

Ελληνικό Ινστιτούτο Συσκευασίας για την Ποιότητα και την Ασφάλεια στην Αγροδιατροφή

Εξακρίβωση της γνησιότητας των τροφίμων και προστασία του
καταναλωτή από απάτη, νοθεία ή ακατάλληλη συσκευασία

Χρήση φασματοσκοπικών τεχνικών ανίχνευσης νόθευσης σε τρόφιμα

FTIR

Η φασματοσκοπία FT-IR αποτελεί μία τεχνική ανάλυσης τροφίμων που χαρακτηρίζεται από ταχύτητα, χαμηλό κόστος και δεν απαιτείται πολύπλοκη προετοιμασία του δείγματος, σε αντίθεση με τις συμβατικές τεχνικές για την αξιολόγηση της ποιότητας των τροφίμων. Κάθε δείγμα απορροφά ποσότητα από την εκπεμπόμενη ακτινοβολία και κάποια άλλη ποσότητα αυτής διέρχεται μέσα από αυτό. Η απορρόφηση διαφέρει από δείγμα σε δείγμα, επομένως για κάθε δείγμα προκύπτει ένα ξεχωριστό φάσμα το οποίο αποτελεί το «αποτύπωμα» του τρόφιμου (Saadat Saeida, et. al., 2022).

