

Wykorzystanie emisji biofotonów do parametryzacji jakościowej produktów spożywczych

Streszczenie W badaniach podjęto próbę określenia możliwości wykorzystania zjawiska opóźnionej luminescencji materii organicznej do oceny jej właściwości istotnych z punktu widzenia prozdrowotnego jej wykorzystania. W celu realizacji eksperymentu zbudowano stanowisko pomiarowe wyposażone z fotopowielacz służący do identyfikacji fotonów emitowanych przez wzbudzaną optycznie materię organiczną. Proces pomiaru liczby emitowanych biofotonów odbywał się automatycznie do czego wykorzystano środowisko programowania LabView. Odnotowano różnicowanie liczby biofotonów w obrębie badanych grup produktów spożywczych, stwierdzenie to dotyczy produktów finalnych oraz składowych stanowiących ich recepturę. Zaobserwowano, że istnieje praktyczna możliwość różnicowania materii organicznej pod względem stopnia emisji biofotonów.

Abstract In the following studies there has been made an attempt to determine the possibility of using the phenomenon of delayed luminescence of organic matter to evaluate its properties relevant to its health promotion use. In order to carry out the experiment there was built a measurement station equipped with a photomultiplier tube used to identify the photons emitted by the optically excitable organic matter. The process of measuring the number of emitted bio-photons took place automatically for what LabView programming environment was used. There has been a diversification of the number of bio-photons within the investigated food groups, this statement applies to the final products and components constituting their recipe. It has been observed that there is a practical possibility of differentiation of organic matter in terms of the level of biophotons emissions. **(The use of bio-photons emission for the quality parameterization of food products)**

Słowa kluczowe: biofotony, fotopowielacz, jakość żywności, luminescencja
Keywords: biophotons, photomultiplier, food quality, luminescence

Wstęp

Określanie jakości żywności, szczególnie w przypadku jej wysublimowanych różnic stanowi wyzwanie dla współczesnej technologii oceny produktów spożywczych. Biorąc szczególnie pod uwagę produkty ekologiczne, które posiadają specyficzne walory a ich parametryzacja konwencjonalnymi metodami wymaga dużych nakładów materiałowo-czasowych. Ponadto już na etapie komponentów (dodatków) do produkcji gotowego wyrobu istnieje konieczność sprawdzania ich jakości a następnie określenie wpływu na jakość produktu końcowego. Produkty ekologiczne już na etapie produkcji wymagają specyficznych metod selektywnej eliminacji roślin niepożądanych [1]. Wszystko to powoduje poszukiwania niezawodnej metody identyfikacji przedmiotowej żywności, której jednostkowy koszt wytworzenia jest znacznie wyższy w stosunku jednostkowego kosztu produktów wytworzonych konwencjonalnie. Zakładając, że każdy materiał biologiczny charakteryzuje się pewnego rodzaju energią będącą nośnikiem informacji o jego stanie, zdrowotności czy żywotności wystarczyłoby użyć katalizatora aby ten stan określić, następnie sparametryzować i przedstawić w sposób ilościowy. F.A. Popp [2] rozwinął on koncepcję, według której każdy żywy organizm emituje specyficzne promieniowanie elektromagnetyczne, które między innymi charakteryzuje się koherencją oraz niedużym natężeniem o długości fali w zakresie od 300 do 800 nm a fotony tego promieniowania określa się mianem biofotonów. Wg Sławińskiego [3] nauka nie wykorzystuje ewentualnego potencjału informacyjnego w radiacjach biogenicznych. Istnieje uzasadniona w literaturze przedmiotu ale nie sparametryzowana korelacja między zdrowotnością produktów biologicznych a ich wtórną luminescencją na poziomie fotonów. Wydaje się, że ultra słabe sygnały świetlne mogą służyć jako kanał komunikacyjny pomiędzy komórkami, tkankami, narządami i całym układem biologicznym [4,5,6]. Pomiar wypromieniowanego światła przeprowadza się w widzialnym zakresie widma o najwyższej czułości ($> 10^{-17}$ W). Ta bardzo wysoka czułość pozwala ująć świecenie wtórne jeszcze sekundy do minut po wzbudzeniu badanej próbki. Metoda oceny jest wysoce

