

УДК 535.651.4, 614.31

Применение квантово-каскадного лазера для быстрого обнаружения фальсифицированных пищевых продуктов*

Л. Фиорани, Ф. Артузо, И. Джардина, М. Нувולי, Ф. Полластроне**

*Исследовательский центр ENEA Фраскати
Via Enrico Fermi 45, 00044 Frascati, Italy*

Поступила в редакцию 18.03.2022 г.

Экономически мотивированные фальсификации (economically motivated adulterations – EMA) продуктов питания и соков представляют серьезную угрозу для нашего здоровья. Существует несколько точных аналитических методов для обнаружения мошеннических ингредиентов в цепочке поставок, однако быстрых и удобных методов по-прежнему не хватает, особенно для надежной работы в промышленных условиях. После многолетнего опыта применения лазерной фотоакустической спектроскопии (LPAS) для обнаружения фальсификатов пищевых продуктов с помощью CO₂-лазеров Лаборатория диагностики и метрологии ENEA (Фраскати, Рим, Италия) разработала портативный и надежный прибор на основе квантово-каскадного лазера (QCL) для быстрой и простой идентификации EMA в реальных условиях. В качестве примера для оценки его эффективности был использован фруктовый сок. За несколько минут были обнаружены два EMA; их количественная оценка была выполнена с помощью хеометрических средств.

Ключевые слова: применение лазеров, квантово-каскадный лазер, лазерная спектроскопия, фотоакустика, агропродовольственная сеть, фальсификация пищевых продуктов, фальсификация соков с добавлением сахара; quantum cascade laser application, laser spectroscopy, photoacoustic technique, agrofood chain, rapid detection of food frauds, juice adulteration with added sugars.

Введение

Определение качества и подлинности фруктовых соков представляет собой важную область исследований в агропродовольственном секторе, значительно влияет на промышленное производство, безопасность пищевых продуктов и защиту прав потребителей. Мошеннические компании пытаются получить незаконную выгоду, продавая фруктовые соки, подвергшиеся экономически мотивированным фальсификациям (economically motivated adulterations – EMA). Например, они используют недорогие ингредиенты (сахара и сиропы) и искажают информацию на этикетке продукта.

К наиболее распространенным видам мошенничества в производстве соков относятся: 1) разбавление водой; 2) добавление инвертного тростникового и свекольного сахара или кукурузного сиропа с высоким содержанием фруктозы (HFCS) для имитации естественного соотношения глюкозы/фруктозы/сахарозы; 3) добавление более дешевых соков [1]. Цена на сахар или сиропы ниже, чем на настоящие соки.

Состав сахаров во фруктовых соках дает достоверную информацию об их подлинности. Отличие состава сахаров от натурального сока может указывать на фальсификацию [2]. Кроме того, определение сахарного состава соков имеет большое значение для контроля изменения пищевой ценности, что особенно важно при составлении диеты для больных сахарным диабетом [3]. В частности, в [4] было показано, что избыточное содержание фруктозы, связанное с добавлением кукурузного сиропа, может нанести вред здоровью, например вызывать аллергию у детей [5].

Среди соков, представленных на рынке, наиболее потребляемыми являются апельсиновые и яблочные. Состав последних характеризуется наличием углеводов, которые составляют более 98% всех растворимых сухих веществ, а глюкоза, фруктоза и сахароза являются основными сахарами.

Изменения в химическом составе яблочных соков могут быть связаны с сортом яблок, регионом, в котором они выращиваются, климатом и методами выращивания [6, 7], а также с фактами фальсификации.

Из литературных источников [8, 9] следует, что в натуральном яблочном соке типичное соотношение между глюкозой, фруктозой и сахарозой составляет примерно 3 : 6 : 2; их содержание колеблется в пределах от 1 до 4, от 5 до 8 и от 0 до 5 мг/100 мл

* Перевод с английского Климкин А.В.

