Met breed scala aan detectietechnieken kijken naar 'vreemde' deeltjes

Identiteit (on)bekend

Na het ontdekken van 'vreemde' deeltjes in een voedingsmiddel moet, om verder onheil te voorkomen, daarvan zo snel mogelijk de identiteit – en daarmee vaak de herkomst – worden vastgesteld. Daarvoor bestaat een breed spectrum aan methoden.

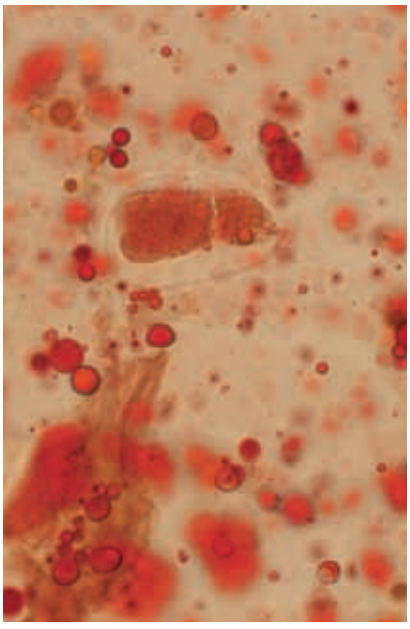
Het kan de beste overkomen: 'vreemde' deeltjes in een zorgvuldig gemaakt product. Om de schade te beperken is het zaak om niet lang te wachten met het achterhalen van de identiteit. Pas dan kan de omvang van een eventueel probleem worden bepaald en een mogelijke herhaling tijdig worden voorkomen. Ook valt dan vast te stellen of en in welke mate de volksgezondheid in het geding is.
Behalve kennis over methoden, is kennis van levensmiddelentechnologie en een systematische aanpak van onderzoek daarbij essentieel.

Eerste stap
Een eerste stap in de identificatie is het verkrijgen van een algemene indruk van de aard van de deeltjes op basis van visueel onderzoek, zowel met het blote oog als op basis van lichtmicroscopische technieken. Met deze laatste kan het oppervlak van materialen tussen zes- en duizendmaal vergroot worden bekeken. Daarmee worden de uiterlijke kenmerken zoals afmetingen, kleur, homogeniteit en vorm van de deeltjes in kaart gebracht. Is het bijvoorbeeld vezelachtig, kristallijn, vetachtig of organisch materiaal? Die eerste indrukken bepalen de specifieke richting van het vervolgonderzoek.

Organisch
Als de 'vreemde' deeltjes van organische oorsprong lijken te zijn, is het mogelijk om met verschillende kleuringstechnieken de aanwezigheid van eiwitten, koolhydraten en vetten (lipiden) zichtbaar te maken. Hierbij wordt met name gebruik gemaakt van licht- en fluorescentiemicroscopie. Door vetachtige componenten te kleuren met de kleurstof Oil Red O kon in een bepaald geval de aanwezigheid van een ongewenste oliecontaminatie in een vloeibaar voedingsmiddel worden aangetoond (zie figuur 1).
In veel gevallen zijn kristallijne en andere lichtbrekende structuren zichtbaar te maken door toepassing van polarisatiemicroscopie. Door deeltjes tussen twee gekruiste polarisatoren te plaatsen, kan afhankelijk van de aard van de deeltjes een verdraaiing plaatsvinden van het gepolariseerde licht. Deeltjes lichten dan op tegen een donkere achtergrond. Een voorbeeld hiervan is de structuur van natief, dus onverstijfseld, zetmeel. Door de bijzondere structuur van zetmeel ontstaat onder gepolariseerd licht een kenmerkend patroon dat bekendstaat als het Malthezer kruis (zie figuur 2). Op basis van de vorm en de grootte van de Malthezer kruizen is de zetmeelbron (tarwe, aardappel, rijst, enzovoort) meestal te herleiden. Met deze techniek werd in bepaalde gevallen de aanwezigheid van een ongewenste zetmeelcomponent in een voedingsmiddel aangetoond.

Autofluorescentie
Een belangrijke indicatie voor de aanwezigheid van plantaardig materiaal is de herkenning van regelmatige structuren. Een combinatie van fluorescentiemicroscopie en structuurherkenning is daarvoor zeer geschikt. Veel structuren in plantaardig materiaal, waaronder eiwitten, hebben namelijk autofluorescerende eigenschappen. Zo zijn in figuur 3 naast oplichtende, sferische structuren, ook parallel slingerende structuren waarneembaar. Vergelijking van deze morfologie met beelden uit de literatuur leerde dat deze structuren karakteristiek zijn voor gerst. Hierin zijn de fluorescerende punten de kafharen en de slingerende structuren de epidermis.