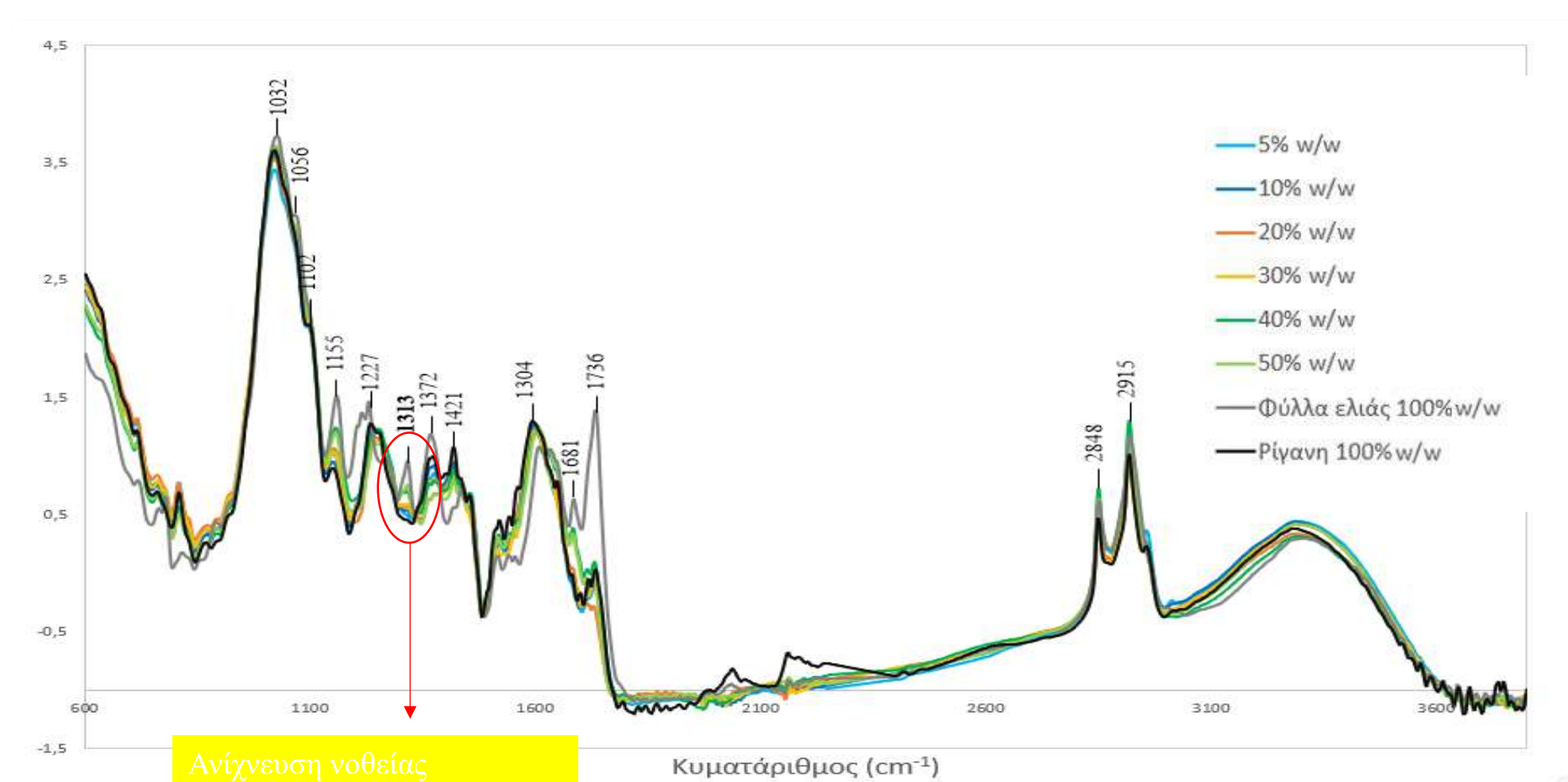


Φωτογραφία 1. FT-IR

Μερικά από τα τρόφιμα που είναι επιρρεπή σε κάθε είδους νοθεία είναι το γάλα, τα δημητριακά, τα μπαχαρικά, το ελαιόλαδο, τα ψάρια, το μέλι, το σιρόπι σφενδάμου, ο καφές, το τσάι, το κρασί και ορισμένοι χυμοί φρούτων (B. Moore et al. 2012). Συγκεκριμένα, τα προϊόντα διατροφής υψηλής ποιότητας, όπως το κρέας, τα μπαχαρικά, τα βότανα, το μέλι, το ελαιόλαδο, και ο καφές είναι ιδιαίτερα ευάλωτα στη νοθεία με οικονομικά κίνητρα λόγω των υψηλών εισοδημάτων που προκύπτουν, ιδιαίτερα όταν παράγονται και παρέχονται μέσω πολύπλοκων αλυσίδων εφοδιασμού. (Black et al. 2016; Galvin-King et al. 2018; Valand, R., et. al., 2019). Συχνό φαινόμενο αποτελεί η νοθεία μπαχαρικών με απώτερο στόχο την αύξηση του κέρδους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η νοθεία ρίγανης με φύλλα ελιάς, φύλλα μυρτιάς, φύλλα από φουντούκι, φύλλα κίστου και φύλλα σουμάκ (Black et al. 2016).

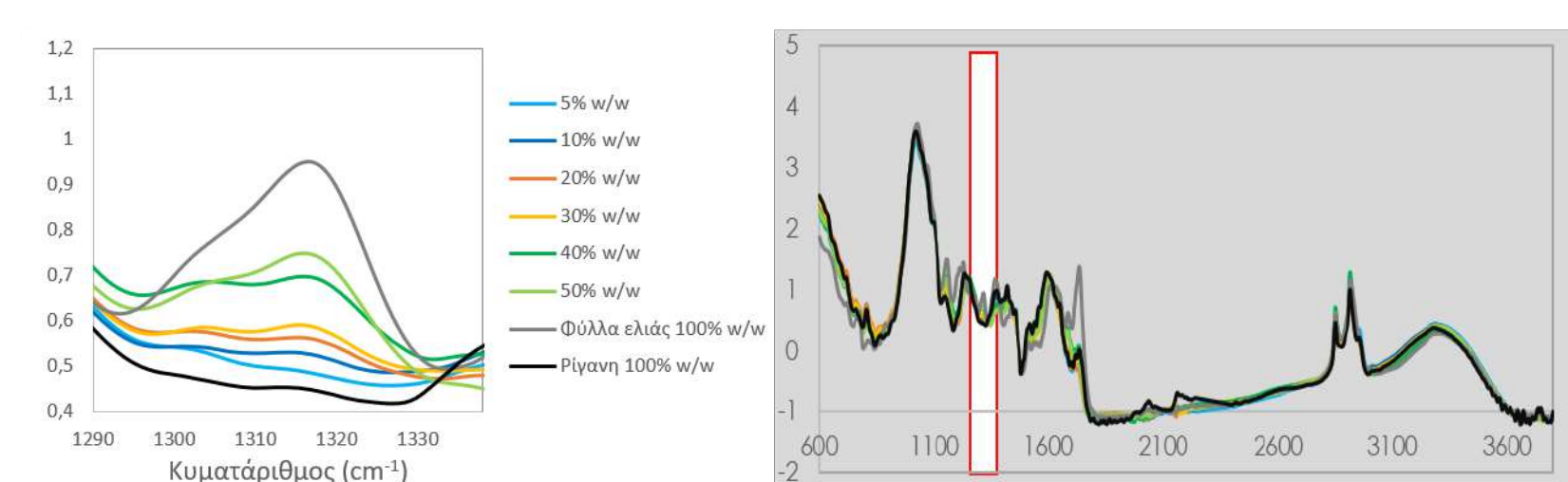
Πειραματική πορεία

Για την ανίχνευση νοθείας της ρίγανης με φύλλα ελιάς, παρασκευάστηκαν δείγματα με συγκεντρώσεις φύλλων ελιάς 5, 10, 20, 30, 40, 50% w/w, καθώς επίσης και δείγματα καθαρής ρίγανης και φύλλων ελιάς και λήφθηκαν τα αντίστοιχα φάσματα υπέρυθρου (Γράφημα 1).