** Люка Фиорани (luca.fiorani@enea.it); Флоринда Артузо (florinda.artuso@enea.it); Изабелла Джардина (isabella.giardina@enea.it); Марчелло Нувולי (marcello.nuvoli@enea.it); Фабио Полластроне (fabio.pollastrone@enea.it).

соответственно. Таким образом, измерение соотношения между тремя сахарами можно использовать в качестве показателя подлинности, поскольку изменение типичного естественного соотношения может указывать на мошенническое добавление сахаров из сиропов или добавление более дешевых фруктовых соков.

Для определения сахаров и других компонентов во фруктовых соках используются разные методы. Хроматографические методы, такие как газовая хроматография (GC) и жидкостная хроматография высокого давления (HPLC), позволяют точно измерять содержание олигосахаридов [10], но они дороги, являются методами разрушающего контроля, трудоемки и не могут выполняться в режиме реального времени. Спектроскопические методы, такие как ядерный магнитный резонанс (NMR) и инфракрасная (IR) спектроскопия [9, 11], более универсальны, поскольку являются методами неразрушающего контроля, способными дать быстрые и надежные результаты.

Лазерная фотоакустическая спектроскопия (LPAS) [12], используемая в настоящей работе, представляет собой неразрушающий аналитический метод, перспективный для применения в области контроля безопасности пищевых продуктов [13]. Метод позволяет распознавать различные вещества по их характерному спектру поглощения. В основе метода лежит применение спектрометра, в котором непрерывное излучение квантово-каскадного лазера (QCL) модулируется на звуковой частоте и облучает образец внутри фотоакустической ячейки. Портативность и простота конструкции позволяет предложить системы такого типа, в частности, контролирующим органам, систематически проверяющим качество продуктов питания.

В настоящей работе изучалась возможность применения LPAS для оценки наличия/добавления нежелательных сахаров во фруктовые соки. Были проведены испытания с использованием трех сахаров, которые можно принять в качестве биомаркеров подлинности фруктовых соков (глюкоза, фруктоза и сахароза), для калибровки рабочих условий. Кроме чистых сахаров по отдельности, были выполнены измерения для смесей с различными соотношениями этих трех сахаров, которые имитировали типичную естественную композицию яблочного сока и две фальсифицированные композиции. Для уменьшения размерности данных и извлечения количественной информации из спектров были применены хемометрические методы [14] – метод основных компонент (PCA) и метод частных наименьших квадратов (PLS).

1. Аппаратура и методы

1.1. Экспериментальная установка

Блок-схема фотоакустического спектрометра на основе QCL представлена на рис. 1.

Непрерывное излучение QCL (cw) модулируется на звуковой частоте и облучает образец внутри фотоакустической ячейки (PA cell). Образец поглощает излучение с последующим повышением темпе-

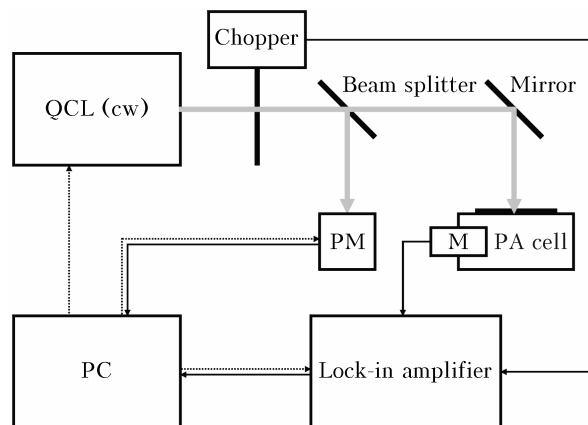


Рис. 1. Блок-схема фотоакустического спектрометра на основе QCL: cw – непрерывное излучение; М – микрофон; PA cell – фотоакустическая ячейка; PC – персональный компьютер; PM – измеритель мощности; серая сплошная линия – излучение лазера, черная сплошная линия – сигнал, черная пунктирная линия – контроль

ратуры, адиабатическим расширением и генерацией волн давления. Акустический резонанс усиливает сигнал, детектируемый микрофоном (М), соединенным с синхронным усилителем. Небольшая часть лазерного излучения направляется светоделителем на измеритель мощности (PM). Контроль и управление обеспечивается с помощью персонального компьютера (PC).

