

10 Zusammenfassung

Die Behandlung von Lebensmitteln mit ionisierenden Strahlen wird zur Abtötung von Verderbniserregern und pathogenen Keimen in über 40 Staaten in zunehmendem Maße eingesetzt. In Deutschland ist das Inverkehrbringen derart konservierter Lebensmittel allerdings nicht gestattet.

Zur Überwachung dieses Verbots wurden eine Vielzahl von Verfahren entwickelt, wobei mit keinem davon zuverlässig die Bestrahlung proteinreicher und gleichzeitig fettarmer Lebensmittel, zu denen auch die Nordseegarnele zählt, nachgewiesen werden kann.

Die Bestimmung des Bestrahlungsmarkers o-Tyr, das radiolytisch aus Phe gebildet wird, bietet eine Möglichkeit, bestrahlte Lebensmittel von unbestrahlten zu unterscheiden - die Anwendbarkeit in der Routine ist aber bisher nicht gewährleistet. Da die in publizierten Verfahren angewandte hydrolytische Freisetzung des o-Tyr aus dem Proteinverbund häufig zu Problemen führt, wurde ein Verfahren entwickelt, bei dem das nicht proteingebundene o-Tyr als Marker für eine stattgefundene Bestrahlung bestimmt wird. Dieses Verfahren wurde für den Bestrahlungsnachweis von Nordseegarnelen und deren Produkte validiert.

Aus dem homogenisierten Probenmaterial erfolgte die Gewinnung des Cytosols durch Proteinfällung und Lösungsmittelextraktion. RP-HPLC mit TFA als IPR im sauren Milieu konnte erfolgreich zur Trennung des o-Tyr von dem im Cytosol in wesentlich höherer Konzentration vorhandenem p-Tyr eingesetzt werden. Zur Detektion wurde die Eigenfluoreszenz von o-Tyr ($\lambda_{\text{Ex}} = 275\text{nm}$, $\lambda_{\text{Em}} = 305\text{nm}$) genutzt.

Die elektrochemische Detektion mit einer einzelnen Elektrode war wegen des hohen Oxidationspotentials des o-Tyr nicht spezifisch genug. Die Nachweisgrenze bei UV-Detektion war nicht ausreichend niedrig.

In unbestrahlten Garnelen-Proben konnte o-Tyr im Konzentrationsbereich von 20 µg/kg nachgewiesen werden. Es ist davon auszugehen, daß es sich hierbei um den natürlichen Hintergrundgehalt in Garnelen handelt, da wegen der schonenden Aufarbeitung eine Artefaktbildung als ausgeschlossen gelten kann.

Untersuchung von Garnelenfleisch, das mit Dosen von 1 - 5 kGy bestrahlt wurden, zeigten, daß eine Diskriminierung bestrahlter Proben trotz des Hintergrundgehaltes in unbestrahlten Proben möglich ist. Die o-Tyr-Konzentration in mit 1 kGy behandeltem Garnelenfleisch überstieg die Konzentration in unbestrahlten Proben um das zwanzigfache. Eine Dosimetrie konnte zwar für die im Rahmen dieser Arbeit bestrahlten Garnelen vorgenommen werden, in der Praxis der Lebensmittelüberwachung könnte dies aber problematisch sein, da die Temperatur während der Bestrahlung einen Einfluss auf die Menge des radiolytisch gebildeten o-Tyr hat.

Um die Zuverlässigkeit der Ergebnisse zu überprüfen, wurde eine zweite HPLC-Methode mit stark unterschiedlichen Trennbedingungen entwickelt. Die Trennung erfolgte hier mit basischem pH und NMP als IPR, wobei hier das o-Tyr in anionischer Form vorlag. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zu den mit dem ersten Trennsystem erhaltenen Ergebnisse festgestellt werden.

Mit der Bestimmung von o-Tyr in Garnelen aus einem Warenkorb, der mit unterschiedlichen Garnelenprodukten bestückt war, konnte die Anwendbarkeit des entwickelten Verfahrens auch für weiterverarbeitetes Garnelenfleisch bestätigt werden.

11 Summary

The treatment of foodstuffs with ionising radiation is used in over 40 countries to prevent them from bacterial spoilage and pathogenic germs. In Germany the trade of radiation preserved foodstuffs is prohibited however.

Although numerous methods for the observation of this prohibition have been developed, none of them can prove the irradiation of foodstuffs with a high protein content and a low fat content, like in shrimps, reliably.

The determination of the radiation marker *o*-Tyr, that is formed radiolytically from Phe, is a possible way to distinguish irradiated food from non-irradiated food. But the applicability in routine analysis is not practicable yet. Because the acid hydrolysis step, which is often used in published studies to liberate the amino acids from the proteins, often leads to problems, a method has been developed, where the non-protein bound *o*-Tyr is analysed as a marker for the irradiation. This method has been validated for the irradiation detection of the common shrimp and its products.

After homogenisation of the sample material, protein precipitation and solvent extraction are accomplished to get the cytosol. RP-HPLC with TFA as IPR in acid solution was successfully used to separate *o*-Tyr from *p*-Tyr, which is present in cytosol on a substantial higher level. For the detection the natural fluorescence of *o*-Tyr ($\text{Ex} = 275 \text{ nm}$, $\text{Em} = 305 \text{ nm}$) was utilised.

The electrochemical detection with one single electrode was not specific enough because of the high oxidation potential of *o*-Tyr. The limit of detection of the UV-detection was not sufficient.

In unirradiated shrimp samples *o*-Tyr was detected at a concentration level of $20 \mu\text{g}/\text{kg}$. It can be assumed that this is the naturally occurring background level in common shrimps, since during the smooth sample preparation the formation of artefacts can be expected.

Analysis of samples which were irradiated with doses from 1 to 5 kGy illustrated, that in spite of the backgroundlevel a clear distinction between irradiated and

unirradiated shrimps is possible. The o-Tyr concentration in shrimp meat which was treated with a dose of 1 kGy exceeded the concentration in unirradiated samples 20-fold. A dosimetric measurement could be made for the shrimps which were irradiated for this study but it could be problematic in the routine of the official food enforcement because the temperature during the irradiation process influences the amount of the radiolytic formed o-Tyr.

To confirm the reliability of the results a second HPLC procedure with different separation conditions was invented. The separation was carried out using NMP as an IPR in a basic solution where o-Tyr occurs in its anionic form. No significant differences were found, when the results obtained with the different eluents were compared.

The applicability of the new developed method for shrimp meat could be verified by analysing shrimps from a market basket which was supplied with several different shrimp products.