

TCVN 7410 : 2004

EN 1786 : 1996

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM – PHÁT HIỆN THỰC PHẨM CHIẾU XẠ
ĐỐI VỚI LOẠI THỰC PHẨM CÓ CHỨA XƯƠNG –
PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ ESR**

Foodstuffs – Detection of irradiated food containing bone – Method by ESR spectroscopy

HÀ NỘI – 2004

Lời nói đầu

TCVN 7410 : 2004 hoàn toàn tương đương với EN 1786 : 1996;

TCVN 7410 : 2004 do Tiểu ban kỹ thuật TCVN/TC/F5/SC1
Thực phẩm chiếu xạ biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường
Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành.

Thực phẩm – Phát hiện thực phẩm chiếu xạ đối với loại thực phẩm có chứa xương – Phương pháp quang phổ ESR

*Foodstuffs – Detection of irradiated food containing bone –
Method by ESR spectroscopy*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp phân tích phổ cộng hưởng spin điện tử (ESR) (còn được gọi là phổ cộng hưởng điện tử thuận từ (EPR) của xương) để phát hiện chiếu xạ đối với thịt và cá có chứa xương, đã được xử lý bằng bức xạ ion hoá [1] đến [11].

Các nghiên cứu liên phòng thí nghiệm đã thử nghiệm thành công trên xương bò, xương cá hồi và xương gà [12] đến [18]. Do tín hiệu ESR được tạo ra bởi bức xạ tập trung vào hydroxyapatit (xem 7.1), là thành phần chính của xương, khả năng áp dụng của phương pháp này có thể mở rộng cho tất cả các loại thịt và các loài cá có chứa xương. Điều này phù hợp với kinh nghiệm của phòng thử nghiệm (xem phụ lục B).

Giới hạn phát hiện phụ thuộc vào trạng thái khoáng hoá của xương, đối với các loài động vật có xương nhỏ hơn thì giới hạn phát hiện thường thấp hơn (xem điều 8).

2 Định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này áp dụng định nghĩa sau đây:

Phổ cộng hưởng spin điện tử (ESR) (ESR spectrum):

Các tín hiệu thu được bằng phương pháp mô tả trong tiêu chuẩn này. Chúng có thể do các hợp chất thuận từ được tạo thành bởi chiếu xạ hoặc do các hợp chất này có mặt từ lúc đầu.

3 Nguyên tắc

Phương pháp quang phổ ESR phát hiện các tâm thuận từ (ví dụ, các gốc tự do). Từ trường ngoài mạnh tạo chênh lệch giữa các mức năng lượng của spin điện tử $m_s = + 1/2$ và $m_s = - 1/2$, dẫn đến sự hấp thụ

cộng hưởng chùm tia sóng cực ngắn đã dùng trong quang phổ kế. Phổ ESR thường biểu hiện do sự hấp thụ ban đầu liên quan đến từ trường áp dụng.

Độ lớn của trường và giá trị tần số phụ thuộc vào sự phân bố thực tế (cỡ mẫu và vòng kẹp mẫu), trong khi tỷ số của chúng (tức là giá trị g) là đặc tính thực của tâm thuận từ và sự phối hợp vị trí của nó. Để nhận dạng các mẫu đã chiếu xạ, cần đo giá trị g của các tín hiệu ESR. Các thông tin thêm xem tài liệu [1] đến [12].

Việc xử lý bằng bức xạ sinh ra các gốc tự do có thể rất bền và có thể phát hiện được trong chất rắn và các thành phần khô của thực phẩm (ví dụ như xương). Cường độ của tín hiệu thu được tăng dần theo nồng độ của các hợp chất thuận từ và do đó tăng theo liều áp dụng.

4 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ phòng thử nghiệm thông thường và các loại sau đây:

4.1 Máy đo quang phổ ESR băng - X có sẵn trên thị trường, gồm có nam châm, cầu sóng ngắn, bảng điều khiển trường và kênh tín hiệu, có khoang hình trụ hoặc hình chữ nhật.