Схема физического явления, лежащего в основе LPAS, показана на рис. 2. Основные характеристики ключевого компонента системы – QCL – приведены в табл. 1. Более подробную информацию о системе можно найти в [13].

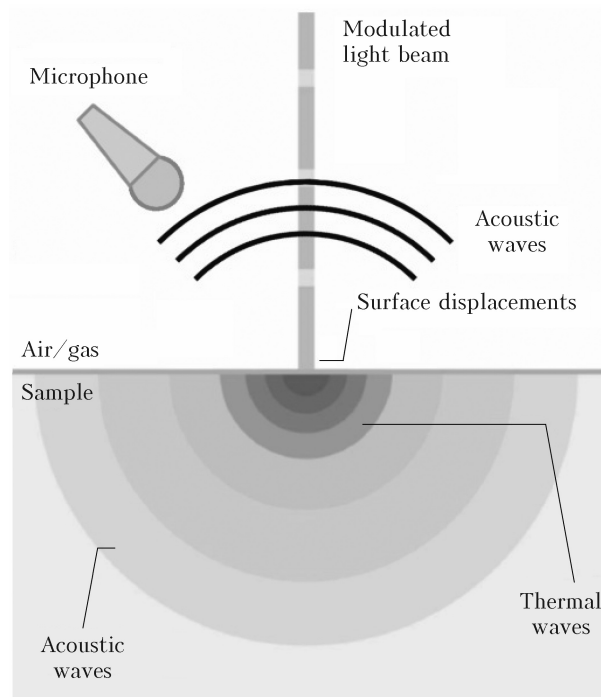


Рис. 2. Физическое явление, лежащее в основе LPAS (адаптировано из [15])

Таблица 1
Основные характеристики QCL

Параметр	Значение
Диапазон длин волн	8,33–11,11 мкм
Ширина линии генерации	100 МГц
Точность установки длины волны	1 см ⁻¹
Средняя мощность	60 мВт
Стабильность мощности	3%
Пространственная мода	TEM00
Расходимость луча	4 мрад
Стабильность направления луча	2 мрад
Диаметр пятна	2,5 мм
Поляризация	Вертикальная 100 : 1

Для работы спектрометра и регистрации результатов измерений разработано специализированное программное обеспечение. Через интерфейс программы пользователем вводится:

- минимальная и максимальная длины волн и шаг длины волны;
- количество измерений на данной длине волны (каждое измерение длится 1 с).

После запуска прибора с использованием специализированного программного обеспечения производится запись сигнала от микрофона и мощности лазера для каждого измерения на PC. Каждая точка спектра LPAS (фотоакустического сигнала) определяется отношением среднего значения сигналов микрофона и среднего значения мощности лазера.

1.2. Подготовка проб и измерения спектров LPAS

Пробы трех чистых сахаров были приготовлены из 100 мг соответствующих образцов, приобретенных у Sigma Aldrich (Сент-Луис, Миссури, США):

- глюкоза: D-(+) Glucose, Dextrose D9434 (обозначение вещество – D);
- фруктоза: Fructose PHR1002 (F);
- сахароза: Sucrose S7903 (S).

Кроме того были приготовлены три смеси из 100 мг трех сахаров в соотношении, указанном в табл. 2. Перед взвешиванием смеси сахарозу измельчали в течение 10 мин, чтобы достичь гранулометрического состава двух других сахаров в смеси.