Γράφημα 1. Νοθεία ρίγανης με φύλλα ελιάς. Φάσματα απορρόφησης δειγμάτων

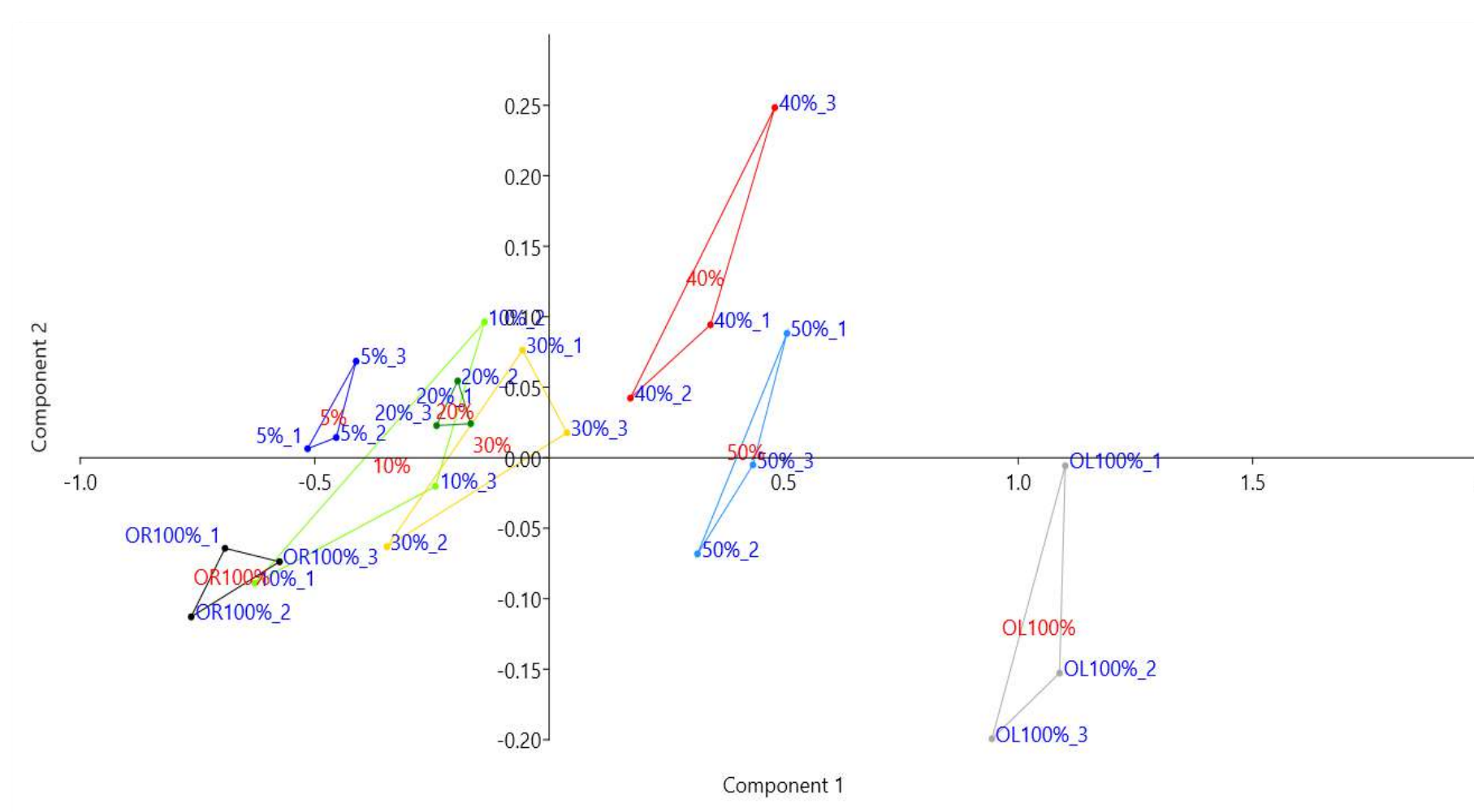
Υπάρχουν τέσσερις περιοχές ενδιαφέροντος στα φάσματα, με την πιο σημαντική να είναι μεταξύ 1100 και 1400 cm^{-1} , η οποία αποδίδεται σε δονήσεις δεσμών C-O των υδροξυλομάδων των αλκοολών. Η περιοχή στους 1400-1500 cm^{-1} αποδίδεται σε δονήσεις τάσης δεσμών C-O και C-C των ομάδων φαινυλίου, η περιοχή 1500-1600 cm^{-1} αποδίδεται σε δονήσεις αρωματικών ομάδων και σε δονήσεις κάμψης N-H και η περιοχή 1600-1700 cm^{-1} αποδίδεται σε δονήσεις κάμψης δεσμών N-H και τάσης δεσμών C=O που εμφανίζονται σε αλδεΐδες, κετόνες, εστέρες, ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκερίδια (Black, C., et. al., 2016). Στη περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος, στο εύρος 1800-900 cm^{-1} , παρατηρούνται διαφορές μεταξύ των φασμάτων ρίγανης και φύλλων ελιάς. Οι διαφορές αποδίδονται σε δονήσεις κάμψης και τάσης που χαρακτηρίζουν τις λειτουργικές ομάδες των ενώσεων που χαρακτηρίζουν τα δύο είδη. Όπως φαίνεται από το **Γράφημα 2**, κατά τη νοθεία της ρίγανης με φύλλα ελιάς, δημιουργείται μία νέα κορυφή στο εύρος 1300-1340 cm^{-1} , και όσο αυξάνεται το ποσοστό νοθείας, τόσο αυξάνεται το η ένταση της κορυφής αυτής (Black, C., et. al., 2016).



Γράφημα 2. Νοθεία ρίγανης με φύλλα ελιάς στο εύρος 1290-1340 cm^{-1}
Αύξηση του ποσοστού νοθείας → Αύξηση έντασης κορυφής στους 1313 cm^{-1}

Αποτελέσματα

Το Γράφημα 3 απεικονίζει τα αποτελέσματα μετά από ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (PCA) για τη φασματική περιοχή 1290-1340 cm^{-1} των δειγμάτων ρίγανης. Παρατηρείται ότι τα δείγματα διαχωρίζονται αποτελεσματικά κατά μήκος του άξονα x και με φορά από αριστερά προς τα δεξιά όσο αυξάνεται το επίπεδο νοθείας φανερώνοντας την ικανότητα της μεθόδου να διαχωρίζει τα νοθευμένα με φύλλα ελιάς δείγματα ρίγανης σε ποσοστό από 5%.



