journal of Food Science*, vol 56, No. 4
4. Stevenson MH, Gray R (1989) Effect of irradiation dose, storage time and temperature on the ESR signal in irradiated chicken bone. *J Sci Food Agric* 48:269
5. Gray R, Stevenson MH (1989) The effect of post-irradiation cooking on the ESR signal in irradiated chicken drumsticks. *Int J of Food Sci and Technol* 24:447-450

6. Helle N, Wiesend B, Bögl KW, Schreiber GA (1991) ESR-spektroskopische Untersuchungen an Knochen und Gräten; Nachweis der Bestrahlung von Fleisch und Fisch. Bundesgesundheitsblatt 34:317
7. Raffi JJ, Evans JC, Agnel JP, Rowlands CC, Lesgards G (1989) ESR analysis of irradiated frogs legs and fishes. Appl Radiat Isot, vol 40, No. 10-12, pp 1215-1218
8. Goodman BA, McPhail DB, Duthie DML (1989) Electron spin resonance spectroscopy of some irradiated foodstuffs. J Sci Food Agric 47:101-111
9. Raffi JJ (1992) Electron spin resonance intercomparison studies on irradiated foodstuffs. Community Bureau of References (EG), BCR-Report EUR 13630 EN
10. Yang GC, Mossoba MM, Merin U, Rosenthal I (1987) An EPR study of free radicals generated by gamma-radiation of dried spices and spray-dried fruit powders. Journal of Food Quality 10:287-294
11. Helle N, Linke B, Schreiber GA (4/1992) Elektronen-Spin-Resonanz-Messungen an zuckerhaltigen Lebensmitteln; Nachweis der γ -Bestrahlung von Trockenfrüchten. Bundesgesundheitsblatt 35:179-183
12. Raffi JJ, Agnel JP (1989) Electron spin resonance identification of irradiated fruits. Radiat Phys Chem 34:891
13. Raffi JJ, Agnel JP, Buscarlet LA, Martin CC (1988) Electron spin resonance identification of irradiated strawberries. J Chem Soc Farad Trans 1 84:3359
14. Sanderson DCW, Slater C, Cairns KJ (1989) Thermoluminescence of foods: Origins and implications for detecting irradiation. Radiat Phys Chem 34:915
15. Nürnberg E, Heide L, Bögl KW (1990) Viskositätsmessung als Methodé zur Identifizierung von bestrahlten Lebensmitteln. Veröffentlichung des Inst. f. Sozialmed. u. Epidemiologie: SozEp-Heft 2
16. Shieh JJ, Wierbicki E (1985) Free radicals formation and decay in irradiated spices. Food Irradiation Processing, International Atomic Energy Agency, Wien

Ein eingegangen 16. März 1992
akzeptiert 20. Mai 1992

Für die Verfasser:

N. Helle, Inst. f. Sozialmedizin u. Epidemiologie des Bundesgesundheitsamtes, Fachgebiet Lebensmittelbestrahlung, General-Pape-Str. 62-66, 1000 Berlin 42