zawansowana technologicznie i operuje na poziomie fotonów, które są cząstką elementarną, nie posiadającą ładunku elektrycznego ani momentu magnetycznego, o masie spoczynkowej równej zero ($m_0 = 0$), liczbie spinowej $s=1$. Pole elektromagnetyczne o wysokiej częstotliwości jako zbiór fotonów o wysokiej energii może stanowić najbardziej pojemny i najszybszy nośnik informacyjny. Metoda wykorzystuje to, że wszystkie organizmy, od bakterii po człowieka, stale emitują słabe światło, zwane biofotonami, bądź ultra słabą biochemoluminescencją. Należy zaznaczyć że każdy artykuł spożywczy charakteryzuje się tzw. spektralną optyczną wizytówką określoną wartościami NB, aH, CHI_E oraz CHI_H w zależności od koloru. Naukowcy z Międzynarodowego Instytutu Biofizyki w Neuss w Niemczech skonstruowali urządzenie pomiarowe, które umożliwiło pomiar biofotonów i na tej podstawie określanie m.in. żywotności, świeżości artykułów spożywczych.

Obecnie zgodnie z rozporządzeniem Komisji (WE) 889/2008 próbki żywności badane są w celu wykrycia produktów niedozwolonych w produkcji ekologicznej, sprawdzenia technologii produkcji niezgodnych z zasadami produkcji ekologicznej lub wykrycia ewentualnego skażenia produktami niedozwolonymi (pozostałości pestycydów, antybiotyków, obecności GMO). W 2010 roku Unia Europejska wprowadziła przepisy obligujące wytwórców żywności ekologicznej, która jest produkowana na terenie wspólnoty do umieszczania na opakowaniach specjalnego logo - euroliści (rys.1).



Rys. 1. Europejski znak zdrowej żywności

Ten znak jest przyznawany według ściśle określonych przepisów. Proces przyznania certyfikatu obejmuje kontrolę dokumentacji jak i próbek pobranego produktu. Produkty przetworzone są badane między innymi na zawartość substancji tzn. dozwolonych do stosowania przy produkcji żywności. Zgodnie z wytycznymi Unii Europejskiej bioproducenti mają do wyboru tylko 48 sztucznych barwników, wzmacniaczy smaku i zapachu, podczas gdy producenci tradycyjni mogą

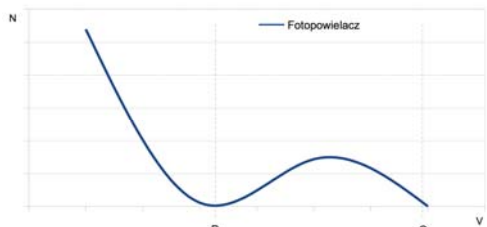
dotychczas do swoich wyrobów 316 takich dodatków. Zatem istnieje konieczność wprowadzenia metody, która pozwoli zweryfikować w szybki i precyzyjny sposób jakość danej partii produktów w odniesieniu do w/w aktów normatywnych.

Metoda pojedynczego zliczania fotonów SPC (Single Photon Counting). Atom (foton) może znaleźć się w stanie wzbudzonym pobierając z otoczenia (absorbując) energię tylko określonymi porcjami. Te porcje energii nazywamy kwantami. Powrót do stanu podstawowego jest związany z emisją kwantu promieniowania elektromagnetycznego - fotonu o energii $h\nu$ równej różnicy energii poziomu wzbudzonego (np. E2) i podstawowego E1.

