

## Monitoring of irradiated food products marketed in Italy and evaluation of electron spin resonance signal sensitivity of experimentally irradiated fish scales

Raffaele Marrone,<sup>1</sup> Leonardo Carosielli,<sup>2</sup> Michele Mangiacotti,<sup>3</sup> Eugenio Chiaravalle,<sup>3</sup> Giorgio Smaldone,<sup>1</sup> Aniello Anastasio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II; <sup>2</sup>Centro di Referenza Nazionale per la Ricerca della Radioattività nel Settore Zootecnico Veterinario, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e Basilicata, Foggia; <sup>3</sup>Servizio Veterinario, Azienda Sanitaria Locale di Foggia, Italy

### Abstract

Many countries, in order to authorise the use of food irradiation, claim the availability of methods to detect the occurred treatment in addition to the respect of safe use of this technology. Among physical methods, the electron spin resonance (ESR) measuring the number of free radicals that are formed during irradiation can be applied only to those foods with cellulose, a crystalline or bone structure, in which free radicals have a shelf life greater than irradiated product. The aim of this study was to highlight an irradiation treatment in European and extra-European foods marketed in Southern Italy by the means of ESR technique. Furthermore, in order to optimise the preparation procedures the efficacy of the above mentioned method in fish scales experimentally irradiated has been evaluated. From February to September 2012, a total number of 83 samples of food products of animal and plant origin were taken at the border inspection post and at retail market and finally analysed. At the same time, the scales of grouper and barracuda have been experimentally irradiated at 0.5 kGy and were subsequently analysed using ESR. Results showed 5 frog legs out of 83 samples positive for treatment and confirm the applicability of ESR also for fish scales.

### Introduzione

Attualmente sono disponibili numerosi sistemi di conservazione degli alimenti e la

sceita del più idoneo dipende dal tipo di alimento e da fattori igienico-sanitari, ambientali, economici e anche psicologici. Accanto ai metodi tradizionali ha destato un crescente interesse l'utilizzo delle radiazioni ionizzanti che esplicano la loro azione conservativa in diversi modi interferendo in maniera marginale sull'attività enzimatica degli alimenti (Codex Alimentarius Commission; FAO, 1984). Queste hanno la potenzialità di diminuire o eliminare la contaminazione microbica prevenendo il deterioramento. Dall'inizio della sua applicazione ad oggi il trattamento degli alimenti con radiazioni ionizzanti ha coinvolto un numero sempre maggiore di Paesi e sempre più diverse tipologie alimentari. Nonostante il Comitato Scientifico dell'Alimentazione Umana, basandosi sui lavori della Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency/World Health Organization (FAO/IAEA/WHO), abbia affermato che l'irraggiamento delle derrate alimentari fino alla dose massima di 10 kGy non presenti problemi di natura tossicologica, nutrizionale e microbiologica (WHO, 1999), il trattamento con radiazioni ionizzanti ha provocato e continua a suscitare ancora oggi reazioni controverse. Molti Paesi, oltre a richiedere le necessarie valutazioni sulla sicurezza d'uso degli alimenti irradiati, hanno posto come requisito per l'autorizzazione all'irraggiamento, la disponibilità di metodi atti a rilevare l'applicazione del trattamento stesso (Farkas, 1998; Stefanova *et al.*, 2010). Tali metodi devono offrire la possibilità di verificare inequivocabilmente se un alimento sia stato trattato o meno con radiazioni ionizzanti e devono poter essere applicati sull'alimento in fase di commercializzazione. L'identificazione degli alimenti irradiati deve permettere quindi una verifica a posteriori che si distingue nettamente dalle verifiche effettuate direttamente negli impianti di irraggiamento. Tutto ciò ha portato ad un sempre maggiore interessamento per la ricerca di metodi analitiche che rispondessero adeguatamente a tali richieste. I metodi validati e standardizzati dal Comitato Europeo di Normazione (CEN) possono essere suddivisi in base alle modificazioni radio-indotte sull'alimento in metodi chimici, fisici e biologici (Delincée, 2002; Boniglia *et al.*, 2004). Tra i metodi fisici, la tecnica della risonanza di spin elettronico (*electron spin resonance*; ESR) (Ikeya, 1993; Eaton *et al.*, 1998), misurando la concentrazione dei radicali liberi che si formano in seguito all'irraggiamento, può essere applicata solo a quegli alimenti contenenti zuccheri cristallini (EN 13708; Commissione Europea, 2001), cellulosa (EN 1787; Commissione Europea, 2000) o matrice ossea (EN 1786; Commissione Europea, 1996) in cui i radicali liberi hanno un tempo

