

## METODI BASATI SULLA LUMINESCENZA STIMOLATA

Emanuela Bortolin (a), Raffaella Gargiulo (b), Maria Cristina Quattrini (a), Concetta Boniglia (b)

(a) Servizio Grandi Strumentazioni e Core Facilities, Istituto Superiore di Sanità

(b) Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

L'utilizzo delle tecniche di luminescenza stimolata per l'identificazione degli alimenti irradiati è possibile grazie alla presenza negli alimenti di particolato minerale costituito da: silicati che contaminano i prodotti dell'agricoltura esposti all'aria, materiali inorganici come la calcite derivante dal guscio o dall'esoscheletro di molluschi e crostacei e idrossiapatite che deriva da ossa e denti. Questi minerali, infatti, se precedentemente irradiati, ad esempio durante il trattamento degli alimenti con radiazioni ionizzanti (raggi X, raggi  $\gamma$  o elettroni), emettono luce in seguito a stimolazione ottica (luminescenza fotostimolata, *Photo-Stimulated Luminescence* o PSL) o termica (termoluminescenza, *Thermically-Stimulated Luminescence* o TL).

I metodi basati sulle tecniche di luminescenza stimolata, approvati a livello europeo dal CEN (*Comité Européen de Normalisation*) e recepiti dall'Ente Nazionale Italiano di Unificazione, UNI, indicati per l'identificazione dell'irraggiamento nelle matrici del "Piano nazionale di controllo ufficiale sugli alimenti e i loro ingredienti trattati con radiazioni ionizzanti", sono i seguenti:

- UNI EN 13751:2009 Ricerca di alimenti irraggiati con l'utilizzo di luminescenza fotostimolata
- UNI EN 1788:2002 Ricerca per termoluminescenza di alimenti irraggiati dai quali possono essere isolati i minerali silicati

### Luminescenza stimolata

Il fenomeno della luminescenza otticamente o termicamente stimolata si osserva in materiali precedentemente esposti a radiazioni ionizzanti. Si tratta per lo più di solidi isolanti in grado di mantenere traccia del passaggio della radiazione ionizzante attraverso fenomeni di intrappolamento di cariche in difetti presenti nella struttura del materiale (Figura 1).

Le trasformazioni radioindotte nella struttura del materiale sono sostanzialmente stabili, ossia possono permanere a lungo nel tempo, e sono in genere reversibili. Il materiale può tornare nel suo stato iniziale a patto di ricevere l'energia necessaria per liberare le cariche intrappolate. L'energia di attivazione delle trappole può essere fornita attraverso il riscaldamento o l'esposizione a radiazione ottica; i processi di ricombinazione delle cariche attraverso i quali il materiale (atomi e/o molecole) ritorna nel suo stato iniziale sono accompagnati da emissione di luce (luminescenza stimolata) (Figura 2).

Nel caso in cui l'energia di attivazione viene fornita dalla radiazione ottica si parla di *luminescenza fotostimolata* (PSL), quando il materiale viene riscaldato si parla invece di *termoluminescenza* (TL).

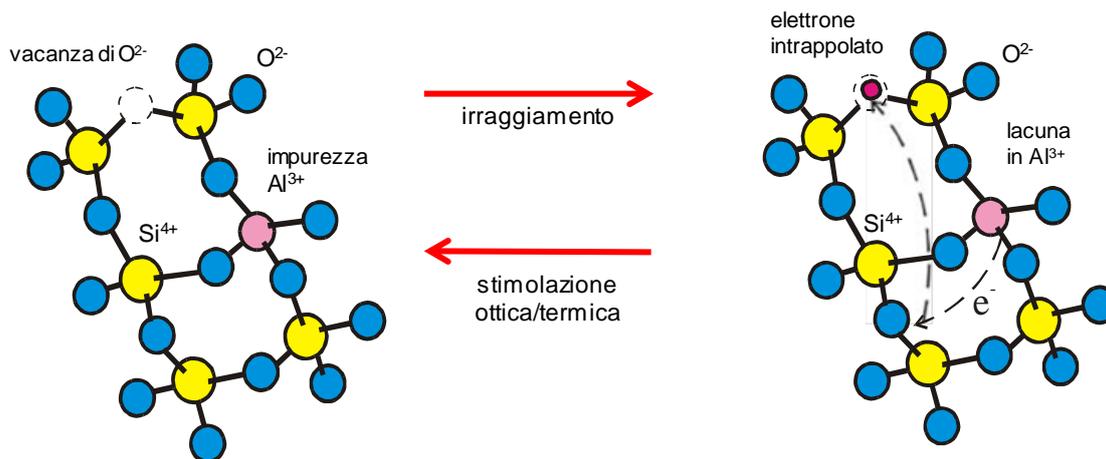


Figura 1. Il fenomeno della luminescenza stimolata in un cristallo di quarzo: nella struttura del cristallo sono presenti difetti (vacanze di ossigeno, impurezze di alluminio) dove rimangono intrappolate le cariche liberate dalla radiazione ionizzante. La stimolazione ottica o termica fornisce l'energia necessaria per liberare le trappole e ripristinare le condizioni iniziali