$$(1) \quad E2 - E1 = h\nu$$

h - stała Plancka, ν - częstość promieniowania elektromagnetycznego

Gdy jest to foton promieniowania widzialnego obserwujemy świecenie. Jako detektory przy pomiarach ultrasłabej bioluminescencji stosuje najczęściej fotopowielacze, które jako dynody wykorzystują płytki mikrokanalikowe - MCP (ang. multichannel plates). MCP są płytkami o grubości kilku milimetrów zbudowanymi z milionów kanalików o średnicy 10-20 mikrometrów, których ścianki pokryte są materiałem o małej pracy wyjścia. Przepływ prądu przez ścianki kanalików generowany różnicą potencjałów (ok. 100V) pomiędzy elektrodami płytki jest przyczyną powstawania wzdłuż nich pola elektrycznego. Stosując odpowiednią anodę można określić rozkład przestrzenny promieniowania, dlatego anody używane do tego celu są podzielone na małe segmenty. Dla większego wzmocnienia sygnału można umieścić pomiędzy anodą i katodą kilka płytek MCP, które są niewrażliwe na działanie pól elektromagnetycznych. Uwzględnienie charakterystyki amplitudowej fotopowielacza (rys.2) oraz nowoczesna elektronika dają bardzo czułą metodę pomiaru i analizy ultrasłabej bioluminescencji - metodę zliczania pojedynczych fotonów (SPC, ang. single photon counting).

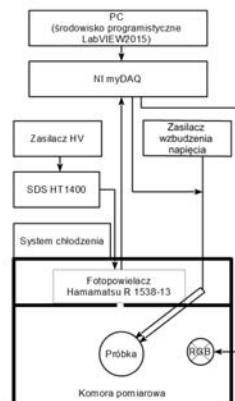


Rys.2 Charakterystyka amplitudowa fotopowielacza

Detektorem w tym układzie jest fotopowielacz, którego wybór jest kluczowy z punktu widzenia tzw. prądu ciemnego i czułości spektralnej.

Układ pomiarowy

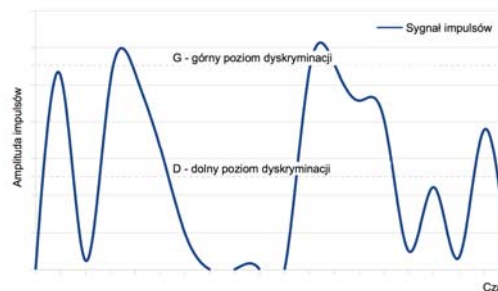
Badania przeprowadzono wykorzystując autorski układ pomiarowy składający się z typowych elementów, które umożliwiały rejestrację biofotonów na podstawie promieniowania elektromagnetycznego emitowanego z organizmów żywych. Do rejestracji i zastosowano detektory o dużej czułości (R 1538-13) i niskim prądem ciemnym. W celu zmniejszenia prądu ciemnego fotopowielacza jest chłodzony. Kolejne elementy układu pomiarowego przedwzmacniacz i wzmacniacz sygnały wychodzące z fotopowielacza są wzmacniane. Dodatkowo w komorze pomiarowej umieszczone jest źródło światła oraz elektrody do stymulacji (wzbudzania) fotonów w badanym materiale sterowane układem czasowym zaprogramowanym w środowisku LabVIEW 2015 (rys. 3).



Rys. 3. Schemat układu pomiarowego

Emitująca światło próbka jest umieszczona w komorze pomiarowej. Komora w zależności od rodzaju wykonywanych badania stabilizowana jest termicznie, a pozwalana na to system chłodzenia.

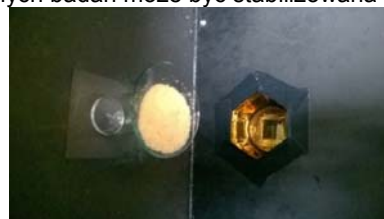
Fotopowielacz (PMT) zamienia sygnały świetlne pochodzące od badanego obiektu na impulsy elektryczne. Ustawiając odpowiedni poziom dyskryminacji w dyskryminatorze progowym przepuszcza tylko te impulsy, których amplituda jest większa od przyjętej amplitudy progowej (rys. 4)



Rys.4. Analiza impulsów. Poziom dyskryminacji.