Таблица 2
Смеси глюкозы, фруктозы и сахарозы

Смесь	Обозначение	Вещество, мг			F/(F + S)
		D	F	S	
Mix_GFS_20_65_15	N	20	65	15	81%
Mix_GFS_20_40_40	X	20	40	40	50%
Mix_GFS_20_30_50	Y	20	30	50	38%

Смесь Mix_GFS_20_65_15 (N) представляет собой типичную естественную композицию сахаров в яблочных соках [3, 4]. Смеси Mix_GFS_20_40_40 (X) и Mix_GFS_20_30_50 (Y) имитируют два возможных случая фальсификации натуральной композиции добавлением сахаров. Разница между расчетной и фактической массой сахара в смеси составила менее 0,4 мг, что в худшем случае соответствует мак-

симальному расхождению, равному 0,4 мг / 20 мг = 2%.

После взвешивания каждый образец перемешивали миксером в течение ~2 мин. Затем каждую смесь равномерно распределяли в держателе образца фотоакустического лазерного спектрометра для измерения.

Измерения LPAS проводились для трех чистых сахаров и трех смесей двумя методами:

- 1) регистрация спектра высокого разрешения (скан с разрешением по длине волны $\lambda = 0,025$ мкм);
- 2) регистрация спектров низкого разрешения (10 сканов с разрешением 0,1 мкм).

Спектры высокого разрешения образцов обрабатывались методом PLS. Спектр высокого разрешения позволяет распознавать специфические спектральные характеристики каждого сахара. При обработке повторяющихся сканов применялся метод PCA.

Все спектры были получены с помощью фотоакустического лазерного спектрометра (рис. 3), разработанного в рамках проекта TecNea, комплекс работ 1 – SafeFood.

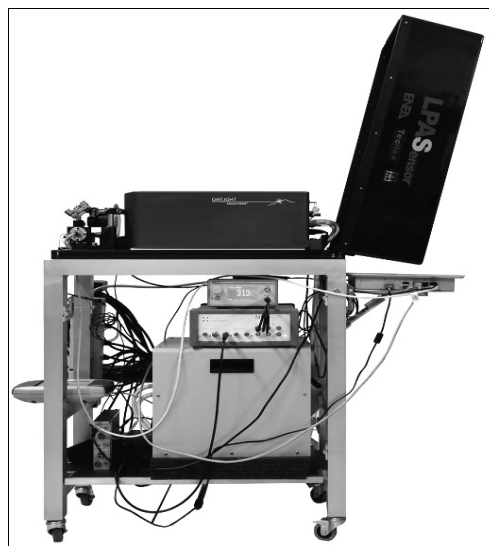


Рис. 3. Фотоакустический лазерный спектрометр производства Лаборатории диагностики и метрологии ENEA

2. Результаты эксперимента

2.1. Спектры

Спектры высокого разрешения представлены на рис. 4. Они были получены путем применения пятиточечного фильтра Савицкого–Голея второго порядка после нормировки на сигнал на $\lambda = 10,5$ мкм. Длина волны нормировки была выбрана по наблюдаемым минимумам в спектрах вблизи этого значения.

Область около 10,0 мкм представляется многообещающей с точки зрения различения образцов; ее можно использовать при низком разрешении (так как нет резких изменений сигнала в зависимости от длины волны), в ней хорошо различимы чистые сахара.