4.2 Thiết bị đo giá trị g , gồm có máy đếm tần số, máy dò từ trường [máy đo Gaoxơ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)] hoặc bất kỳ thiết bị đo giá trị g nào khác.

4.3 Ống ESR, đường kính trong khoảng 4,0 mm (ví dụ: các ống thạch anh Suprasil^{®1})

4.4 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 1 mg (tùy chọn).

4.5 Lò sấy chân không của phòng thử nghiệm hoặc tủ làm khô.

5 Phương án lấy mẫu

(Chưa qui định)

6 Cách tiến hành

6.1 Chuẩn bị mẫu

Loại bỏ hết phần thịt ra khỏi mẫu có chứa xương, ví dụ như dùng dao mổ để làm sạch phần xương. Nếu cần, tách xương và lấy tuỷ ra. Sau đó làm khô xương trong tủ sấy khoảng 18 giờ, hoặc sấy khoảng 3 giờ trong lò sấy chân không (4.5) để ở nhiệt độ 40 °C. Lấy mẫu xương đã sấy khô ra (khoảng 100 mg, có bề dày từ 3,0 mm đến 3,5 mm và dài từ 5,0 mm đến 10,0 mm) để phân tích. Đặt mẫu thử vào ống ESR chuẩn (4.3).

¹ Suprasil[®] là một ví dụ về sản phẩm phù hợp sẵn có. Thông tin đưa ra thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

CHÚ THÍCH: Mẫu thử có thể được đo ở dạng bột hoặc dạng xương mảnh. Các mẫu thử được bảo quản ở trạng thái đông lạnh không ảnh hưởng đến phát hiện việc xử lý bằng bức xạ.

6.2 Đo quang phổ ESR

6.2.1 Cài đặt máy đo quang phổ

Sử dụng hằng số thời gian và tốc độ quét thích hợp đối với tín hiệu ESR có chiều rộng pic khoảng 0,4 mT. Ví dụ: cài đặt thích hợp cho máy đo quang phổ ESR như sau:

Bức xạ sóng cực ngắn: 9,5 GHz ²⁾; nguồn cấp từ 5 mW đến 12,5 mW;

Từ trường: tâm trường 342 mT ²⁾; độ rộng quét từ 5 mT đến 20 mT;

Kênh tín hiệu: điều tần 50 kHz hoặc 100 kHz;

điều biên từ 0,2 mT đến 0,4 mT;

hằng số thời gian từ 50 ms đến 200 ms ³⁾; tốc độ quét ³⁾ 2,5 mT.min⁻¹ đến 10 mT.min⁻¹ hoặc tích tụ từ 3 phổ đến 5 phổ ở tốc độ quét cao hơn và hằng số thời gian ngắn hơn;

Hệ số khuếch đại: giữa khoảng $1,0 \times 10^5$ và $1,0 \times 10^6$;

Nhiệt độ: nhiệt độ phòng.

6.2.2 Phân tích mẫu

Phân tích mẫu thử đã chuẩn bị trong 6.1 trong ống ESR (4.3).

Mặc dù trong phần lớn các trường hợp không cần phải xác định giá trị g của các tín hiệu đơn của phổ ESR, nhưng nó có thể được dùng để nhận biết mẫu thử đã được chiếu xạ (7.2).

7 Đánh giá

7.1 Đánh giá phổ ESR

Các mẫu đã chiếu xạ được nhận biết bởi dạng bên ngoài của tín hiệu không đối xứng điển hình có giá trị g là 2,002 và 1,998 (xem 7.2). Tín hiệu này được tập trung vào các gốc tự do được giữ lại trong hydroapatit tạo thành do tác động của bức xạ ion hoá trên xương.

Tín hiệu đối xứng cường độ thấp có giá trị $g_{\text{symm}} = 2,005$ (xem hình A.1) đôi khi xuất hiện trong phổ ESR (ví dụ: trong trường hợp xương có tuỷ).