Γράφημα 3. Νοθεία ρίγανης με φύλλα ελιάς. Πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση – PCA στο εύρος 1290-1340 cm^{-1}

Βιβλιογραφία

- Black, C., Haughey, S. A., Chevallier, O. P., Galvin-King, P. & Elliott, C. T. (2016). A comprehensive strategy to detect the fraudulent adulteration of herbs: The oregano approach. *Food Chemistry*, 210, 551-557
- Galvin-King, P., Haughey, S. A. & Elliott, C. T. (2018). Herb and spice fraud; the drivers, challenges and detection. *Food Control*, 88, 85-97.
- Moore, J. C., Spink, J., & Lipp, M. (2012). Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. *Journal of food science*, 77(4), R118-R126.
- Saadat Saeida, Pandva Hardi, Dey Aavush, Rawtani Deepak (2022). Food forensics: Techniques for authenticity determination of food products. *Forensic Science International*, 333, 111243
- Valand, R., Tanna, S., Lawson, G., & Bengtström, L. (2019). A review of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy used in food adulteration and authenticity investigations. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1-20.

Ελληνικό Ινστιτούτο Συσκευασίας για την Ποιότητα και την Ασφάλεια στην Αγροδιατροφή

Εξακρίβωση της γνησιότητας των τροφίμων και προστασία του
καταναλωτή από απάτη, νοθεία ή ακατάλληλη συσκευασία

Χρήση φασματοσκοπικών τεχνικών ανίχνευσης νόθευσης σε τρόφιμα

MSI

Η πολυφασματική απεικόνιση (MSI) είναι μία ταχεία, μη επεμβατική μέθοδος, εύκολη στην εφαρμογή. Χαρακτηρίζεται από χαμηλό κόστος, δεν απαιτεί καμία προετοιμασία του δείγματος και το δείγμα παραμένει άθικτο μετά την λήψη της εικόνας. Επίσης, παρέχει μια γρήγορη εκτίμηση της ομοιομορφίας ακόμη και ανομοιογενών δειγμάτων.

Χρησιμοποιεί πολλαπλά μήκη κύματος από την υπεριώδη ακτινοβολία έως το εγγύς υπέρυθρο φάσμα, επιτρέποντας γρήγορο και ακριβή προσδιορισμός του χρώματος, της υφής και της πιθανής χημικής σύνθεσης της επιφάνειας των υπό εξέταση δειγμάτων. Συγκεκριμένα, η πολυφασματική απεικόνιση είναι ένας συνδυασμός της φασματοσκοπίας ορατού της φασματοσκοπίας των δονήσεων και της υπολογιστικής όρασης (Computer vision). Χρησιμοποιώντας τεχνολογία LED συνδυάζει μετρήσεις από 18 μήκη κύματος (405, 435, 450, 470, 505, 525, 570, 590, 630, 645, 660, 700, 850, 870, 890, 910, 940 και 970 nm) σε μία ενιαία, υψηλής ανάλυσης, πολυφασματική εικόνα. Κάθε pixel στην εικόνα αποτελεί ένα φάσμα. Το σύστημα καταγράφει τις ανακλάσεις στην επιφάνεια του δείγματος με μία μονοχρωματική πρότυπη συσκευή.

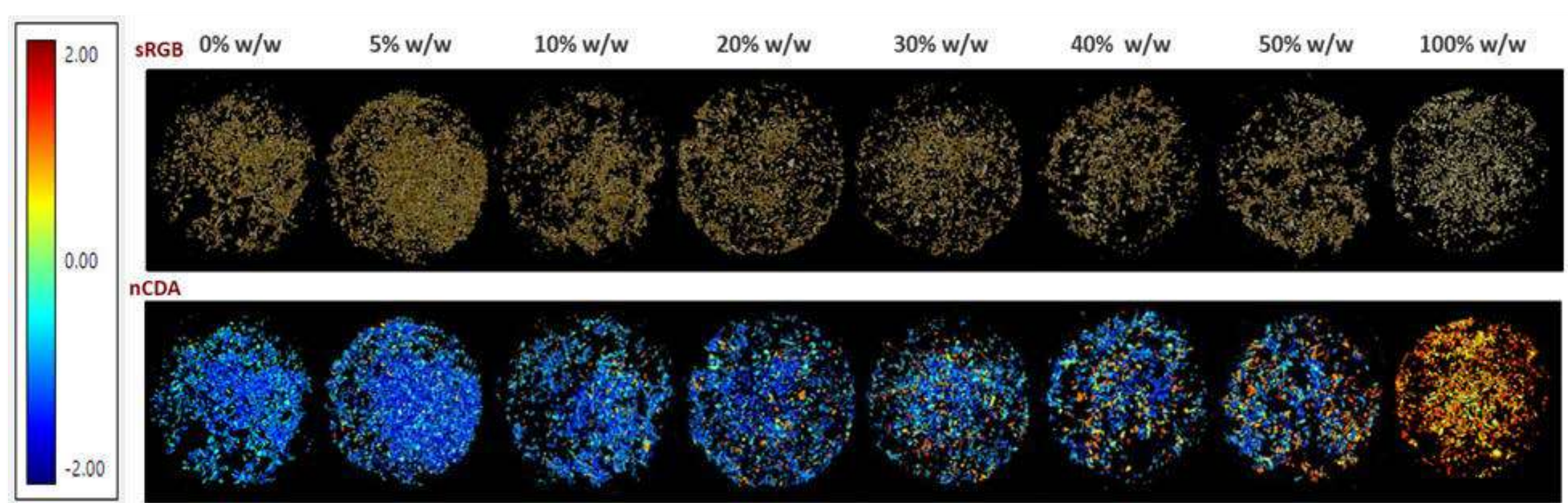


Φωτογραφία 1. Συσκευή πολυφασματικής απεικόνισης

Πειραματική πορεία

Η νοθεία μπαχαρικών αποτελεί συχνό φαινόμενο με χαρακτηριστικό παράδειγμα τη νοθεία ρίγανης με φύλλα ελιάς, φύλλα μυρτιάς, φύλλα από φουντούκι, φύλλα κίστου και φύλλα σουμάκ (Black et al. 2016). Για την ανίχνευση νοθείας της ρίγανης με φύλλα ελιάς, εξετάστηκαν δείγματα με συγκεντρώσεις φύλλων ελιάς 5, 10, 20, 30, 40, 50% w/w, καθώς επίσης και δείγματα καθαρής ρίγανης και φύλλων ελιάς.