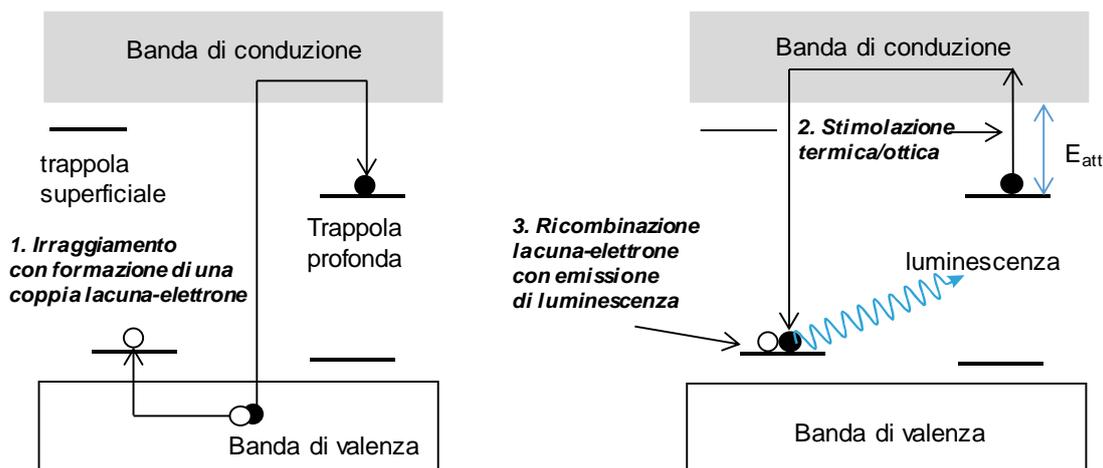
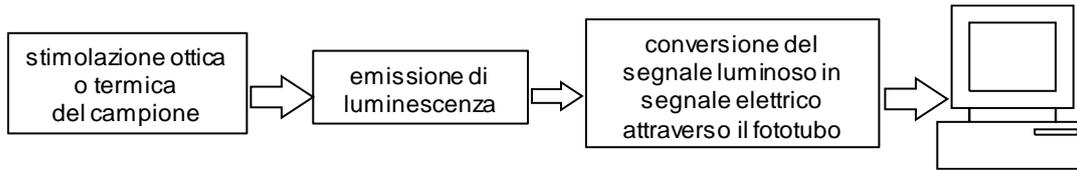


Figura 2. Il fenomeno della luminescenza stimolata secondo il modello a bande dei solidi isolanti. I livelli metastabili (trappole) tra le due bande sono dovuti ai difetti presenti nella struttura del solido. A sinistra: irraggiamento con formazione di una coppia lacuna-elettrone e intrappolamento delle cariche nei livelli metastabili tra le bande. A destra: stimolazione ottica o termica, ricombinazione dell'elettrone con la lacuna ed emissione di luminescenza

### Apparato strumentale e misura

Una misura di luminescenza stimolata viene eseguita riscaldando il campione (termoluminescenza, TL) o esponendolo a radiazione visibile o infrarossa (fotoluminescenza, PSL).

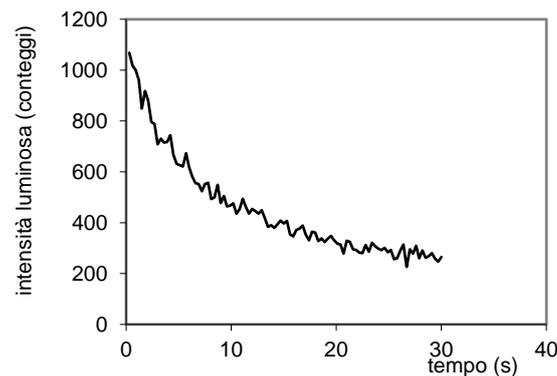
In seguito alla stimolazione ottica o termica il campione emette luminescenza (generalmente luce visibile) che viene raccolta e trasformata in un segnale elettrico da un fotomoltiplicatore. In Figura 3 è riportato schematicamente il processo di misura.



**Figura 3. Rappresentazione schematica di una misura di luminescenza otticamente o termicamente stimolata**

Le parti che compongono un lettore di luminescenza stimolata sono essenzialmente: il sistema di stimolazione ottica o termica del campione, il fotomoltiplicatore o fototubo per la conversione del segnale di luminescenza in segnale elettrico e l'elettronica di controllo. L'apparato prevede anche l'utilizzo di filtri opportuni per la selezione di specifiche componenti dello spettro di emissione. Il lettore è normalmente collegato ad un computer che gestisce le varie operazioni di acquisizione dei dati tramite un software dedicato.

Durante una misura di *fotoluminescenza* il campione viene esposto a radiazione ottica di frequenza e potenza opportune per periodi di tempo della durata di qualche decina di secondi. L'intensità della luce emessa viene registrata in funzione del tempo come illustrato nella Figura 4 che riporta, a titolo di esempio, il segnale di decadimento ottenuto con componenti elettronici (resistori) precedentemente irradiati.



**Figura 4. Esempio di curva PSL di decadimento ottenuta da componenti elettronici stimolati con luce blu**

Durante una misura di termoluminescenza il campione viene riscaldato in modo controllato fino alla temperatura desiderata che è diversa a seconda del tipo di materiale e degli scopi della misura e generalmente inferiore a 500°C. Durante il riscaldamento, si liberano le trappole e si verificano processi di ricombinazione lacuna-elettrone accompagnati da emissione di luminescenza (Figura 3). Man mano che la temperatura cresce si liberano trappole sempre più profonde, caratterizzate da energia di attivazione ( $E_{att}$ ) via via maggiore, che corrispondono a picchi di luminescenza a temperature crescenti. L'intensità della luce emessa viene riportata in funzione della temperatura che, normalmente, durante la misura cresce linearmente con il tempo. Nella Figura 5 sono mostrate le curve di termoluminescenza o *glow curve*, di due materiali. La forma della curva, il numero e la posizione dei picchi dipendono dal tipo di difetti (trappole) presenti nella struttura del materiale e dalla loro energia di attivazione.