W dyskryminatorze impulsy elektryczne są też zamieniane na impulsy logiczne. W takiej postaci są zliczane w liczniku.

Emitująca światło próbka (rys. 5) była umieszczona w komorze pomiarowej. Komora w zależności od rodzaju wykonywanych badań może być stabilizowana termicznie.



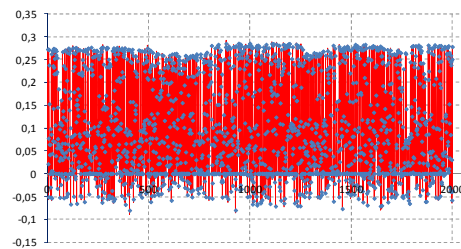
Rys. 5. Widok próbki w czasie przeprowadzania badań

Aby zwiększyć liczbę fotonów docierających do fotokatody stosuje się elipsoidalne zwierciadło, które odbija w kierunku fotopowielacza część z rozpraszającego się na wszystkie strony badanej próbki biologicznej promieniowania. Za komorą ustawia się układ filtrów. Kolejnym elementem układu jest tarcza z wycięciem służąca do periodycznego przesłaniania i odsłaniania próbki w czasie pomiaru. W takim układzie mierzy się na przemian: wartość szumu (gdy nieprzeźroczysta część tarczy przesłania próbkę); wartość sumy szumu i emisji (gdy promieniowanie przechodzi przez otwór w tarczy). Zastosowanie tarczy pozwala zwiększyć dokładność otrzymywanych wyników i jest szczególnie ważne wtedy, gdy natężenie emitowanego promieniowania jest tak małe,

że rejestrowany sygnał niewiele przewyższa szum. Fotopowielacz (PMT) zamienia sygnały świetlne pochodzące od badanego obiektu na impulsy elektryczne. W kolejnych elementach układu pomiarowego przedwzmacniaczu i wzmacniaczu sygnały wychodzące z fotopowielacza są wzmacniane. Ustawiając odpowiedni poziom dyskryminacji w dyskryminatorze progowym (DS) przepuszczamy tylko te impulsy, których amplituda jest większa od pewnej przyjętej amplitudy progowej. W dyskryminatorze impulsy elektryczne są też zamieniane na impulsy logiczne. W takiej postaci są zliczane w liczniku. Otrzymane w ten sposób dane mogą stanowić przedmiot analiz i być opracowywane w celu wyznaczenia wybranych charakterystyk.