Correspondence: Raffaele Marrone, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, via Delpino 1, 80137 Napoli, Italy.  
Tel. +39.081.2536464 - Fax: +39.081.458683.  
E-mail: raffaele.marrone@unina.it

Key words: Food irradiation, Food safety, Electron spin resonance, Fish scales.

Received for publication: 11 May 2013.  
Accepted for publication: 6 October 2013.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 License (by-nc 3.0).

©Copyright R. Marrone *et al.*, 2014  
Licensee PAGEPress, Italy  
Italian Journal of Food Safety 2014; 3:1602  
doi:10.4081/ijfs.2014.1602

di vita superiore alla shelf life del prodotto trattato. Alla luce di quanto esposto, obiettivo di questo lavoro è stato quello di evidenziare un eventuale trattamento di irraggiamento in alimenti commercializzati sul territorio italiano, in particolare nella provincia di Napoli, di provenienza europea ed extra europea. Parallelamente, al fine di estendere il campo di applicazione del metodo (EN 1786; Commissione Europea, 1996) e ridurre i tempi di analisi, è stata valutata l'applicabilità della tecnica ESR a squame di pesci provenienti da cernia e barracuda, suscettibili di essere sottoposti a trattamento.

### Materiali e Metodi

#### Sperimentazione A: campionamento alimenti commercializzati sul territorio italiano

Da febbraio a settembre 2012 sono stati prelevati presso il posto di Ispezione ispezione frontiera (PIF) di Napoli, presso esercizi commerciali presenti sul territorio della provincia di Napoli e sul territorio nazionale, 83 campioni di prodotti di origine animale e vegetale suddivisi per tipologia come riportato in Tabella 1. I campioni di origine animale sono stati immediatamente congelati e stoccati a temperatura di -80°C. Successivamente sono stati trasferiti presso il Centro di Referenza Nazionale per la Ricerca della Radioattività nel settore Zootecnico-Veterinario dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, sede di Foggia ed analizzati con i metodi ufficiali basati sulla tecnica ESR, mediante uno spettrometro BRUKER, modello EMX-113.

Tabella 1. Descrizione e provenienza degli 83 campioni con relativi esiti analitici.