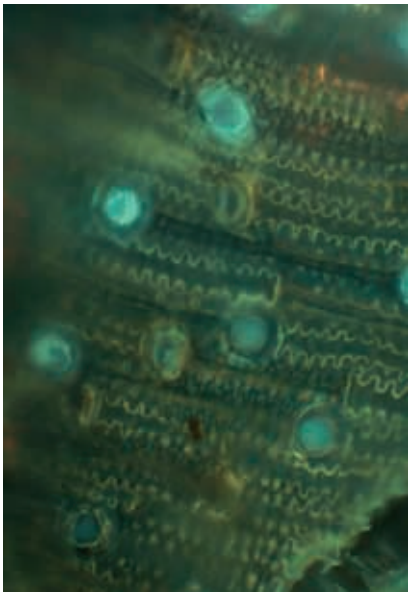
Microanalyse
Naast lichtmicroscopische technieken kunnen ook elektronenmicroscopische technieken worden ingezet. Scanning Elektronen Microscopie kan in combinatie met Röntgen (X-Ray) Micro Analyse (SEM/XRMA) op micrometerniveau het opper-



Figuur 1: Oliecontaminatie (roodgekleurd) in een vloeibaar voedingsmiddel.

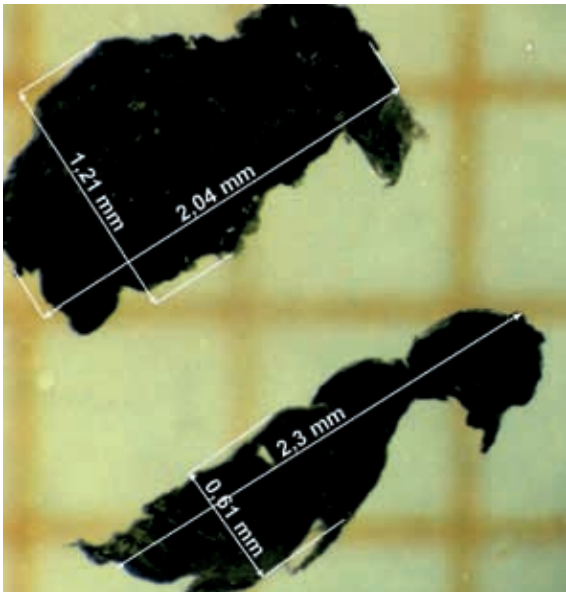
Foto's: TNO

Figuur 2: Malthezer kruizen van een zetmeelbron.



Figuur 3: Fluorescentiebeeld van gerst.

Figuur 4: SEI beelden van katoenvezels.



Figuur 5: Lichtmicroscopische opname van zwarte deeltjes aanwezig in een frisdrank.

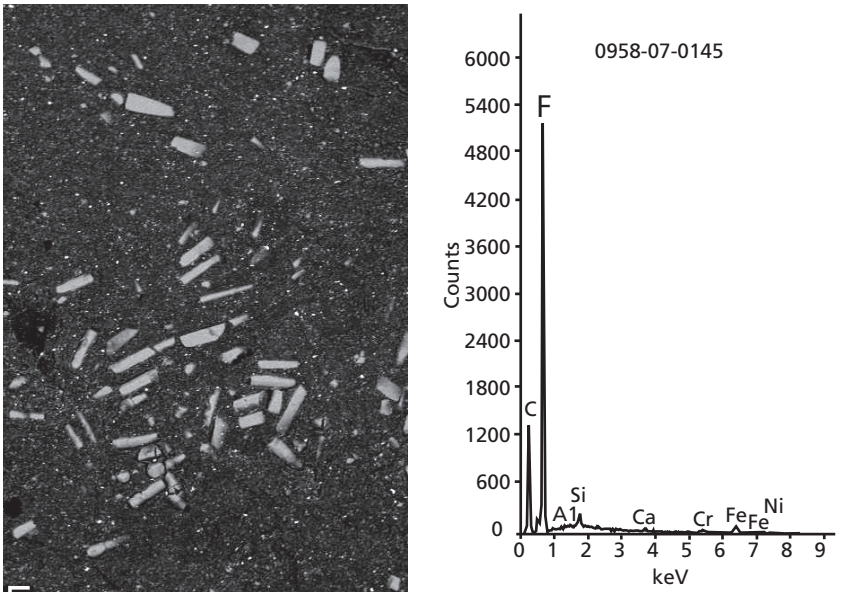
vlak van vaste deeltjes in beeld brengen. Daarbij kunnen tegelijkertijd, zonder dat daarvoor standaarden als referentie nodig zijn, (semi-kwantitatieve) elementanalyses worden uitgevoerd. Zodoende is zowel de oppervlaktestructuur (morfologie), als de (lokale) elementsamenstelling van een vast 'vreemd' deeltje te bepalen.
Met behulp van SEM/XRMA kan het oppervlak van vast materiaal op twee manieren in beeld worden gebracht, namelijk via een beeld gevormd door secundaire elektronen (SEI) of een beeld gevormd door teruggekaatste (backscattered) primaire elektronen (BEI).
Met behulp van SEI kan het buitenoppervlak van een materiaal tot 100.000 maal worden vergroot. Een typisch voorbeeld van de toepassing van deze techniek is het identificeren van cellulosevezels, zoals katoen en papier (zie figuur 4).