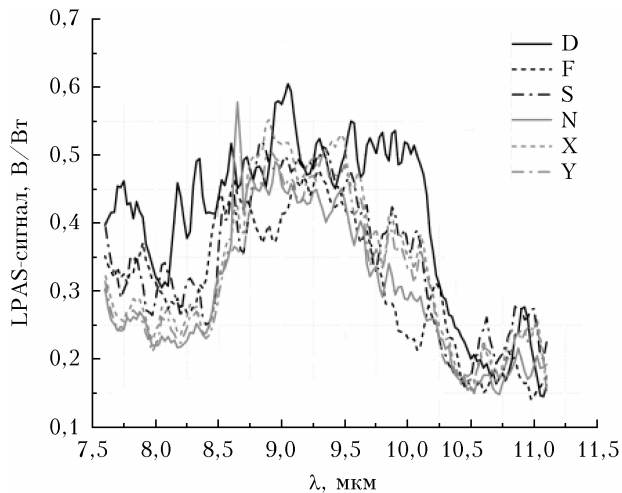


Рис. 4. Спектры высокого разрешения глюкозы, фруктозы, сахарозы и их смесей

Без учета глюкозы, которая постоянно присутствует в 20%-х смесях, сигнал высокого разрешения на $\lambda = 10,0$ мкм относится к отношению $F/(F + S)$. Линейная аппроксимация данных дает хорошие результаты (рис. 5), указывая на то, что отношение $F/(F + S)$ можно предсказать по сигналу на $\lambda = 10,0$ мкм с ошибкой 10%.

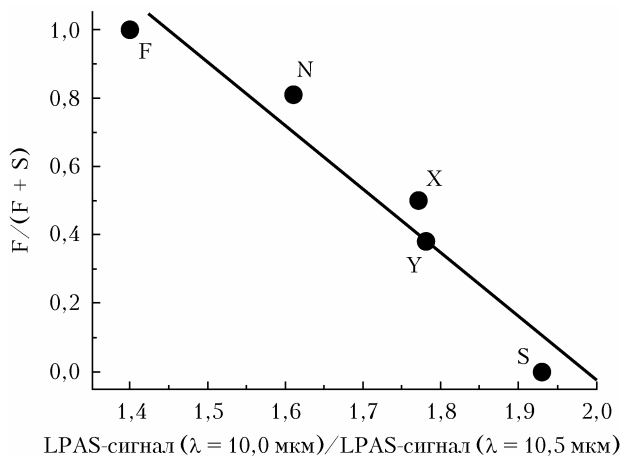


Рис. 5. Отношение $F/(F + S)$ в зависимости от сигнала на $\lambda = 10,0$ мкм для фруктозы (F), сахарозы (S) и смесей N, X, Y; коэффициент корреляции $R^2 = 0,93$

2.2. Метод основных компонент

После того как была показана возможность оценки соотношения $F/(F + S)$ при наблюдении спектров с высоким разрешением в интервале длин волн 10,0–10,5 мкм и выявления первичных различий между натуральными и фальсифицированными смесями сахаров, присутствующими во фруктовых соках, был применен метод PCA. На рис. 6 представлен результат, полученный по спектрам низкого разрешения в диапазоне от 9,5 до 10,5 мкм. Принимая во внимание доверительный эллипс 95%, мы наблюдаем пять отчетливых облаков точек, соответствующих глюкозе, фруктозе, сахарозе, смеси, имитирующей натуральный яблочный сок, и смеси, имитирующей фальсифицированные яблочные соки. Другими словами, PCA позволяет четко различать натуральные и фальсифицированные соки. Кроме того, только два компонента имеют дисперсию более 96%.

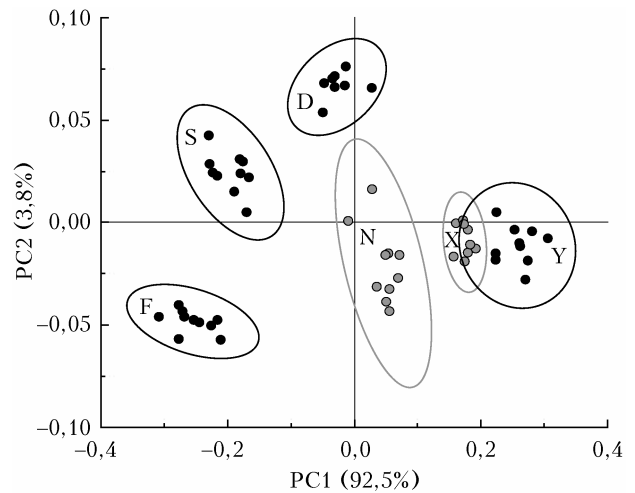


Рис. 6. PCA-обработка спектров низкого разрешения глюкозы (D), фруктозы (F), сахарозы (S) и их смесей N, X, Y

тирующей натуральный яблочный сок, и смеси, имитирующей фальсифицированные яблочные соки. Другими словами, PCA позволяет четко различать натуральные и фальсифицированные соки. Кроме того, только два компонента имеют дисперсию более 96%.