Matrice	Categoria	Provenienza	Confezionamento	Analisi di conferma
Zucchero marrone	Altro	Cina	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Basilico	Erbe e spezie	Nord Africa	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Condimento barbecue	Erbe e spezie	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Pepe nero	Erbe e spezie	Vietnam	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Peperoncino	Erbe e spezie	India	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Arachidi	Frutta	USA	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Arachidi	Frutta	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Arachidi	Frutta	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Arachidi tostate	Frutta	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Fragole	Frutta	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Fragole	Frutta	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Litchi	Frutta	Cina	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Mandorle	Frutta	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Nocciole	Frutta	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Noci	Frutta	USA	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Noci	Frutta	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Noci brasiliane	Frutta	Brasile	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Noci della California	Frutta	USA	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Noci moscate intere	Frutta	Paesi fascia tropicale	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Pistacchi	Frutta	California	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Pistacchi tostatati	Frutta	Iran	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Pistacchi tostatati	Frutta	Iran	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Agnello	Prodotti carni	Nuova Zelanda	Sottovuoto	Non irraggiato
Alette di pollo	Prodotti carni	Francia	Sottovuoto	Non irraggiato
Anatra	Prodotti carni	Ungheria	Sottovuoto	Non irraggiato
Bovino	Prodotti carni	Regno Unito	Sottovuoto	Non irraggiato
Bovino	Prodotti carni	Francia	Sottovuoto	Non irraggiato
Bovino	Prodotti carni	Italia	Sottovuoto	Non irraggiato
Braciola di vitello	Prodotti carni	Francia	Sottovuoto	Non irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Albania	Sottovuoto	Non irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Vietnam	Sottovuoto	Irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Turchia	Sottovuoto	Non irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Vietnam	Sottovuoto	Irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Vietnam	Sottovuoto	Non irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Vietnam	Sottovuoto	Irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Vietnam	Sottovuoto	Non irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Vietnam	Sottovuoto	Non irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Vietnam	Sottovuoto	Non irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Vietnam	Prodotto sfuso	Irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Turchia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Cosce di rana	Prodotti carni	Vietnam	Prodotto sfuso	Irraggiato
Muscolo bovino	Prodotti carni	Polonia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Muscolo di suino	Prodotti carni	Olanda	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Muscolo ovino	Prodotti carni	Nuova Zelanda	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Ovino	Prodotti carni	Nuova Zelanda	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Pollo	Prodotti carni	Germania	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Pollo	Prodotti carni	Spagna	Sottovuoto	Non irraggiato
Pollo	Prodotti carni	Francia	Sottovuoto	Non irraggiato
Pollo	Prodotti carni	Italia	Sottovuoto	Non irraggiato
Pollo	Prodotti carni	Italia	Sottovuoto	Non irraggiato
Suino	Prodotti carni	Italia	Sottovuoto	Non irraggiato

Continua nella pagina seguente

Tabella 1. Continua dalla pagina precedente.

Matrice	Categoria	Provenienza	Confezionamento	Analisi di conferma
Cosce di rana	Prodotti carnei	Vietnam	Sottovuoto	Non irraggiato
Acciuga	Prodotti ittici	Cina	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Acciuga giapponese	Prodotti ittici	Giappone	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Anguilla	Prodotti ittici	Nuova Zelanda	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Barracuda	Prodotti ittici	Corea	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Cernia	Prodotti ittici	Corea	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Code gamberi	Prodotti ittici	Tailandia	Sottovuoto	Non irraggiato
Corvina	Prodotti ittici	Cina	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Cozze	Prodotti ittici	Cile	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Gamberi <i>black tiger</i>	Prodotti ittici	Cile	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Latterini	Prodotti ittici	Turchia	Sottovuoto	Non irraggiato
Pernice	Prodotti ittici	Gran Bretagna	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Pesce gatto affumicato	Prodotti ittici	Gambia	Sottovuoto	Non irraggiato
Pesce imperatore	Prodotti ittici	Corea del sud	Sottovuoto	Non irraggiato
Pesce pappagallo	Prodotti ittici	Bangladesh	Sottovuoto	Non irraggiato
Pesce persico	Prodotti ittici	Bangladesh	Sottovuoto	Non irraggiato
Puntine di maiale	Prodotti ittici	Olanda	Sottovuoto	Non irraggiato
Rana pescatrice	Prodotti ittici	Cina	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Rana pescatrice	Prodotti ittici	Cina	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Rana pescatrice	Prodotti ittici	Olanda	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Ricciola	Prodotti ittici	Oman	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Rombo	Prodotti ittici	Olanda	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Salmone	Prodotti ittici	Norvegia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Seppie	Prodotti ittici	Indonesia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Seppie	Prodotti ittici	Vietnam	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Tilapia	Prodotti ittici	Tailandia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Triglie	Prodotti ittici	Mauritania	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Pesce corvina	Prodotti ittici	Cina	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Fruento	Vegetali	Italia	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Fruento	Vegetali	Canada	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Fruento	Vegetali	Canada	Prodotto sfuso	Non irraggiato
Fruento	Vegetali	Canada	Prodotto sfuso	Non irraggiato