²⁾ Các giá trị này chỉ đối với tần số sóng cực ngắn và từ trường đã định; nếu tần số cao hơn (hoặc thấp hơn) thì cường độ phải cao hơn (hoặc thấp hơn).

³⁾ Các giá trị này chỉ dùng cho chiều rộng đường quét từ tính qui định.

Các mẫu phổ ESR điển hình của xương đã chiếu xạ và xương không chiếu xạ (trường hợp của thịt đùi gà) được đưa ra trong hình A.1, A.2 và A.3. Chú ý rằng phổ ESR của xương đã chiếu xạ ở các liều tương đối thấp (nhỏ hơn 2 kGy đến 3 kGy) thường thể hiện sự kết hợp tín hiệu chiếu xạ đặc thù và không đặc thù (xem hình A.2). Ở các mức liều nhỏ hơn 0,5 kGy, thì tín hiệu không đặc thù mạnh hơn tín hiệu đặc thù. Ngược lại, thường chỉ quan sát được một tín hiệu chiếu xạ đặc thù (xem hình A.3) khi áp dụng các liều cao (trên 3 kGy).

7.2 Tính giá trị g

Sử dụng các giá trị thu được đã đo như mô tả trong 6.2.2, tính giá trị g (g_{signal}) bằng công thức 1 :

$$g_{\text{signal}} = \frac{71,488 \times V_{\text{ESR}}}{B} \quad (1)$$

trong đó

V_{ESR} là tần số sóng cực ngắn, tính bằng gigahertz (GHz);

B là từ trường (mật độ thông lượng từ) tính bằng millitesla (mT) (10 Gauss = 10 Gs = 1 mT).

Cách tính giá trị g của các tín hiệu ở xương là đo tần số (ví dụ, máy đếm tần số) và từ trường B (ví dụ máy đo Gaoxo) ở các vị trí đánh dấu mũi tên như các hình từ A.1 đến A.3.

Các giá trị sau đây được tìm thấy trong xương:

$$g_{\text{symm}} = 2,005 \pm 0,001 \text{ (không có bằng chứng chiếu xạ);}$$

$$g_1 = 2,002 \pm 0,001 \text{ (đã chiếu xạ);}$$

$$g_2 = 1,998 \pm 0,001 \text{ (đã chiếu xạ);}$$

8 Hạn chế

Việc phát hiện các mẫu xương đã chiếu xạ có kết quả tốt với liều trên 0,5 kGy, bao trùm phần lớn các ứng dụng trong thương mại. Các giới hạn phát hiện và tính ổn định có thể bị ảnh hưởng bởi mức độ khoáng hoá và độ kết tinh hydroxyapatit trong mẫu.

Nhìn chung, xương của các động vật to lớn và các loài có xương bị khoáng hoá cao có các liều phát hiện tối thiểu thấp. Tuy nhiên, thực tế cho thấy có sự khác nhau đối với từng động vật và đối với từng loài [19] đến [21].

Trường hợp đối với xương có dính thịt thì kết quả của phương pháp phát hiện này bị ảnh hưởng không đáng kể do gia nhiệt mẫu (ví dụ: đun sôi trong nước). Đối với thực phẩm đã xử lý bằng chiếu xạ thì thời gian bảo quản đến 12 tháng sẽ không ảnh hưởng đến việc phát hiện. Đối với các loại xương cá ít khoáng hoá thì các tín hiệu phi bức xạ tăng mạnh nếu nhiệt độ sấy vượt quá (6.1) và điều này làm nhiễu các tín hiệu bức xạ đặc thù.

9 Thẩm định kết quả

Tiêu chuẩn này dựa trên các thử nghiệm liên phòng thí nghiệm trên xương thịt và xương cá [12] đến [18].