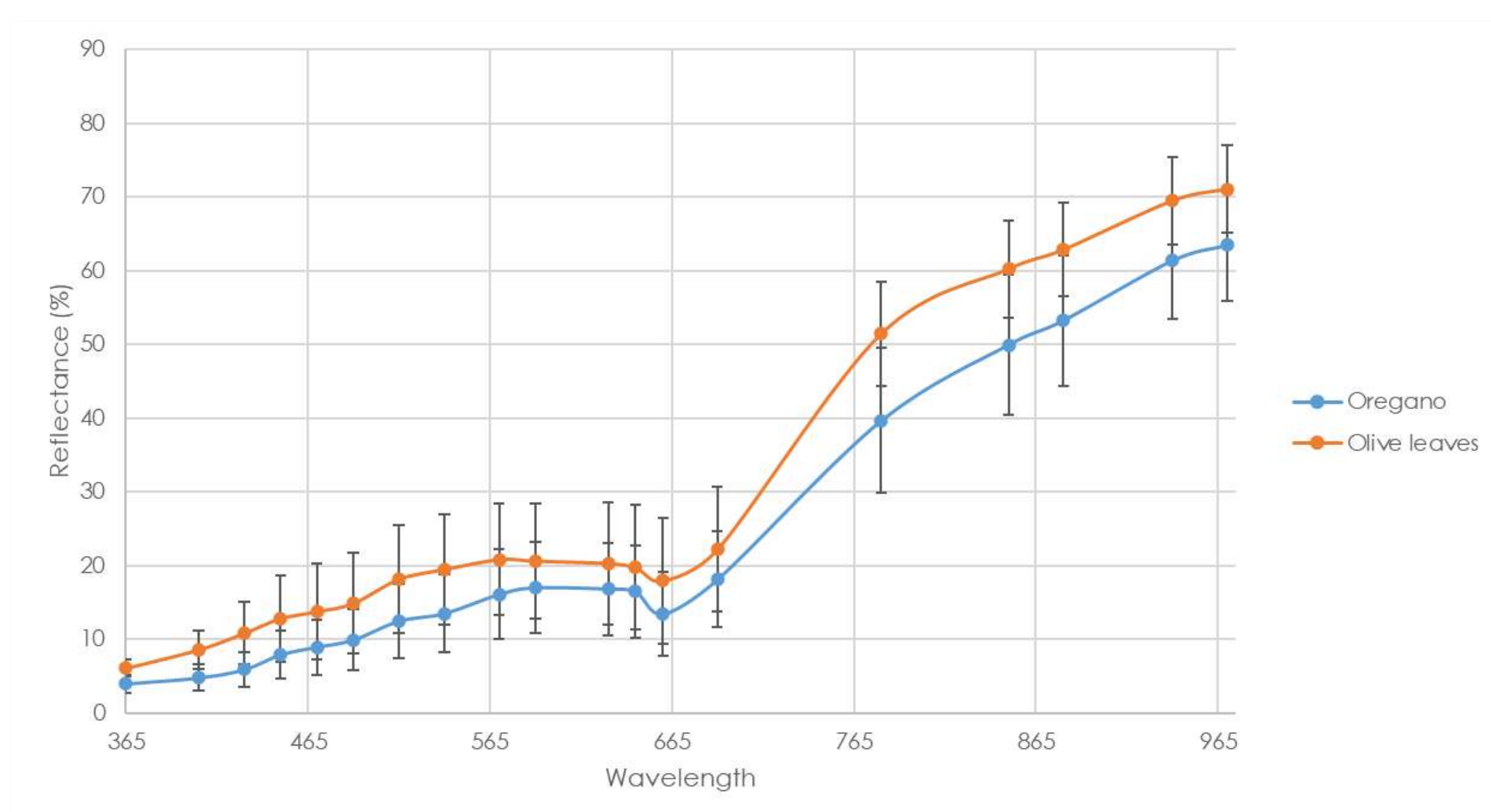
Αρχικά έγινε λήψη των εικόνων των δειγμάτων (Εικόνα 2, sRGB) και επεξεργασία μέσω του υπολογιστικού εργαλείου Transformation builder με τη μέθοδο nCDA. Μέσω των πληροφοριών που λήφθηκαν από τις εικόνες των καθαρών δειγμάτων ρίγανης και φύλλων ελιάς, προέκυψε ένας μετασχηματισμός που εφαρμόστηκε στις εικόνες όλων των δειγμάτων.



Εικόνα 1: Απεικόνιση φωτογραφιών των δειγμάτων (πάνω) και επεξεργασμένων εικόνων μέσω της μεθόδου nCDA (κάτω) για τα διαφορετικά επίπεδα νοθείας ρίγανης με φύλλα ελιάς.