### Sperimentazione B: applicazione tecnica ESR in pesci sperimentalmente irradiati

L'applicazione della tecnica ESR su alimenti contenenti tessuto cristallino (ossa, lisce di pesce) prevede una fase preparativa estremamente indaginosa, al fine di ottenere la frazione minerale (idrossiapatite) il più possibile priva di parti organiche. Pertanto, con il duplice scopo di ridurre i tempi di analisi ed estendere il campo di applicazione del metodo (EN 1786; Commissione Europea, 1996) a matrici ittiche non ancora validate, per questo disegno sperimentale sono state irradiate 10 squame di pesci (da una cernia e da un barracuda), risultati negativi alla precedente analisi. Tali matrici, sperimentalmente irraggiate alla dose di 0,5 kGy, utilizzando un irraggiatore a raggi a bassa energia (d.d.p.<150 kV) RAD SOURCE Inc.

Mod. RS 2400, sono state successivamente analizzate secondo il metodo descritto nella sperimentazione A.

## Risultati

### Sperimentazione A

Su 83 campioni analizzati, 5 campioni di cosce di rana provenienti dal Vietnam sono risultati positivi. Tutti i 5 campioni sono risultati non conformi in quanto non riportavano in etichetta il trattamento con radiazioni ionizzanti.

### Sperimentazione B

Nelle Figure 1 e 2 sono riportati, a titolo di esempio, gli spettri ESR delle squame di barra-

cuda, rispettivamente non irradiate e irradiate. Da esse si nota nel campione di controllo (non irradiato), oltre al segnale del marker, sempre presente nella parte destra degli spettri, un segnale simmetrico (Figura 1), mentre in quello trattato si nota un debole segnale attribuibile all'idrossiapatite (Figura 2), sovrapposto al segnale nativo tipico degli alimenti non trattati.

## Discussione

I risultati delle nostre indagini mostrano la presenza di alimenti irradiati e non correttamente etichettati sul nostro territorio a conferma di quanto riportato nelle recenti allerte comunitarie (Commissione Europea, 2012) ed

evidenziano la necessità di indirizzare i campionamenti sulle tipologie di prodotti già risultati positivi in precedenti indagini ufficiali (Mangiacotti *et al.*, 2013) o provenienti da Paesi, come il Vietnam, in cui sono attivi numerosi impianti di irraggiamento. Il monitoraggio effettuato su prodotti alimentari pre-

senti in fase di commercializzazione sul territorio italiano tramite i metodi ufficiali, conferma l'affidabilità della tecnica ESR nel controllo ufficiale degli alimenti irradiati non correttamente etichettati o non autorizzati nel territorio dell'Unione europea. Inoltre, la sperimentazione condotta su squame di pesci sperimen-

talmente trattate, pur nei limiti di una ridotta casistica, costituisce una solida base di partenza per estendere il campo di applicazione di metodi già normati ad un settore, quello ittico, in cui il ricorso al trattamento radiante è sempre più frequente. Importante dal punto di vista pratico è anche la riduzione dei tempi di analisi del metodo adottato, in quanto l'applicazione del metodo standard (EN 1786; Commissione Europea, 1996) a matrici complesse quali i pesci richiede normalmente operazioni lunghe per l'estrazione e pulizia della lisca prima di sottoporla alla determinazione analitica. In accordo con i recenti pareri espressi dai panel di esperti della European Food Safety Authority (2011), che hanno esaminato l'efficacia e la sicurezza microbiologica del processo ed i possibili rischi connessi alla formazione di numerose sostanze chimiche prodotte in seguito al trattamento di irradiazione degli alimenti, con conclusioni rassicuranti sull'utilizzo di alimenti irradiati nei limiti stabiliti dall'attuale normativa comunitaria vigente (Direttive 1999/2/CE e 1999/3/CE; Commissione Europea, 1999a, 1999b) e recepita nell'ordinamento nazionale (D. Lgs. n° 94/2001; Repubblica Italiana, 2001), la pratica dell'irradiazione, benché efficace, deve considerarsi soltanto uno dei numerosi processi che possono ridurre la presenza di patogeni negli alimenti.