Trong một thử nghiệm liên phòng thí nghiệm do BCR thực hiện [13], [16], gồm 21 phòng thí nghiệm tham gia nhận dạng các mẫu xương bò và xương cá hồi đã mã hoá gồm các mẫu không chiếu xạ và các mẫu đã chiếu xạ với liều xấp xỉ 2 kGy, 4 kGy hoặc 7 kGy (xem bảng 1). Trong một thử nghiệm liên phòng thí nghiệm do cơ quan Y tế của Liên bang Đức thực hiện [17] gồm 18 phòng thí nghiệm tham gia nhận dạng các mẫu thịt gà và thịt cá hồi có chứa xương đã mã hoá gồm các mẫu không chiếu xạ lẫn các mẫu đã chiếu xạ với liều xấp xỉ 2 kGy, 4 kGy hoặc 6 kGy (xem bảng 2).

Bảng 1 – Dữ liệu của liên phòng thí nghiệm

Sản phẩm	Số mẫu	Sai số âm ¹⁾	Sai số dương ²⁾
Xương bò	84	0	0
Xương cá hồi	84	5 ³⁾	0

¹⁾ Sai số âm là các mẫu thử đã chiếu xạ nhưng được nhận dạng là không chiếu xạ.
²⁾ Sai số dương là các mẫu thử không chiếu xạ nhưng được nhận dạng là đã chiếu xạ.
³⁾ Năm mẫu sai số âm là do giải thích nhầm kết quả quang phổ.

Bảng 2 – Dữ liệu của liên phòng thí nghiệm

Sản phẩm	Số mẫu	Sai số âm ¹⁾	Sai số dương ²⁾
Xương gà	108	0	0
Xương cá hồi	108	0	2 ³⁾

¹⁾ Sai số âm là các mẫu thử đã chiếu xạ nhưng được nhận dạng không chiếu xạ.
²⁾ Sai số dương là các mẫu thử không chiếu xạ nhưng được nhận dạng là đã chiếu xạ.
³⁾ Hai mẫu sai số dương do giải thích nhầm kết quả quang phổ.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm ít nhất các thông tin dưới đây:

- a) thông tin về nhận biết mẫu thử;
- b) viện dẫn tiêu chuẩn này;
- c) kết quả thu được;
- d) ngày lấy mẫu và qui trình lấy mẫu (nếu biết);
- e) ngày nhận mẫu;
- f) ngày thử nghiệm;
- g) bất kỳ điểm ngoại lệ nào quan sát được trong khi thực hiện phép thử;
- h) bất kỳ thao tác nào không qui định trong phương pháp hoặc tùy ý có thể ảnh hưởng đến kết quả.

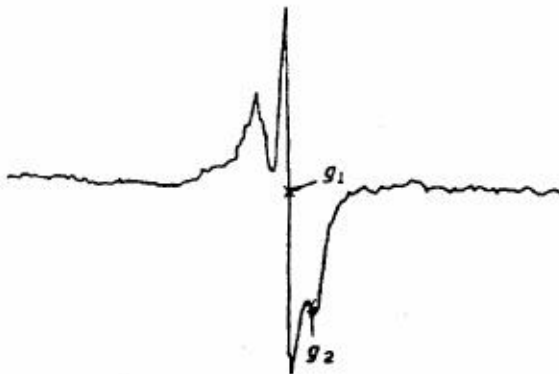
Phụ lục A

(qui định)

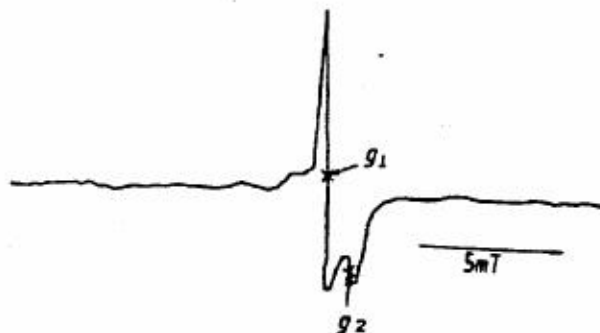
Các hình

Trường : $350 \text{ mT} \pm 10 \text{ mT}$ ($3500 \text{ Gs} \pm 100 \text{ Gs}$)Hệ số khuếch đại : $3,2 \times 10^5$ 