2.3. Метод частичных наименьших квадратов

Метод частичных наименьших квадратов PLS, примененный к спектрам высокого разрешения, сошелся при использовании четырех параметров. Дисперсия независимых и зависимых переменных составляла 99,9 и 99,5% соответственно. Расхождение между расчетным и фактическим соотношениями составляющих веществ $F/(F + S)$ показано на рис. 7. Во всех случаях оно меньше 5%. Следовательно, PLS дает лучшие результаты, чем простая линейная аппроксимация, показанная на рис. 5.

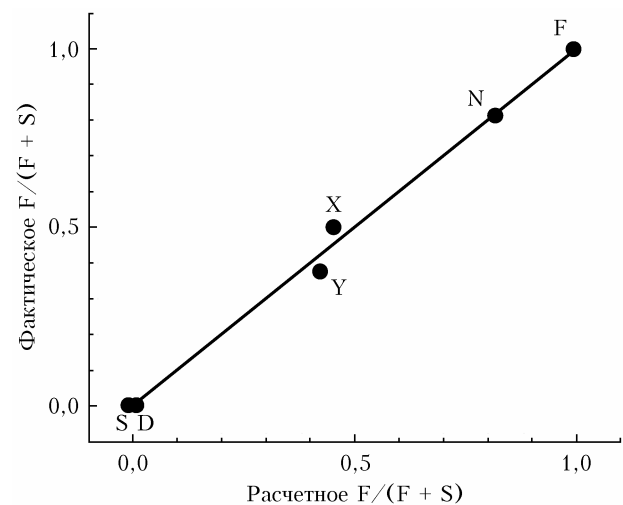


Рис. 7. Фактическое соотношение $F/(F + S)$ в зависимости от рассчитанного методом PLS, $R^2 = 0,99$

Заключение

Изучив возможности фальсификации фруктового сока и понимая ее последствия для здоровья, мы пришли к выводу, что такую фальсификацию можно обнаружить по измерениям относительной концентрации глюкозы, фруктозы и сахарозы в соке.

Объектом исследования был яблочный сок, для которого хорошо известны относительные концентрации глюкозы, фруктозы и сахарозы в натуральных и фальсифицированных продуктах. Были приготовлены три смеси сахара: одна, имитирующая натуральный продукт, и две другие – имитирующие фальсифицированные продукты. Были измерены спектры LPAS образцов глюкозы, фруктозы, сахарозы и их смесей, имитирующих натуральные и фальсифицированные соки, как с высоким, так и с низким разрешением.

Анализ спектров показал, что даже при низком разрешении возможно установить корреляцию между сигналами LPAS на длинах волн 10,0 и 10,5 мкм и отношением концентрации фруктозы к сумме фруктозы и сахарозы с предсказательной способностью в пределах 10%, достаточной для разделения натуральных и фальсифицированных соков.

Эксперименты подтверждают, что фотоакустический лазерный спектрометр способен различать натуральные и фальсифицированные соки с уровнем достоверности выше 95% методом PCA. Метод PLS позволил предсказать отношение $F/(F + S)$ с расхождением меньше 5%.

Хотя эти результаты обнадеживают, следует признать следующее:

– мы ограничили наше исследование яблочным соком;

– необходимо протестировать большее количество образцов, включая некоторые коммерческие сублимированные соки;

– результаты LPAS следует сравнить с результатами, полученными другими методами;

– исследование проводилось на твердых образцах, поскольку применимость фотоакустического лазерного спектрометра для жидкостей в настоящее время все еще изучается.

В дальнейшем эти вопросы должны быть сняты, особенно с учетом планируемой реализации метода LPAS в портативном устройстве, которое будет доступно для контролирующих органов и пищевых компаний. Если удастся подтвердить эффективность

различения продуктов с использованием только двух длин волн, длительность одного измерения может быть сокращена до 20 с вместо 6 мин, необходимых для получения всего спектра.