Stabilizacja układu pomiarowego

Promieniowanie pochodzące z komórek i tkanek organizmów żywych jest tak słabe, że impulsy generowane przez nie znikłyby w impulsach szumu. Na wielkość prądu ciemnego fotopowielacza ma wpływ materiał fotokatody i jej powierzchnia. Im większa jest powierzchnia katody, tym więcej dla danego materiału, z którego jest ona wykonana, otrzymujemy impulsów szumu. Optymalizacja pomiaru polegała na tym, aby poprzez zastosowanie odpowiedniego układu optycznego zapewnić taką geometrię (obiekt - fotopowielacz), która pozwala na maksymalną rejestrację sygnału przy najmniejszej powierzchni katody. Liczba powstających impulsów ciemnych i wartość mierzonego stosunku sygnału do szumu zależy od typu fotopowielacza. Duże wartości stosunku sygnału do szumu są charakterystyczne dla fotopowielaczy w których charakterystyce amplitudowej występuje tzw. "garb". Taka charakterystyka umożliwia - dzięki zastosowaniu dyskryminatora - łatwe i bardzo efektywne odrzucanie tych wszystkich impulsów ciemnych, które nie są impulsami jednoelektronowymi. Uzyskuje się ją dla fotopowielaczy mających duży współczynnik wzmocnienia pierwszej dynody. Na wielkość otrzymywanego sygnału ma wpływ liczba dynod fotopowielacza. Im fotopowielacz posiada więcej dynod, tym większe uzyskuje wzmocnienie sygnału. Przy pomiarze metodą SPC stosowano fotopowielacz zawierający 8 dynod. Prąd ciemny znacznie obniżono poprzez ochładzanie fotopowielacza ponieważ liczba powstających w fotopowielaczu impulsów ciemnych w dużym stopniu zależy od jego temperatury. Gdy elektrony posiadają dostateczną energię termiczną opuszczają katodę a pochodzące od nich impulsy zostają wzmocnione do takiej amplitudy, która będzie rejestrowana. Dla większości rodzajów fotokatod szum zmniejsza się dwukrotnie przy obniżeniu temperatury o każde 5 stopni. Fotopowielacz, układ pomiarowy, w którym będzie on chłodzony i odizolowany od wpływów otoczenia, pozwalają ustalić optymalne parametry pracy. Wielkość napięcia przy którym pracuje fotopowielacz, wzmocnienie i próg dyskryminacji musi być tak dobrany aby stosunek sygnału do szumu miał największą wartość. W komorze pomiarowej umieszczono próbne źródło emitujące promieniowanie o małym natężeniu. Przy ustalonym wzmocnieniu i napięciu zmieniano próg dyskryminacji mierząc sygnał i szum. Dla określonej wielkości progu dyskryminacji otrzymano maksymalny stosunek sygnału do szumu. Na rysunku 6 przedstawiono pomiar wykonany dla napięcia 1000 V. Podobną procedurę wykonano dla różnych napięć, gdzie otrzymano trójwymiarowe charakterystyki z których możemy odczytać przy jakim napięciu i progu dyskryminacji stosunek S/N jest największy. Dla otrzymanych wartości progu dyskryminacji i napięcia zmieniano wzmocnienie i mierzono stosunek sygnału do szumu.



Rys. 6. Charakterystyka oscylacji zakłóceń ciągu pomiarowego

Z otrzymanej dwuwymiarowej charakterystyki odczytywano wzmocnienie, dla którego S/N jest największe. W ten sposób określano parametry, dla których przedmiotowy układ będzie pracował efektywnie.

Metodyka badań

Metoda badania polega na zadaniu wymuszenia w postaci strumienia świetlnego o sklasyfikowanej długości fali do próbki przygotowanego materiału biologicznego a następnie pomiarze fotonów będących efektem emisji wtórnej pochodzącej z analizowanego materiału biologicznego. Elektroniczny układ wymuszający analizowany materiał umieszczony w komorze pomiarowej zapewnia stabilną regulację długości fali świetlnej. Układ pomiarowy pozwala na automatyczny zapis wyników badań a oprogramowanie użytkowe oparte na LabView umożliwia szybkie dopasowanie charakterystyki procesu pomiaru do specyfiki materiału biologicznego (materiał „surowy”) oraz na każdym etapie produkcji z końcowym produktem włącznie. Próbkę z materiałem biologicznym udostępnione przez firmę „Sante” były zróżnicowane pod względem właściwości reologicznych i stopnia przetworzenia wynikającego z danego etapu produkcyjnego. Ustalono że warunki dla każdej z w/w próbek powinny być identyczne w celu ewentualnego ich wzajemnego porównywania między sobą pod względem emisyjności określającej biożywność. Wzbudzenie próbek następowało poprzez oddziaływanie światłem standardowym o natężeniu 300 lx (długości fali 555 nm) przez 600 s. Biorąc pod uwagę czułość aparatury masę pojedynczej próbki ustalono na poziomie 5 g z dokładnością do 0,1 g (dokładność masy próbki wynika z jej wpływu na wynik pomiaru) bez względu na stan fizyczny badanego materiału biologicznego. W przypadku próbek w postaci cieczy odpowiednia jej ilość umieszczano na szkle laboratoryjnym, podobnie postępowano z próbkami o konsystencji ciał stałych, których strukturę pozostawiano nienaruszoną. Temperatura powietrza w laboratorium w którym przeprowadzono eksperyment wynosiła 22 °C a wilgotność względna powietrza mieściła się w zakresie 50-60%. Przygotowane próbki poddawane były naświetlaniu w w/w warunkach a następnie każda z nich została umieszczona w komorze pomiarowej w sposób umożliwiający standaryzację pomiaru. Po uruchomieniu układu pomiarowego w pierwszej fazie o interwale czasowy 120 s następowała stabilizacja układu zapobiegająca zakłóceniom wynikających z chwilowej destabilizacji warunków standardowych. Po fazie wstępnej następowała faza główna (pomiarowa), której interwał czasowy wynosił 2160 s a częstotliwość próbkowania 4 Hz. Parametry te określono w drodze eksperymentów wstępnych jako konieczne do obserwacji prowadzących do istotnych statystycznie wyników badań. Po fazie głównej następuje faza końcowa pomiaru w której następuje zatrzymanie, ale nie wyłączenie pracy układu pomiarowego