Αποτελέσματα

Το αποτέλεσμα του μετασχηματισμού που εφαρμόστηκε ήταν η σαφής διάκριση των φύλλων ελιάς από τη ρίγανη με διαφορετικό χρώμα (Εικόνα 2, nCDA). Όπως αναμενόταν, όσο αυξάνεται το επίπεδο νοθείας, τόσο αυξάνεται και η περιοχή που καταλαμβάνει το κόκκινο χρώμα. Στο Γράφημα 1 εμφανίζεται το φάσμα ανάκλασης που προκύπτει από τις 19 τιμές των δειγμάτων ρίγανης και ελιάς.



Γράφημα 1. Φάσμα ανάκλασης των φύλλων ρίγανης συγκριτικά με φύλλα ελιάς σε μήκη κύματος 365-965 nm

Με την τεχνική MSI και το λογισμικό που τη συνοδεύει, στα διαχωρισμένα πλέον φύλλα ρίγανης και ελιάς μετρήθηκε η συνολική επιφάνειά τους και το ποσοστό τους όπως εμφανίζεται στον πίνακα 1. Μετρώντας την επιφάνεια που κατέχουν συγκεκριμένα mg δείγματος ρίγανης και ελιάς, υπολογίστηκε ο λόγος βάρους φύλλων ελιάς προς ρίγανη στο 1,58/1. Αντίστοιχα υπολογίστηκε από τα ποσοστά επιφάνειας το ποσοστό νοθείας όπως τα διέκρινε το λογισμικό, εμφανίζοντας απόκλιση 3,36% από τις πραγματικές τιμές.

Δείγμα (w/w)	Επιφάνεια φύλλων ελιάς (%)	Επιφάνεια φύλλων ρίγανης (%)	Μετρούμενο ποσοστό νοθείας (ρίγανη/ελιά) (w/w)
5% ελιά	4.4	95.6	6,95
10% ελιά	7	93	11,06
20% ελιά	14	86	22,12
30% ελιά	15.1	84.9	23,86
40% ελιά	26	74	41,08
50% ελιά	36.6	63.4	57,83

Πίνακας 1. Ανάλυση ποσοστών νοθείας ρίγανης με φύλλα ελιάς από MSI

Βιβλιογραφία

- Black, C., Haughey, S. A., Chevallier, O. P., Galvin-King, P. & Elliott, C. T. (2016). A comprehensive strategy to detect the fraudulent adulteration of herbs: The oregano approach. *Food Chemistry*, 210, 551-557

Ελληνικό Ινστιτούτο Συσκευασίας για την Ποιότητα και την Ασφάλεια στην Αγροδιατροφή

Εξακρίβωση της γνησιότητας των τροφίμων και προστασία του
καταναλωτή από απάτη, νοθεία ή ακατάλληλη συσκευασία

Χρήση φασματομετρικών τεχνικών ανίχνευσης νόθευσης σε τρόφιμα

IRMS

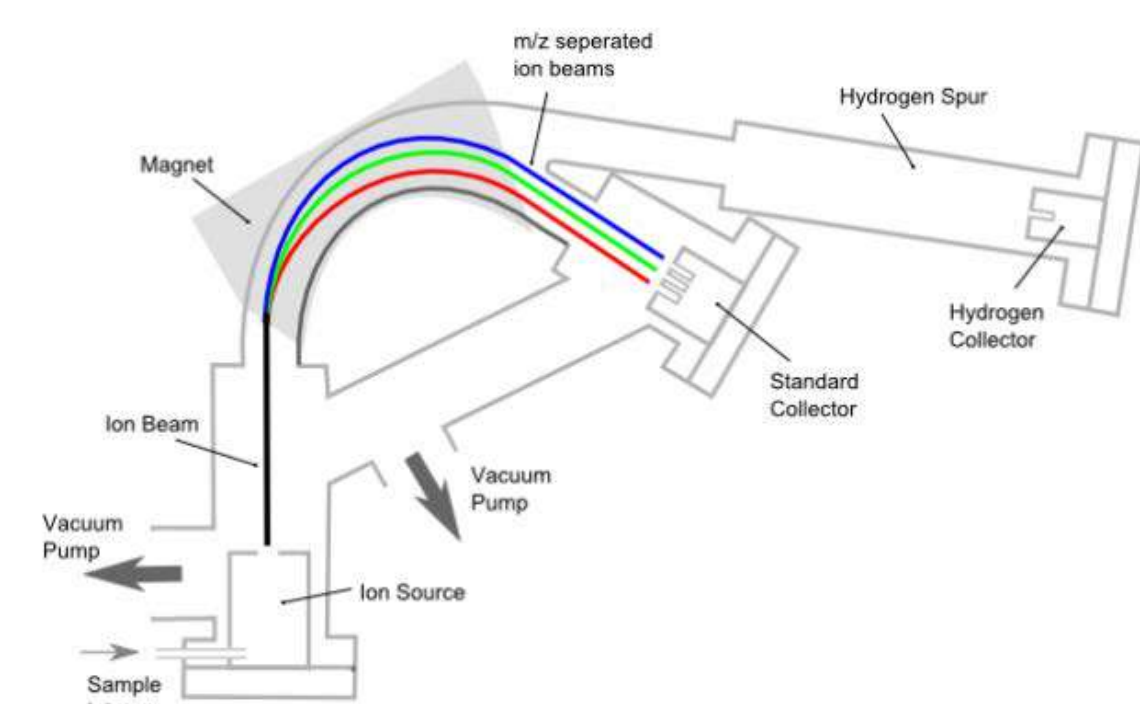
Η φασματομετρία μάζας αναλογίας ισοτόπων (IRMS) είναι μία μέθοδος που έχει εφαρμοστεί σε πολλές μελέτες για την ανίχνευση της προέλευσης τροφίμων καθώς χαρακτηρίζεται από υψηλή ταχύτητα, ευαισθησία, ακρίβεια είναι επαναληψιμότητα. Πρόκειται για μία μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού και προσδιορισμού δομής στοιχείων και ενώσεων, που βασίζεται στον ιοντισμό ατόμων ή μορίων ή την παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων μορίων και στην καταγραφή της σχετικής έντασης του ιοντικού ρεύματος που αντιστοιχεί σε κάθε λόγο μάζας προς φορτίο (m/z) (Katerinopoulou, K., et. al., 2020).