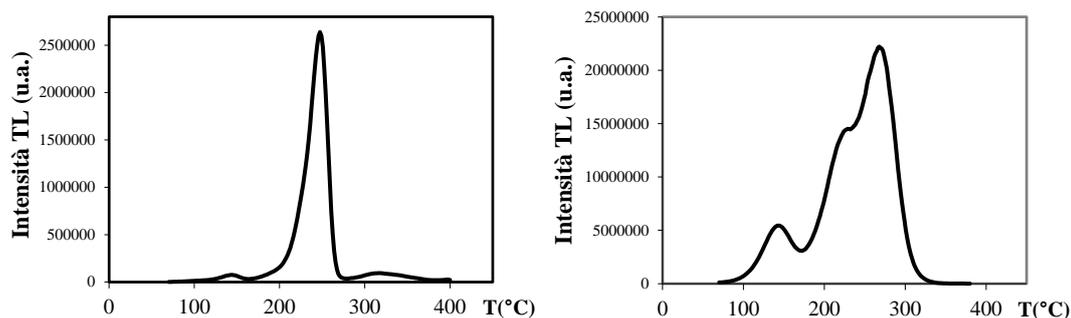


Figura 5. Esempi di *glow curve* di materiali diversi: dosimetro a fluoruro di litio, TLD100 (a sinistra) e sale marino da cucina (a destra)

## Metodo UNI EN 13751

Con questo metodo si misura l'intensità della luce emessa dal campione sotto stimolazione con radiazione infrarossa. La luminescenza viene prodotta, durante la stimolazione ottica, dai minerali presenti nella matrice alimentare quindi il metodo è applicabile, in linea di principio, a tutti gli alimenti che contengono particolato minerale.

L'apparato sperimentale consente di eseguire misure direttamente sull'alimento. A titolo di esempio nella Figura 6 viene mostrato uno degli strumenti più utilizzati.



Figura 6. Sistema di misura PSL (a destra il cassetto estraibile con l'alloggiamento per la capsula Petri contenente il campione)

Durante la misura un'aliquota di campione viene inserita in una capsula Petri e introdotta, attraverso un cassetto estraibile, nell'apparato di misura proprio al di sotto del sistema di stimolazione a *impulsi di infrarosso*. Il dato che si utilizza per la classificazione del campione è il numero di *conteggi* registrato in 60 secondi durante i quali il campione viene sottoposto a 60 impulsi di infrarosso. Il totale di conteggi viene confrontato con due valori di soglia,  $T_1$  (soglia inferiore) e  $T_2$  (soglia superiore), il che permette di classificare il campione come negativo, positivo o intermedio.

La maggior parte dei campioni irradiati produce un segnale molto superiore alla soglia  $T_2$ , tuttavia, poiché è possibile (anche se non molto frequente) ottenere un risultato positivo anche da campioni non irradiati ma con un elevato segnale di fondo (geologico) dovuto alla radiazione naturale, è necessario confermare il risultato ottenuto tramite uno dei metodi fisici di conferma.

Segnali inferiori alla soglia  $T_1$  indicano che il campione non è stato trattato con radiazioni ionizzanti; il campione in esame è perciò classificato come non irradiato e non viene sottoposto ad ulteriore analisi.

Per i valori intermedi compresi tra le due soglie  $T_1$  e  $T_2$  è necessaria un'ulteriore indagine; in questo caso il risultato potrebbe essere dovuto a un campione irradiato ma povero di silicati che fornisce un numero totale di conteggi inferiore alla soglia  $T_2$ , un campione non irradiato con un segnale di fondo elevato o alla presenza di una parte di prodotto irradiato (miscela). Lo schema decisionale da seguire per la classificazione del campione è, quindi, il seguente:

- conteggi  $< T_1$             → risultato negativo            → campione non irradiato
- $T_1 < \text{conteggi} < T_2$    → risultato intermedio        → campione indeterminato  
(*possibilmente irradiato, da riesaminare*)
- conteggi  $> T_2$             → risultato positivo            → campione probabilmente irradiato  
(*da confermare*)

Il metodo viene usato come metodo di screening e richiede quindi il riesame con un metodo di conferma dei campioni risultati non negativi (intermedi e/o positivi).

Le misurazioni vengono effettuate sul campione tal quale avendo però cura di selezionare una porzione di alimento non esposta alla luce che può provocare svuotamento delle trappole con conseguente riduzione del segnale.

L'analisi viene condotta in duplicato su due aliquote di campione. Generalmente le risposte sono concordi, tuttavia, poiché i minerali responsabili dell'emissione di luminescenza sono distribuiti in modo non uniforme nella matrice alimentare, le variazioni nelle risposte delle singole aliquote dello stesso campione possono essere anche notevoli e portare ad esiti discordi; in questi casi l'analisi viene ripetuta su altre quattro aliquote e vengono considerati, per la classificazione, i due conteggi più alti.

Il metodo UNI EN 13751 è stato validato, attraverso test di validazione internazionali, per erbe essiccate, spezie, condimenti, crostacei e molluschi, ma ci sono evidenze che possa essere applicato a una grande varietà di prodotti. Le limitazioni nell'applicazione di questo metodo sono legate alla presenza di campioni con bassa sensibilità, come ad esempio alcune spezie (pepe bianco e noce moscata), che danno luogo a falsi negativi.

In alcuni prodotti la presenza di sale, caratterizzato da segnali di fondo elevati, potrebbe mascherare il contributo derivante dagli ingredienti effettivamente trattati e dare luogo a falsi positivi. In questo caso è utile idratare il campione ed eseguire di nuovo la misura.