BEI-opnamen
BEI-opnamen geven de mogelijkheid om chemische elementen verspreid over het oppervlak van een deeltje te differentieren op basis van het atoomnummer. Delen van een oppervlak met componenten met een relatief laag gemiddeld atoomnummer (bijvoorbeeld koolstof) worden in BEI-opnamen donkerder afgebeeld dan delen met componenten met een hoog gemiddeld atoomnummer (bijvoorbeeld metalen). Dat biedt informatie over de chemische samenstelling en homogeniteit van het materiaal.
Met behulp van SEM/XRMA kunnen ook op bepaalde posities elementanalyses aan het oppervlak van vaste materialen worden uitgevoerd. Op basis van verschillen in röntgenintensiteit van een deeltjesoppervlak, kan de relatieve concentratie van aanwezige elementen worden vastgesteld. Deze techniek kan alle elementen van atoomnummer 6 (koolstof) en hoger detecteren.
De SEM/XRMA techniek is gebruikt bij het achterhalen van kleine zwarte deeltjes die in een frisdrank waren aangetroffen (zie figuur 5). Deze bleken te bestaan uit fluorhoudend rubber dat verstevigd was met glasstaafjes (zie figuur 6). Aan de hand daarvan kon worden achterhaald dat deze deeltjes afkomstig waren van een pakking uit het leidingsysteem.

Toepassingen
De SEM/XRMA techniek bewijst haar waarde bij het vaststellen van de identiteit van deeltjes met relatief veel anorganische elementen. Zo wordt de techniek onder andere ook toegepast bij:
- de karakterisering van glasdeeltjes, waarbij onderscheid gemaakt kan worden naar het type glas, zoals verpakkingsglas of hittebestendig glas. Op basis van het vastgestelde type glas kan informatie worden verkregen over de bron van de contaminatie (introductie tijdens productieproces of anderszins);
- de karakterisering van metaaldeeltjes zoals het vaststellen van het type roestvast staal (gebaseerd op de verhouding tussen nikkel, chroom en molybdeen);
- de karakterisering van kristallen. Een voorbeeld hiervan is de vondst van calciumcarbonaatkristallen in alcoholische dranken. Calciumcarbonaat dat afkomstig kan zijn van onvoldoende onthard water, is in deze dranken minder goed oplosbaar. Dit kan leiden tot de aanwezigheid van witte vlokjes in de vloeistof (zie figuur 7). De kristallijne structuur van de vlokjes en de aanwezigheid van calcium, koolstof en zuurstof als hoofdelementen in de vlokjes, wijzen op de aanwezigheid van calciumcarbonaat als gevolg van gebruik van onvoldoende onthard water.

Calciumcarbonaat bleek de oorzaak van de witte vlokjes in deze drank te zijn

Spectroscopie
Naast microscopische technieken is het ook mogelijk om op basis van spectroscopie informatie over de identiteit van 'vreemde' deeltjes te verkrijgen.
Met micro-Fourier geTransformeerde Infrarood spectroscopie (µ-FTIR) kunnen infrarood spectra worden verkregen



Figuur 6: BEI opname (links) en XRMA spectrum van een zwart deeltje van een fluorhoudend rubber, verstevigd met glasstaafjes.

van het oppervlak van vaste, kleine deeltjes. Door deze te vergelijken met referentiespectra valt na te gaan welke chemische verbindingen in het onderzochte materiaal aanwezig zijn. De µ-FTIR techniek wordt vaak complementair aan de SEM/XRMA techniek ingezet. Voorbeelden waarbij de µ-FTIR techniek uitkomst bracht zijn de karakterisering van kleine, op kunststof lijkende deeltjes zoals de aanwezigheid van kleine stukjes verpakkingsmateriaal in dranken en de karakterisering van kristallen, zoals wijnsteenzuurkristallen (zie figuur 8) in druivensap of wijn.