Ο λόγος ισοτόπων (IR) ενός στοιχείου X είναι ο λόγος της συγκέντρωσης του βαρύτερου ισοτόπου (σπάνιο) προς τη συγκέντρωση του ελαφρύτερου (κοινό) που υπάρχει σε δείγμα. Λόγω της πολύ μικρής απόλυτης αφθονίας των σπάνιων ισοτόπων, η σταθερή σύνθεση ισοτόπων εκφράζεται, εξ ορισμού, ως η διαφορά στην αφθονία των ισοτόπων σε σχέση με το διεθνές αποδεκτό πρότυπο με μονάδα μέτρησης των ισοτοπικών λόγων το delta (δ). Το “δέλτα” είναι η διαφορά του ισοτοπικού λόγου ενός στοιχείου σε μια ουσία, από μια πρότυπη τιμή (standard) επί 1000. Το “δέλτα”, είναι η «ταυτότητα» του κάθε υλικού.

Ο ισοτοπικός λόγος (βαρύτερο/ελαφρύτερο) διαφοροποιείται αρκετά κατά τις φυσικές διεργασίες (πχ. εξάτμιση, τήξη, διάχυση) και είναι ενδεικτικός της γεωλογίας, των περιβαλλοντικών συνθηκών (ακτινοβολία, κύκλοι φωτός, θερμοκρασία, βροχόπτωση), και των γεωργικών διεργασιών σε μια δεδομένη τοποθεσία (Zhao et al., 2014).