## Applicazione alle matrici del Piano

Le matrici di origine animale e non animale previste dal Piano sono:

- *Matrici animali*: vongole, cozze e ostriche con guscio, gamberi, gamberetti e scampi non eviscerati
- *Matrici non animali*: aglio, patate e cipolle con buccia, erbe e spezie, funghi essiccati, legumi secchi, ingredienti per integratori (foglie, radici, semi, frutti, ecc.), esclusi gli estratti vegetali.

## Matrici animali

### Preparazione del campione

Per la preparazione del campione si possono utilizzare i prodotti interi con i gusci oppure le parti edibili o gli intestini (6 per Petri). Quando è possibile, porre il prodotto intero o la parte edibile nella capsula Petri con l'intestino, che contiene i minerali, rivolto verso l'alto. È importante proteggere il campione dalla luce e dalla contaminazione prima e durante l'analisi.

### Misura PSL

Dopo aver effettuato i controlli sulla corrente di buio e sui materiali standard irradiati e non irradiati, eseguire una misura a vuoto per controllare l'assenza di contaminazione dell'alloggiamento del campione. Ripetere le misure su altre quattro aliquote nel caso in cui i primi due risultati fossero discordi. Ripetere la misura a vuoto almeno ogni 10 misure su campioni e dopo ogni risultato positivo.

### Valutazione dei risultati

Confrontare i risultati delle misure con i valori di soglia  $T_1$  e  $T_2$  ( $T_1=1000$  conteggi/60 s e  $T_2=4000$  conteggi/60 s) e usare lo schema decisionale riportato in Tabella 1.

La valutazione dei risultati è basata sui dati ottenuti nel corso di test di validazione internazionali e nazionali e su dati di letteratura.

**Tabella 1. Metodo UNI EN 13751: schema decisionale applicato alle matrici animali del Piano**

Matrice	Conteggi/60s	Risultato	Esito	Azioni
	< $T_1$	negativo	non irradiato	nessuna
Vongole, cozze e ostriche con guscio, gamberi, gamberetti e scampi non eviscerati	> $T_1$ e < $T_2$	intermedio	indeterminato	ripetere l'analisi con altro metodo
	> $T_2$	positivo	irradiato	confermare il risultato

**Il metodo UNI EN 13751 applicato alle matrici animali indicate nel Piano richiede il riesame dei campioni non negativi (intermedi o positivi) con uno degli altri metodi previsti dal Piano.**

## Matrici non animali

### Preparazione del campione

Per la preparazione del campione inserire il prodotto tal quale nella capsula Petri coprendo il fondo della capsula (possibilmente con strato spesso). Nel caso di aglio, patate e cipolle utilizzare la buccia e disporla nella capsula Petri con la parte esterna, su cui sono depositati i minerali, rivolta verso l'alto.

### Misura PSL

Dopo aver effettuato i controlli sulla corrente di buio e sui materiali standard irradiati e non irradiati, eseguire una misura a vuoto per controllare l'assenza di contaminazione dell'alloggiamento del campione. Ripetere le misure su altre quattro aliquote nel caso in cui i primi due risultati fossero discordi. Ripetere la misura a vuoto almeno ogni 10 misure su campioni e dopo ogni risultato positivo.

## Valutazione dei risultati

Confrontare i risultati delle misure con i valori di soglia  $T_1$  e  $T_2$  ( $T_1 = 700$  conteggi/60 s e  $T_2 = 5000$ ) e usare lo schema decisionale riportato in Tabella 2.

La valutazione dei risultati è basata sui dati ottenuti nel corso di test di validazione internazionali e nazionali e su dati di letteratura.

**Tabella 2. Metodo UNI EN 13751: schema decisionale applicato alle matrici non animali del Piano**

Matrice	Conteggi/60s	Risultato	Esito	Azioni
Aglio, patate e cipolle con buccia, erbe e spezie, funghi essiccati, legumi secchi, ingredienti per integratori (foglie, radici, semi, frutti, ecc.) esclusi gli estratti vegetali	< $T_1$	negativo	non irradiato	nessuna
	> $T_1$ e < $T_2$	intermedio	indeterminato	ripetere l'analisi con altro metodo
	> $T_2$	positivo	irradiato	confermare il risultato

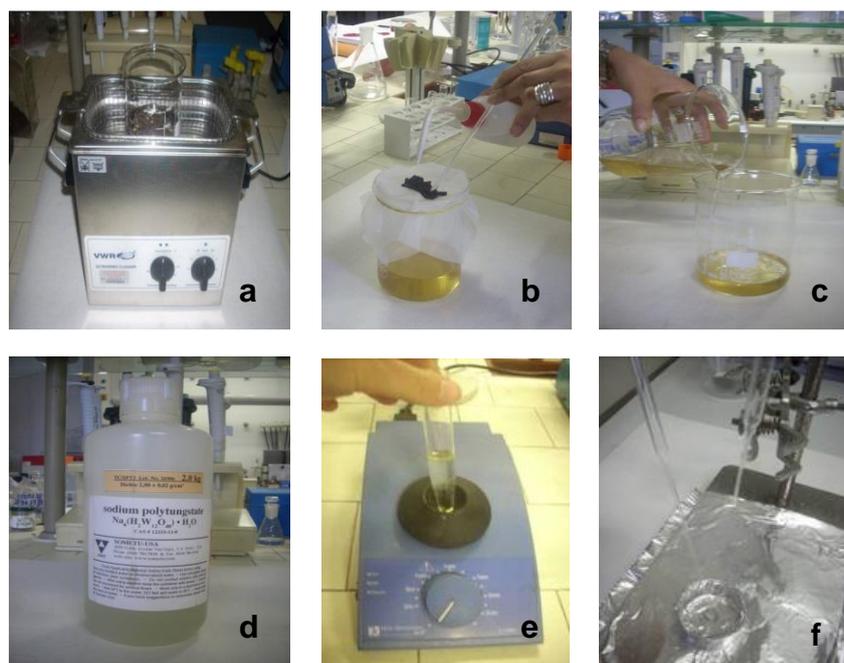
**Il metodo UNI EN 13751 applicato alle matrici non animali indicate nel Piano richiede il riesame dei campioni non negativi (intermedi o positivi) con uno degli altri metodi previsti dal Piano.**