Hình A.1 – Phổ ESR điển hình của mẫu đùi gà không chiếu xạ

Trường : $350 \text{ mT} \pm 10 \text{ mT}$ ($3500 \text{ Gs} \pm 100 \text{ Gs}$)Hệ số khuếch đại : $3,2 \times 10^5$ 

Hình A.2 – Phổ ESR điển hình của mẫu đùi gà đã chiếu xạ với liều xấp xỉ 1 kGy

Trường : $350 \text{ mT} \pm 10 \text{ mT}$ ($3500 \text{ Gs} \pm 100 \text{ Gs}$)Hệ số khuếch đại : $1,0 \times 10^5$ 

Hình A.3 – Phổ ESR điển hình của mẫu đùi gà đã chiếu xạ với liều xấp xỉ 3 kGy

Phụ lục B

(tham khảo)

Các thông tin về khả năng áp dụng

Kinh nghiệm của phòng thử nghiệm cho thấy phương pháp này có thể áp dụng cho các loại mẫu thử dưới đây:

- xương của các loài động vật cho thịt, bao gồm : vịt, ếch, ngỗng, gà, thỏ, cừu, gà tây, bò và lợn;
- xương của các loại cá, bao gồm: lươn, cá hồi, cá mè, cá mập nhám, cá bơn, cá trích, cá tuyết, cá hồi, cá thu và cá chép.