Wynik badań

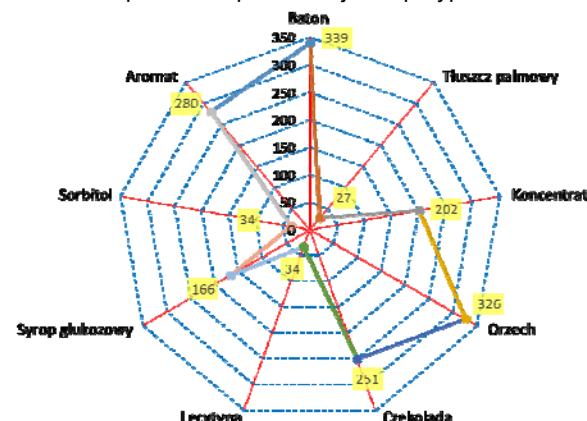
Analizując liczbę biofotonów uzyskanych z produktu „Humus z suszonymi pomidorami” (rys. 7) stwierdzono, że

ich sumaryczna liczba wynosiła 377. Zaobserwowano bardzo duże wyrównanie w wartościach emisji biofotonów między komponentami użytymi do produkcji produktu końcowego. Należy zaznaczyć, że wartość emisji biofotonów produktu finalnego choć największa nie odbiegała zasadniczo od średniej wartości emisji biofotonów wybranych komponentów.



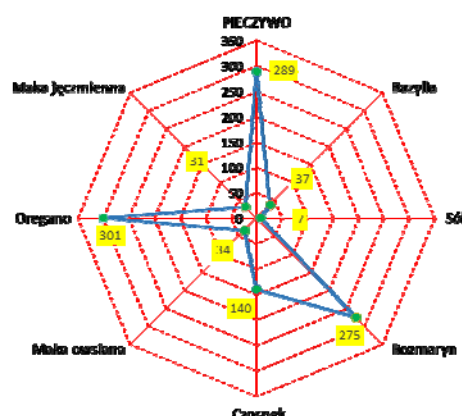
Rys. 7. Liczba fotonów wyemitowanych z próbki żywności „Humus z suszonymi pomidorami”

Liczba biofotonów uzyskanych z produktu „Baton” (rys.8) wynosiła 339. Należy jednak zwrócić uwagę na strukturę emisyjności biofotonów przez komponenty wchodzące w skład receptury przedmiotowego produktu końcowego, która charakteryzuje się niewielkim wzajemnym zróżnicowaniem a wartości bezwzględne liczby odnotowanych biofotonów nie odbiegają znacznie od tej liczby stwierdzonej w produkcie końcowym z wyjątkiem trzech komponentów podobnie jak w przypadku