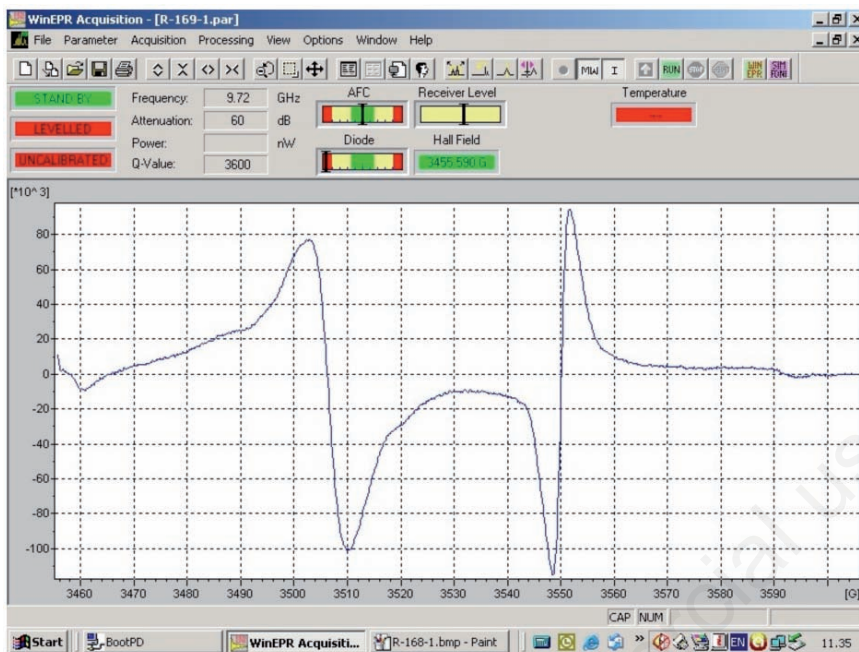


Figura 1. Spettro relativo alle squame di barracuda.

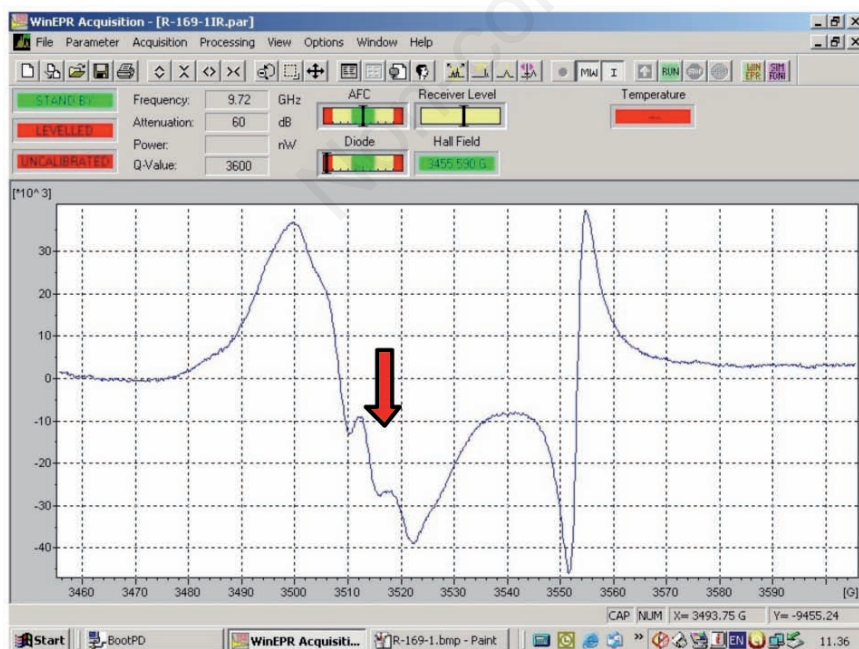


Figura 2. Spettro relativo alle squame di barracuda non irradiate (0 kGy) sperimentalmente irradiate a 0,5 kGy.