Работа поддержана проектом TecHea (<https://www.techea.enea.it/work-package/techea-wp1.html>) и программой «Декларация 5 X 1000 2017».

1. *Nagy S.* Economic adulteration of fruit beverages // *Fruit Proces.* 1997. N 4. P. 125–131.
2. *Leopold L.F., Leopold N., Diehl H.-A., Socaciu C.* Quantification of carbohydrates in fruit juices using FTIR spectroscopy and multivariate analysis // *Spectrosc.* 2011. V. 26. P. 93–104.
3. *Bray G.A.* Potential health risks from beverages containing fructose found in sugar or high-fructose corn syrup // *Diabetes Care.* 2013. V. 36. P. 11–12.
4. *Gaby A.* Adverse effects of dietary fructose // *Alter. Med. Rev.* 2005. V. 10. P. 294–306.
5. *Yu R., Yang B., Cai L., Lu X., Wang X.* Excess free fructose beverages and allergy in children and adolescents: results from NHANES 2005–2006 // *The Ann. of Family Medicine.* 2018. V. 16. P. 408–418.
6. *Leopold L.F., Diehl H.-A., Socaciu C.* Quantification of glucose, fructose and sucrose in apple juices using ATR-MIR spectroscopy coupled with chemometry // *Bull. UASVM Agricult.* V. 66. P. 350–357.
7. *Karadeniz F., Eks A.* Sugar composition of apple juices // *European Food Res. Technol.* 2002. V. 215. P. 145–148.
8. *Brause A.* Detection of apple juice adulteration // *Fruit Proc.* 1998. V. 7. P. 290–297.
9. *Kelly J.F.D., Downey G.* Detection of sugar adulterants in apple juice using Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics // *J. Agricult. Food Chem.* 2005. V. 53. P. 3281–3286.
10. *Pan G.G., Kilmartin P.A., Smith B.G., Melton L.D.* Detection of orange juice adulteration by tangelo juice using multivariate analysis of polymethoxylated flavones and carotenoids // *J. Sci. Food Agricult.* 2002. V. 82. P. 421–427.
11. *Kelly J.F.D., Downey G., Fouratier V.* Initial study of honey adulteration by sugar solutions using midinfrared (MIR) spectroscopy and chemometrics // *J. Agricult. Food Chem.* 2004. V. 52. P. 33–39.
12. *Haisch C.* Photoacoustic spectroscopy for analytical measurements // *Meas. Sci. Technol.* 2012. V. 23, N 012001. 17 p.
13. *Fiorani L., Artuso F., Giardina I., Lai A., Mannori S., Puiu A.* Photoacoustic laser system for food fraud detection // *Sensors.* 2021. V. 21, N 4178. 11 p.
14. *Comprehensive Chemometrics* / S. Brown, R. Tauler, B. Walczak (eds.). Amsterdam: Elsevier, 2020. 2944 p.
15. *Manohar S., Razansky D.* Photoacoustics: A historical review // *Adv. Opt. Photon.* 2016. V. 8. P. 586–617.

L. Fiorani, F. Artuso, I. Giardina, M. Nuvoli, F. Pollastrone. Application of quantum cascade laser to rapid detection of food adulteration.

Economically motivated adulterations (EMAs) of food and juice are a serious threat to our health. Although several accurate analytical methods are available to detect fraudulent ingredients in the supply chain, fast and user-friendly techniques are still missing, especially if reliable deployment in industrial settings is needed. After many years of application of laser photoacoustic spectroscopy (LPAS) to food fraud detection with CO₂ lasers, the Diagnostic and Metrology Laboratory of ENEA developed a portable and robust prototype based on a quantum cascade laser (QCL) to rapidly and easily identify EMAs in real scenarios. Fruit juice was used as a case study to evaluate its performance. Two EMAs were sensed in a few minutes and chemometrics tools allowed their quantification.