Phụ lục C

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Helle, N. and Bögl, K.W.: *Methods for identifying irradiated food*. In: Food Tec., 1990, 4, 24-39.
- [2] Raffi, J., Evans, J.C., Agnel, J.-P., Rowlands, C.C. and Lesgards, G.: *ESR analysis of irradiated frogs' legs and fishes*. In: Appl. Radiat. Isot., 1989, 40, 1215-1218.
- [3] Lea, J.S., Dodd, N.J.F. and Swallow, A.J.A.: *Method of testing for irradiation of poultry*. In: Int. J. Food Sci. Technol., 1988, 23, 625-632.
- [4] Desrosiers, M.F. and Simic, M.G.: *Postirradiation dosimetry of meat by electron spin resonance spectroscopy of bones*. In: J. Agric. Food Chem., 1988, 36, 601-603.
- [5] Stevenson, M.H. and Gray, R.: *Effect of irradiation dose, storage time and temperature on the ESR signal in irradiated chicken bone*. In: J. Sci. Food Agric., 1989, 48, 269-274.
- [6] Gray, R., Stevenson, M.H. and Kilpatrick, D.J.: *The effect of irradiation dose and age of the bird on the ESR signal in irradiated chicken drumsticks*. In: Radiat. Phys. Chem., 1990, 35, 284-287.
- [7] Stevenson, M.H. and Gray, R.: *An investigation into the effect of sample preparation methods on the resulting ESR signal from irradiated chicken bone*. In: J. Sci. Food Agric., 1989, 48, 261-267.
- [8] Goodman, B.A., McPhail, D.B. and Duthie, D.M.L.: *Electron spin resonance spectroscopy of some irradiated foodstuffs*. In: J. Sci. Food Agric., 1989, 47, 101-111.
- [9] Untersuchung von Lebensmitteln: *Nachweis einer Strahlenbehandlung (ionisierende Strahlen) von knochenhaltigem Fleisch durch Messung des ESR (Elektronen-Spin-Resonanz)-Spektrums (Detection of bone containing meat treated with (ionising) radiation by ESR spectroscopy)*. L 06.00-30. In: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: Verfahren zur Probenahme und Untersuchung von Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen/Bundesgesundheitsamt (In: Collection of official methods under article 35 of the German Federal Foods Act; Methods of sampling and analysis of foods, tobacco products, cosmetics and commodity goods/Federal Health Office) Loseblattausgabe, Stand Aug. 1993 Bd. 1 (Loose leaf edition, as of 1993-08 Vol. 1.) Berlin, Köln: Beuth Verlag GmbH.
- [10] Untersuchung von Lebensmitteln: *Nachweis einer Strahlenbehandlung (ionisierende Strahlen) von grünenhaltigem Fisch durch Messung des ESR (Elektronen-Spin-Resonanz)-Spektrums (Detection of bone containing fish treated with (ionising) radiation by ESR spectroscopy)*. L 10.00-6. In: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: Verfahren zur Probenahme und Untersuchung von Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen/Bundesgesundheitsamt (In: Collection of official methods under article 35 of the German Federal Foods Act; Methods of sampling and analysis of foods, tobacco products, cosmetics and commodity goods/Federal Health Office) Loseblattausgabe, Stand Aug. 1993 Bd. 1 (Loose leaf edition, as of 1993-08 Vol. 1.) Berlin, Köln: Beuth Verlag GmbH.
- [11] MAFF validated methods for the analysis of foodstuffs, No. V28: *Detection of meat containing bone*. In: J. Assoc. Publ. Analysts, 1963, 29, 201-208.
- [12] Raffi, J., Delincée, H., Marchioni, E., Hasselmann, C., Sjöberg, A.-M., Leonardi, M., Kent, M., Bögl, K.W., Schreiber, G.A., Stevenson, H. and Meier, W.: *Concerted Action of the Community Bureau of Reference on Methods of Identification on Irradiated Foods*. BCR-Information. 1994, Luxembourg: Commission of the European Communities, 1994 (Report EUR/15261/en).
- [13] Raffi, J.: *Electron Spin Resonance Intercomparison Studies on Irradiated Foodstuffs*. BCR-Information. 1992, Luxembourg: Commission of the European Communities, 1992 (Report EUR/13630/en).
- [14] Scotter, S.L., Holley, P. and Wood, R.: *Cooperative trial of methods of analysis to determine irradiation treatment of chicken samples: Initial trial*. In: Int. J. Food Sci. Technol., 1990, 25, 512-518.
- [15] Desrosiers, M.F., McLaughlin, W., Sheahan, L., Dodd, N., Lea, J., Evans, J.C., Rowlands, C. C., Raffi, J. and Agnel, J.-P.: *Co-trial on identification and estimates of gamma ray and electron absorbed doses given to meat bones*. In: Int. J. Food Sci. Technol., 1990, 25, 682-691.
- [16] Raffi, J., Stevenson, M.H., Kent, M., Thiéry, J.M. and Belliaro, J.J.: *European inter-comparison on electron spin resonance identification of irradiated foodstuffs*. In: Int. J. Food Sci. Technol., 1992, 27, 111-124.

- [17] Schreiber, G.A., Helle, N., Schukld, G., Spiegelberg, A., Linke, B., Wagner, U. and Bögl, K.W.: *Intercomparisons to evaluate the suitability of gas chromatographic, electron spin resonance spectrometric and thermoluminescence methods to detect irradiated foods in routine control.* In: *Radiat. Phys. Chem.*, 1993, **42**, 391-396.
 - [18] Desrosiers, M.F., Le, F.G. and Mc Laughlin, W.L.: *Intertaboratory trials of the EPR method for the detection of irradiated meats containing bone.* In: *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1994, **29**, 153-159.
 - [19] Gray, R., Stevenson, M.H. and Kilpatrick, D. J.: *The effect of irradiation dose and age of bird on the ESR signal in irradiated drumsticks.* *Radiat. Phys. Chem.*, 1990, **35**, 284-287.
 - [20] Gray, R. and Stevenson, M.H.: *Effect to length and temperature of storage on the ESR signal from various bones in irradiated chicken carcasses.* In: *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1990, **25**, 506-511.
 - [21] Dodd, N.J.F., Haishun, J., Lea, J.S. and Swallow, A.J.: *Factors influencing the yield of free radicals in irradiated chicken.* In: *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1992, **27**, 371-383.
-