Rys. 8. Liczba fotonów wyemitowanych z próbki żywności „Baton”

Najwyższą wartością emisyjności biofotonów wynoszącą 326 spośród półproduktów charakteryzował się „orzech” i była niższa tylko o 13 biofotonów w stosunku do ich liczby w produkcie końcowym. Na rysunku 9 przedstawiono strukturę emisyjności biofotonów w przypadku produkcji produktu „PIECZYWO”. Odnotowano że produkt finalny charakteryzował się emisyjnością wynoszącą 289 biofotonów, co było wartością niższą o 12 fotonów w stosunku do emisyjności oregano będącego jednym z komponentów produktu końcowego. Wysokim poziomem emisyjności wynoszącym 275 biofotonów charakteryzował się rozmaryn natomiast najmniejszą emisyjnością wśród komponentów odnotowano w przypadku soli morskiej gdzie wynosiła 7 biofotonów.



Rys. 9. Liczba fotonów wyemitowanych z próbki żywności „PIECZYWO”

Podobną jakościowo strukturą charakteryzowała się energii biofotonów (rys. 15), gdzie wartość bezwzględna energii biofotonów w produkcie „PIECZYWO” wynosiła 85,1 jednostki.

Podsumowanie

Przeprowadzone doświadczenie pozwala zaobserwować logiczne zależności między liczbą emitowanych fotonów przez badane próbki a stopniem ich przetworzenia oraz koncentracją substancji czynnych. Można oczekiwać, że mniejsza liczba emitowanych fotonów jest związana z większą zawartością substancji pogarszających stan produktu żywnościowego, natomiast większa liczba emitowanych fotonów wiąże się z walorami prozdrowotnymi żywności poddanej analizie. Reasumując metoda pozwala na różnicowanie produktów żywnościowych ale wymaga jeszcze uszczegółowienia poprzez dodatkowe badania.

Autorzy: dr hab. inż. Paweł KIELBASA, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, E-mail: Pawel.Kielbasa@ur.krakow.pl, dr inż. Tomasz DRÓDZ, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, E-mail: Tomasz.Drozd@ur.krakow.pl, dr inż. Piotr NAWARA, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, mgr Magdalena DRÓDZ, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Nauk o Żywności, E-mail: magdalena.i.drozd@gmail.com

LITERATURA

1. Kielbasa P, Pikul K., Drózd T., Nawara P., Nęcka K., Oziembłowski M., Lis S., Tomasiak M., Ostafin M. 2016. Wykorzystanie promieniowania mikrofalowego do selektywnej eliminacji flory w jej początkowym okresie rozwoju. Przegląd Elektrotechniczny, nr 12, S. 65-69.
2. Ruth B., Popp F. A. 1976. Experimentelle Untersuchungen zur ultraschwachen Photonenemission biologischer Systeme. Zeitschrift für Naturforschung, 31c, 741-745
3. Slawinski J. 1990. Necrotic photon emission in stress and lethal interactions. Curr. TopicsBiophys. 19, 8-27.08.
4. POPP, F.A., 1979: *Photon storage in biological systems*. W: Electromagnetic Bioinformation. Proceedings of the Symposium, (Eds.) E.A. Popp, G. Becker, H. L. König i W. Peschka, 123- 149. Marburg, 5 September 1977. Miinchen :Urban Schwizenberg.
5. POPP, F.A., 1983: *Electromagnetic control of cell processes*. W : Proceedings of International Symposium on Wave Therapeutics. Interaction of Non-Ionizing Electromagnetic Radiation with Living Systems, (Ed) Z. W. Wolkowski, 60-94, Versailles, May 19-20, 1979. Paris.
6. POPP F.A., 1992: *Biologia światła*. Wyd. Wiedza Powszechna. ISBN 83-214-0817-6