## Metodo UNI EN 1788

Con questa tecnica si misura l'intensità della luce emessa durante il riscaldamento del campione. Diversamente da quello che succede con la fotoluminescenza, le misure di termoluminescenza non possono essere eseguite direttamente sulla matrice alimentare. In questo caso occorre separare i silicati (quarzo e feldspati), responsabili dell'emissione della termoluminescenza, dalla parte organica che durante il riscaldamento potrebbe generare segnali spuri (non radioindotti). La separazione avviene tramite una procedura che prevede una prima fase di preconcentrazione della frazione minerale, eseguita attraverso lavaggi e trattamenti con ultrasuoni che ne facilitano il distacco. Si completa poi l'estrazione attraverso la fase di separazione per densità dei residui di materia organica, procedura eseguita tramite l'utilizzo di reagenti (politungstato di sodio). È prevista anche una fase in cui attraverso un trattamento con HCl si eliminano i carbonati presenti nella miscela di minerali raccolti. I silicati (quarzo e feldspati) così isolati dalla matrice alimentare vengono infine depositati su piattelli di acciaio inossidabile di spessore 0,25-0,5 mm che garantisce un efficace trasferimento di calore al campione durante la misura TL. Alcune delle fasi più importanti della procedura sono mostrate nella Figura 7.

Prima di eseguire la misura TL i piattelli contenenti i silicati vengono conservati in forno a circa 50°C per un'intera notte per eliminare le parti instabili del segnale a bassa temperatura. L'analisi viene condotta in duplicato. Si effettua inoltre la misura del bianco per il controllo della procedura. In questo caso l'intera procedura di estrazione dei silicati viene eseguita senza utilizzare il campione, per evidenziare una eventuale contaminazione da parte dei reagenti e/o della vetreria. I dati relativi ai bianchi (integrali delle Glow1) vengono utilizzati per calcolare la soglia di rivelazione MDL (*Minimum Detection Level*).

Durante la misura TL i silicati vengono riscaldati fino a temperature elevate (circa 400°C); si ottiene così una prima curva di termoluminescenza o *glow curve* (Glow1) di cui si calcola l'integrale in uno specifico intervallo di temperatura (150-250°C). Il valore dell'integrale della curva Glow1 derivante da un campione irradiato risulta molto maggiore rispetto a quello di un campione non irradiato nel quale il segnale TL che si osserva è prodotto soltanto dalla radiazione di fondo naturale.



**Figura 7. Estrazione in acqua di silicati da un campione di pepe nero: a) trattamento con ultrasuoni per favorire il distacco dei minerali dalla matrice alimentare; b) filtrazione; c) scarico della matrice organica; d) ed e) separazione dei residui organici per gradiente di densità con politungstato di sodio; f) trasferimento dei silicati, sotto flusso di azoto, in un piattello di acciaio inossidabile**

Tuttavia, da questa sola misura non è possibile identificare il campione in maniera univoca poiché l'intensità della luce emessa dipende dal livello di contaminazione minerale della matrice e dalla qualità del particolato estratto (quarzo e feldspati) che può variare da un campione all'altro. Per tali motivi, per una corretta identificazione è necessaria una stima della sensibilità alle radiazioni ionizzanti del campione esaminato. Ciò si ottiene irradiando in laboratorio ad una dose nota (1 kGy) i silicati estratti e precedentemente sottoposti a lettura TL (Glow1). Si esegue quindi una seconda misura TL dalla quale si ottiene una seconda *glow curve* (Glow2).

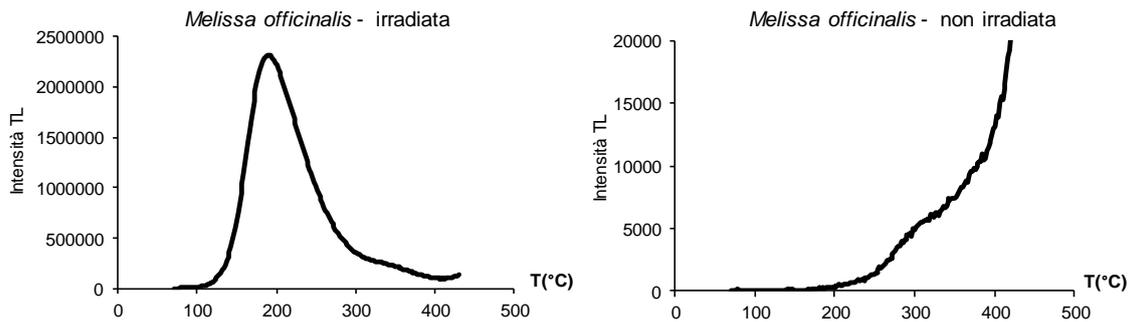
L'analisi del rapporto fra gli integrali (G1, G2) delle due curve ottenute permette di identificare il campione come irradiato o non irradiato; in particolare vale il seguente criterio:

- $G1/G2 > 0,1 \rightarrow$  campione irradiato;
- $G1/G2 < 0,1 \rightarrow$  campione non irradiato.