Φωτογραφία 1. IRMS

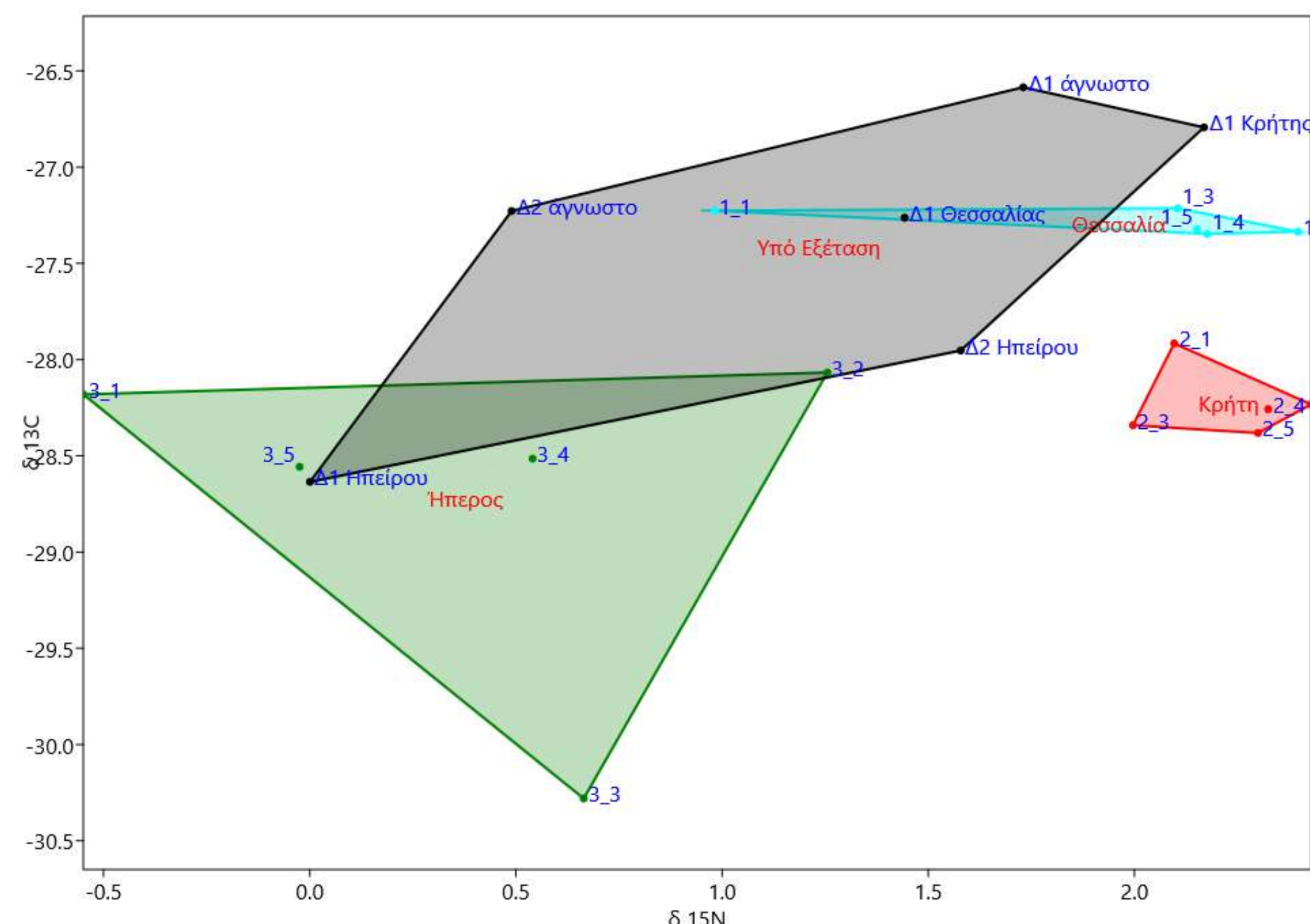


Διάγραμμα 1. Αρχή λειτουργίας IRMS

Προσδιορισμός γεωγραφικής προέλευσης ρίγανης Πειραματική πορεία

Συλλέχθηκαν 15 συσκευασμένα δείγματα ρίγανης γνωστής προέλευσης από τοπικό κατάστημα (5 δείγματα από την ορεινή Ήπειρο, 5 δείγματα Καρδίτσας, 5 δείγματα Κρήτης) και 6 συσκευασμένα δείγματα ρίγανης για εξέταση με αναγραφή ή χωρίς αναγραφή προέλευσης. Από τα υπό εξέταση δείγματα δύο δεν ανέγραφαν προέλευση, δύο έγραφαν από Ήπειρο, ένα από Κρήτη και ένα Θεσσαλία. Τα δείγματα κονιορτοποιήθηκαν σε μορφή πούδρας και χρησιμοποιήθηκαν στη συσκευή IRMS.

Για σύγκριση χρησιμοποιήθηκαν 2 πρότυπες ουσίες με γνωστές τιμές δN και C, αλεύρι σίτου και καζέϊνη, σε ίδιες ποσότητες.



Γράφημα 1 Απεικόνιση τιμών δ για ^{13}C και για ^{15}N για 5 δείγματα ρίγανης Θεσσαλίας εμπορίου (με περιγράμμιση με γαλάζιο χρώμα) 5 δείγματα ρίγανης εμπορίου Ηπείρου (με περιγράμμιση με πράσινο χρώμα) και 5 δείγματα ρίγανης Κρήτης (με περιγράμμιση με κόκκινο χρώμα) και 6 δείγματα υπό διερεύνηση (με περιγράμμιση με μαύρο χρώμα) Τα δείγματα ρίγανης από Θεσσαλία αναγράφονται ως 1_1 έως 1_5, από Κρήτη ως 2_1 έως 2_5 και από Ήπειρο ως 3_1 έως 3_5, τα δείγματα εμπορίου αναγράφονται ως Δ και έπειτα περιγραφή.

Οι τιμές του ^{15}C επηρεάζονται κυρίως από το είδος του φυτού και επιμέρους από την εποχικότητα καθώς φυτά αλλά κυρίως ζώα εμφανίζουν διαφορές στις τιμές του ^{13}C ανάλογα με την εποχή και τις καιρικές συνθήκες.

Οι τιμές του ^{15}N επηρεάζονται στα φυτά κυρίως από τα εδαφοβακτήρια της περιοχής και από το λίπασμα το οποίο τυχόν προστέθηκε, δείχνοντας κατ' επέκταση τον τύπο της καλλιέργειας του φυτού (βιολογική καλλιέργεια με οργανικό λίπασμα, συμβατική καλλιέργεια με συνθετικό λίπασμα ή καλλιέργεια χωρίς λίπασμα) και μικρότερες διαφορές σύμφωνα με τον τόπο της καλλιέργειας.

Αποτελέσματα

Από το γράφημα 1 συμπεραίνεται ότι:

- τα δείγματα 1 και 2 Ηπείρου εμφανίζουν τιμές άνθρακα παρόμοιες με Ηπείρου και Κρήτης, ενώ μόνο το δείγμα 1 Ηπείρου εμφανίζει τιμές αζώτου βιολογικής καλλιέργειας.
- Το δείγμα 1 Θεσσαλίας εμπίπτει μέσα στο σύνολο τιμών μη βιολογικής καλλιέργειας Θεσσαλίας.
- Το δείγμα 1 Κρήτης έχει τιμές μη βιολογικής καλλιέργειας Κρήτης αλλά όχι τιμές του ίδιου τύπου φυτών Κρήτης (σε σχέση με τα 5 δείγματα Κρήτης που συγκρίθηκαν), δείχνοντας.
- Οι τιμές των δύο αγνώστων δειγμάτων δείχνουν ότι το δείγμα 1 άγνωστο είναι πιθανά βιολογική καλλιέργεια με τιμές άνθρακα κοντά σε αυτές της Θεσσαλίας ενώ το δείγμα 2 άγνωστο τιμές μη βιολογικής καλλιέργειας με άγνωστη ομοιότητα άνθρακα.

Με μεγαλύτερη βάση δεδομένων και από άλλες περιοχές καθώς και με δείγματα βιολογικής και μη καλλιέργειας από διάφορες περιοχές θα μπορούσε να συγκριθούν με ασφαλέστερα συμπεράσματα και να πιστοποιηθεί η προέλευσή των δειγμάτων.

Βιβλιογραφία

- Katerinopoulou, K., Kontogeorgos, A., Salmas, C. E., Patakas, A., & Ladavos, A. (2020). Geographical Origin Authentication of Agri-Food Products: A Review. *Foods*, 9(4), 489.
- Zhao, Y., Zhang, B., Chen, G., Chen, A., Yang, S., & Ye, Z. (2014). Recent developments in application of stable isotope analysis on agro-product authenticity and traceability. *Food Chemistry*, 145, 300–305.