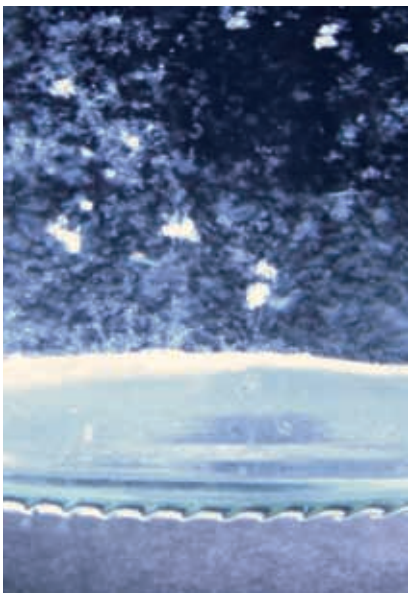
Chromatografie

Deeltjes die oplosbare verbindingen bevatten, kunnen met verschillende gekoppelde gaschromatografische technieken (GC) of vloeistofchromatografische technieken (LC) worden geïdentificeerd. Eventueel kan ook gebruikgemaakt worden van Fourier-Transform ioncyclotron resonantie Massa Spectrometrie (FTMS), een techniek waarbij het mogelijk is om van wateroplosbare verbindingen de exacte massa, en daarmee de elementensamenstelling, te bepalen. Een voorbeeld van een casus waarbij de FTMS-techniek is ingezet, was de identificatie van de actieve verbinding in restanten van tabletten die in tabak werden aangetroffen. Het bleek hier te gaan om restanten van maagtabletten.

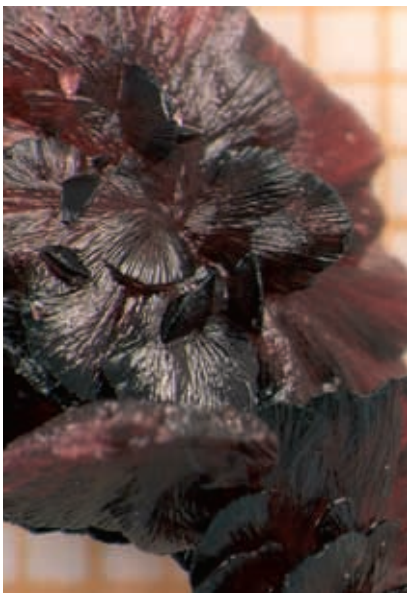
Toxscreen

Naast waarneembare 'vreemde' deeltjes kunnen ook niet direct waarneembare afwijkingen van een voedingsmiddel voorkomen, die samenhangen met de aanwezigheid van gevonden deeltjes. Zo was in een bepaald geval sprake van de aanwezigheid van een dun, plasticachtig materiaal in een voedingsmiddel. Analyse en risicobeoordeling gaven aan dat het materiaal op zich geen relevant risico met zich meebracht. Echter, identificatie van het materiaal bracht aan het licht dat het materiaal ook gebruikt werd voor farmaceutische toepassingen. Naar aanleiding van deze bevinding werd een zogenaamde Toxscreen uitgevoerd op het product. Dit is een gestandaardiseerde set van analysemethoden waarmee snel op de aanwezigheid van een groot scala aan stoffen (waaronder pesticiden en farmaceutische producten), metalen en elementen kan worden gescreend. Daaruit bleek dat het materiaal afkomstig was van een capsule van een geneesmiddel en dat het voedingsmiddel waarin het materiaal was aangetroffen een hoge en mogelijk dodelijke hoeveelheid van het desbetreffende geneesmiddel bevatte. In dergelijke gevallen valt niet altijd uit te sluiten dat er sprake is van opzet.

Met behulp van SEI kan het buitenoppervlak 100.000 maal worden vergroot



Figuur 7: Vlokjes calciumcarbonaat op de bodem van een fles met alcoholische drank.



Figuur 8: Lichtmicroscopische opname van wijnsteenzuurkristallen.

Meer lezen over vreemde voorwerpen? Zie ook het themanummer hierover: vmt 5.

Jan Kersten

Mr. ing. J.G.Th.M Kersten, Operationeel Manager Emergency Response Service, TNO Kwaliteit van Leven, 030-6944388, jan.kersten@tno.nl