L'identificazione del campione si completa con l'esame della Glow1 che presenta caratteristiche diverse nei campioni a seconda del trattamento subito (irradiati o no).

In Figura 8 sono riportati esempi di curve Glow1 ottenute con un campione irradiato e uno non irradiato di un ingrediente per integratori a base di piante.

Il particolato minerale estratto da un alimento non irradiato prima di entrare a far parte dell'alimento come contaminante ha subito, nel corso del tempo, soltanto l'effetto della radiazione naturale (segnale geologico). Poiché le trappole più superficiali si svuotano nel tempo per effetto dell'agitazione termica naturale, la Glow1 di un prodotto non irradiato presenterà eventualmente solo le componenti ad alta temperatura corrispondenti alle trappole più profonde in cui si accumula e si conserva il segnale geologico dovuto alla radiazione naturale.

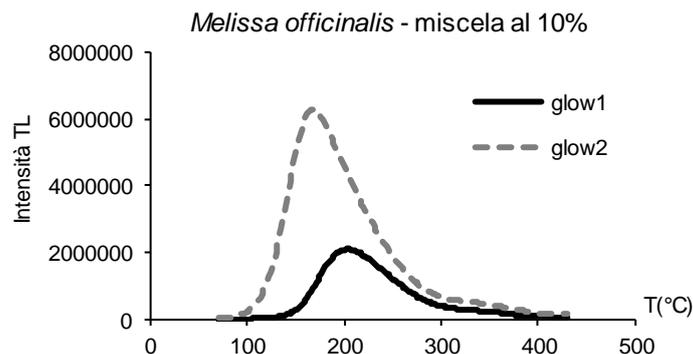


**Figura 8. Glow curve di *Melissa officinalis* (foglie): irradiata ad una dose di 1 kGy (a sinistra) e non irradiata (a destra) (la scala dell'asse delle ordinate del grafico a destra è ridotta)**

Nel caso di un alimento trattato con radiazioni ionizzanti, invece, nella Glow1 saranno presenti anche le componenti a bassa temperatura dovute al trattamento. Come si vede, quindi, la tecnica TL consente di distinguere, attraverso l'esame della posizione del picco, l'emissione dovuta al trattamento con radiazioni ionizzanti da quella dovuta al fondo naturale di radiazione (segnale geologico). Al contrario, attraverso la tecnica PSL, che è in grado di apprezzare solo l'intensità dei segnali, tale distinzione non è possibile. Il metodo TL può essere quindi utilizzato per verificare l'esito non negativo di analisi PSL e confermare l'identificazione di eventuali campioni positivi (trattati con radiazioni ionizzanti).

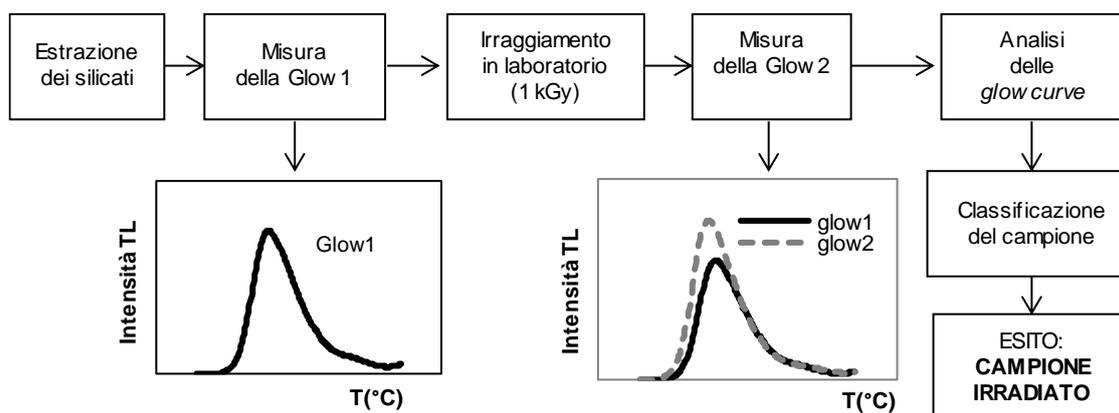
La tecnica è in grado, in linea di principio, di rivelare anche ingredienti irradiati in una miscela (es. in un integratore multicomponente). In questo caso la forma della Glow1 è quella tipica di un campione irradiato ma l'intensità è ridotta perché l'emissione di luce è prodotta solo da quella parte dei silicati estratti che proviene dalla componente irradiata della miscela. Il rapporto G1/G2 può risultare quindi inferiore al valore di soglia 0,1. Il metodo, tuttavia, può fallire in caso di concentrazioni molto ridotte di prodotto irradiato.

Nella Figura 9 è mostrato un esempio di identificazione di una componente irradiata in una miscela.



**Figura 9. Glow curve di un campione di *Melissa officinalis* (foglie) contenente una componente irradiata**

La Figura 10 mostra una rappresentazione schematica della procedura di analisi TL applicata ad un campione irradiato.



**Figura 10. Esempio di applicazione della procedura di analisi TL ad un campione irradiato. Le differenze visibili nelle intensità delle curve Glow1 e Glow2 dipendono dalle differenze nelle dosi somministrate e dalla diminuzione (*fading*) del segnale durante il periodo di conservazione**

Il metodo UNI EN 1788 è stato validato, attraverso test di validazione internazionali, per erbe, spezie, condimenti, gamberi, gamberetti, frutta fresca e disidratata e patate ma può essere applicato, in generale, a tutti gli alimenti dai quali sia possibile estrarre del particolato minerale (silicati).