## Conclusioni

In conclusione, l'irraggiamento degli alimenti od ingredienti alimentari deve essere considerato parte di un programma integrato di gestione della sicurezza alimentare, oltre che oggetto di analisi e riduzione del rischio, volto a proteggere i consumatori, che comprende buone prassi agricole, produttive e igieniche e applicazione del sistema HACCP. Inoltre, al fine di garantire la libertà di scelta del consumatore ed il rispetto della lista positiva di alimenti ammessi al trattamento negli impianti ed alle dosi autorizzate, devono essere rafforzati i controlli ufficiali nel campo della irradiazione food irradiationalimentare.

## Bibliografia

- Boniglia C, Onori S, Sapora O, 2004. Trattamento degli alimenti con radiazioni ionizzanti. Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia.
- Commissione Europea, 1996. Detection of irradiated food containing bone method by ESR spectroscopy, EN 1786 (1996). Disponibile al sito: [http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/irradiation/1786-1996\\_](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/irradiation/1786-1996_)

- en.pdf
- Commissione Europea, 1999a. Direttiva del Parlamento europeo e del Consiglio del 22 febbraio 1999 relativa al ravvicinamento delle legislazioni degli Stati membri concernenti gli alimenti e i loro ingredienti trattati con radiazioni ionizzanti, 1999/2/CE. In: Gazzetta Ufficiale, L 066, 13/03/1999.
- Commissione Europea, 1999b. Direttiva del Parlamento europeo e del Consiglio del 22 febbraio 1999 che stabilisce un elenco comunitario di alimenti e loro ingredienti trattati con radiazioni ionizzanti, 1999/3/CE. In: Gazzetta Ufficiale, L 066, 13/03/1999.
- Commissione Europea, 2000. Detection of irradiated food containing cellulose method by ESR spectroscopy, EN 1787 (2000). Disponibile al sito: [http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/irradiation/1787-2000\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/irradiation/1787-2000_en.pdf)
- Commissione Europea, 2001. Detection of irradiated food containing crystalline sugar by ESR spectroscopy, EN 13708 (2001). Disponibile al sito: [http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/irradiation/13708-2001\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/irradiation/13708-2001_en.pdf)
- Commissione Europea, 2012. The rapid alert system for food and feed. 2012 annual report. Commissione Europea ed., Lussemburgo.
- Delincée H, 2002. Analytical methods to identify irradiated foods: a review. *Radiat Phys Chem* 63:455-8.
- Eaton GR, Eaton SS, Salikhov KM, 1998. Foundations of modern EPR. World Scientific, Singapore.
- European Food Safety Authority, 2011. EFSA panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (CEF). *EFSA J* 9:1930.
- FAO, 1984. Codex Alimentarius Commission. Codex general standard for irradiated foods and recommended international code of practice for the operation of radiation facilities used for the treatment of food. Vol. 15. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.
- Farkas J, 1998. Irradiation as a method for decontaminating food: a review. *Int J Food Microbiol* 44:189-204.
- Ikeya M, 1993. New applications of electron spin resonance. Dating, dosimetry and microscopy. World Scientific, Singapore.
- Mangiacotti M, Marchesani G, Chiaravalle AE, 2013. Official checks by an accredited laboratory on irradiated foods at an Italian market. *Food Control* 33:307-12.
- Repubblica Italiana, 2001. Decreto Legislativo 30 gennaio 2001, n. 94. Attuazione delle direttive 1999/2/CE e 1993/3/CE concernenti gli alimenti e i loro ingredienti trattati con radiazioni ionizzanti. In: Gazzetta Ufficiale n. 79, 4 aprile 2001.
- Stefanova R, Vasilev VN, Sapassov SL, 2010. Irradiation of food, current legislation frame work and detection of irradiated foods. *Food Anal Method* 3:225-52.
- WHO, 1999. High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with dose above 10 kGy. World Health Organization, Ginevra, Svizzera.