In alcuni casi, si possono avere problemi legati alla raccolta dei silicati che risultano in quantità non sufficiente per l'analisi ( $G2 < 10$  MDL). Questa situazione si può presentare con alcune spezie (pepe e noce moscata) e gli estratti vegetali usati per la preparazione degli integratori. Il problema si può superare facilmente utilizzando per l'analisi una quantità di campione maggiore.

## Applicazione alle matrici del Piano

Le matrici di origine animale e non animale previste dal Piano Nazionale sono:

- *Matrici animali*: vongole, cozze e ostriche, in tutti i casi con guscio, calamari, polpi e seppie non eviscerati, gamberi, gamberetti e scampi non eviscerati.
- *Matrici non animali*: aglio e patate con buccia, cipolle con buccia, erbe e spezie, mais, frumento, riso, fragole, mirtilli, ribes, more, papaya, avocado, mango, pistacchi, noci, arachidi, nocciole, castagne, mandorle, fichi secchi, uvetta, funghi essiccati, legumi secchi, ingredienti di origine vegetale per la produzione di integratori alimentari inclusi gli estratti vegetali.

## Matrici animali

### Preparazione del campione

Per la preparazione del campione si procede come di seguito descritto. Con una pinza e un bisturi isolare il sacco viscerale (corpo tondeggianti di colore bruno scuro) dal resto del corpo dell'animale. Con l'aiuto di forbici e pinze eliminare il più possibile il grasso adesivo alla massa viscerale e trasferire il resto in una capsula Petri. Tagliare l'intestino in piccoli pezzi e trasferire il tutto in un becher sciacquando bene con acqua bidistillata. Nella maggior parte dei casi è

necessario utilizzare almeno tre intestini. Separare i silicati dalla matrice organica seguendo la procedura di estrazione indicata nel metodo UNI EN 1788.

### Misura TL

Impostare i seguenti parametri di misura:

- Temperatura iniziale: 70°C nominali
- Rateo di riscaldamento: 6°C/s per 60 s nominali
- Temperatura finale: 400-430°C nominali.

Effettuare la prima misura TL (Glow1), dei campioni e del bianco, con i parametri sopra indicati. Dopo la misura irradiare il campione e il bianco alla dose di circa 1 kGy. Dopo l'irraggiamento, mantenere in forno a 50°C circa per una notte. Effettuare una seconda lettura TL (Glow2), sui campioni e sul bianco irradiati.

### Valutazione dei risultati

Effettuare la classificazione del campione considerando: a) il rapporto G1/G2; e b) la forma della curva Glow1, secondo lo schema di Tabella 3.

La valutazione dei risultati è basata sui dati ottenuti nel corso di test di validazione internazionali e nazionali e su dati di letteratura.

**Tabella 3. Metodo UNI EN 1788: schema decisionale applicato alle matrici animali del Piano**

Matrice	G1/G2	Glow1	Esito	Azioni
Vongole, cozze e ostriche con guscio, calamari, polpi e seppie non eviscerati, gamberi, gamberetti e scampi non eviscerati	<0,1	eventuale picco a circa 300°C	non irradiato	nessuna
	>0,1	picco a circa 200°C	irradiato	nessuna

**Il metodo UNI EN 1788 applicato alle matrici animali indicate nel Piano è di conferma e il risultato analitico è sempre valido.**

### Matrici non animali

#### Preparazione del campione

Per la preparazione del campione si procede come di seguito descritto. Separare i silicati dalla matrice alimentare seguendo la procedura di estrazione indicata nello Standard europeo EN 1788. Utilizzare da 3 g a 20 g di erbe e spezie, da 50 g a 200 g di frutta e vegetali disidratati, uno o più frutti o vegetali freschi o patate a seconda del grado di contaminazione minerale. Nel caso di ingredienti di integratori a base di piante, utilizzare quantità simili a quelle previste per le erbe e spezie tranne nel caso degli estratti vegetali che richiedono in genere quantità più elevate.

### Misura TL

Impostare i seguenti parametri di misura:

- Temperatura iniziale: 70°C nominali
- Rateo di riscaldamento: 6°C/s per 60 s nominali
- Temperatura finale: 400-430°C nominali.

Effettuare la prima misura TL (Glow 1), dei campioni e del bianco, con i parametri sopra indicati. Dopo la misura irradiare il campione e il bianco alla dose di circa 1 kGy. Dopo

l'irradiazione, mantenere in forno a 50°C circa per una notte. Effettuare una seconda lettura TL (Glow2), sui campioni e sul bianco irradati.

### Valutazione dei risultati

La valutazione dei risultati è basata sui dati ottenuti nel corso di test di validazione internazionali e nazionali e su dati di letteratura. Effettuare la classificazione del campione considerando: a) il rapporto G1/G2; e b) la forma della curva Glow1, secondo lo schema di Tabella 4.

**Tabella 4. Metodo UNI EN 1788: schema decisionale applicato alle matrici non animali del Piano**

Matrice	G1/G2	Glow1	Esito	Azioni
Aglio e patate con buccia, cipolle con buccia, erbe e spezie, mais, frumento, riso, fragole, mirtilli, ribes, more, papaya, avocado, mango, pistacchi, noci, arachidi, nocciole, castagne, mandorle, fichi secchi, uvetta, funghi essiccati, legumi secchi, ingredienti di integratori inclusi gli estratti vegetali	<0,1	eventuale picco a circa 300°C	non irradiato	nessuna
	>0,1	picco a circa 200°C	irradiato	nessuna

**Il metodo UNI EN 1788 applicato alle matrici non animali indicate nel Piano è di conferma e il risultato analitico (positivo o negativo) è sempre valido.**

### Bibliografia di riferimento

- Bortolin E, Boniglia C, Gargiulo R, Onori S. Herbal materials used in dietary supplements: Comparison of luminescence methods for detection of irradiation. *Radiation Physics and Chemistry* 2009;78:683-5.
- Cruz-Zaragoza E, Marcazzó J, Della Monaca S, Bortolin E. Thermoluminescence analysis of irradiated Oyster shells. *Applied Radiation and Isotopes* 2012; 1:18-22.
- Furetta C. *Handbook of thermoluminescence*. Singapore. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd; 2003.
- Kim BK, Akram K, Kim CT, Kang NR, Lee JW, Ryang JH, Kwon JH. Identification of low amount of irradiated spices (red pepper, garlic, ginger powder) with luminescence analysis. *Radiation Physics and Chemistry* 2012;81:1220-3.
- Kim BK, Kim CT, Park SH, Lee JE, Jeong HS, Kim CY, Lee JK, Yu MA, Kwon JH. Application of Thermo-luminescence (TL) method for the identification of food mixture containing irradiated ingredients. *Food Analytical Methods* 2015;8:718-27.
- Kwon JH, Ahn JJ, Akram K, Son IJ, Lee SO. Characterization of radiation-induced luminescence properties and free radicals for the identification of different gamma-irradiated teas. *Analytical Bioanalytical Chemistry* 2013;405:4225-34.
- Lee J, Chung HW, Kwon JH. Detection of different ratios of gamma-irradiated turmeric by photostimulated luminescence and thermoluminescence. *Korean Journal of Food Science and Technology* 2010;42:648-52.
- Leth, T, Hansen, HB. Comparison of three methods for the detection of herbal food supplement irradiation. *European Food Research and Technology* 2006;223:39-43.
- Marchioni E, Anklam E, Chabane S, Delincée H, Douifi L, Hungerbuhler H, Pelleau Y, Pinnioja S, Raffi J, Sanderson D, Wagner U. *Detection by thermoluminescence of an irradiation treatment of five species of dehydrated fruit and vegetables. Report on a CTCPA/AIFLD International Interlaboratory Study.*

- Karlsruhe: Bundesforschungsanstalt für Ernährung (BFE); 1999. (Berichte der Bundesforschungsanstalt für Ernährung, BFE-R-99-02).
- Pal S, Kim BK, Kim WY, Kim MJ, Ki HA, Kang WS, Kang IH, Kang SJ, Song JM. Pulsed photostimulated- and thermo-luminescence investigations of  $\gamma$  ray-irradiated herbs. *Food Chemistry* 2010;122:1290-7.
- Pal S, Kim BK, Kim WY, Kim MJ, Ki HA, Lee KH, Kang WS, Kang IH, Kang SJ, Song JM. Identification of  $\gamma$ -ray irradiated medicinal herbs using pulsed photostimulated luminescence, thermoluminescence and electron spin resonance spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2009;394(7):1931-45.
- Sanderson DC. Thermoluminescence detection of irradiated fruits and vegetables: international interlaboratory trial. *Food composition and additives* 2003;86(5):971-5.
- Sanderson DCW, Carmichael L, and Fisk S. Establishing luminescence methods to detect irradiated foods. *Food Science and Technology Today* 1998;12(2):97-102.
- Sanderson DCW, Carmichael LA, Fisk S. Photostimulated luminescence detection of irradiated shellfish: international interlaboratory trial. *Journal of AOAC International* 2003; 86(5): 983-89.
- Sanderson DCW, Carmichael LA, Naylor JD. Recent advances in thermoluminescence and photostimulated luminescence detection methods for irradiated foods. In: McMurray CH, Stewart EM, Gray R, Pearce J (Ed.). *Detection methods for irradiated foods - Current status*. Cambridge, UK Royal society of Chemistry; 1996. p. 124-138.
- Sanderson DCW, *et al.* Luminescence detection of shellfish. In: McMurray CH, Stewart EM, Gray R, Pearce J (Ed.). *Detection methods for irradiated foods - Current status*. Cambridge, UK Royal society of Chemistry; 1996. p. 139-48
- Sanderson DCW. *Photostimulated luminescence (PSL): A new approach to identifying irradiated foods. Potential new methods of detection of irradiated food*. Brussels: Commission of the European Communities (CEC); 1991. (EUR --13331)
- Schreiber GA, Helle N, Bogl KW. An interlaboratory trial on the identification of irradiated spices, herbs, and spice-herb mixtures by thermoluminescence analysis. *Food composition and additives* 1995;78(1):88-93.
- Schreiber GA, Wagner U, Helle N, Ammon J, Buchholtz H-V, Delincée H, Estendorfer S, von Grabowski H-U, Kruspe W, Mainczyk K, Munz H, Schleich C, Vreden N, Wieszorek C, Bogl KW. *Thermoluminescence analysis to detect irradiated fruit and vegetables – an intercomparison study*. Berlin: Bundesgesundheitsamt (German Federal Health Office); 1993. (Bericht des Instituts für Sozialmedizin und Epidemiologie des Bundesgesundheitsamtes. SozEp-Heft 3/1993).
- Todoriki S, Kameya H, Saito K, Hagiwara S. Detection of Commercially Irradiated Potatoes by Thermoluminescence and Photostimulated Luminescence Analyses. *Food Science and Technology Research* 2014;20 (3):555-61.
- UNI EN 13708. *Ricerca per termoluminescenza di alimenti irraggiati dai quali possono essere isolati i minerali silicati*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2002.
- UNI EN 13751. *Ricerca di alimenti irraggiati con l'utilizzo di luminescenza fotostimolata*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2009.