

Isotooppitekniikat paljastavat elintarvikeväärennöksiä

Elintarvikkeiden aitoutta voidaan tutkia elintarvikkeen koostumuksen, alkuperän ja lajimääritysten perusteella.

Ruokaväärennöksillä tavoitellaan lähes aina taloudellista etua. Siksi esimerkiksi kallis raaka-aine voidaan korvata halvemmalla, tai tuotteen alkuperämaasta annetaan virheellistä tietoa. Elintarvikkeita väärennetään muun muassa lisäämällä tuotteeseen halvempaa sokeria tai vettä tai ilmoittamalla virheellisesti tuotteen hedelmäpitoisuus, maantieteellinen tai kasvilajin alkuperä. Lisäksi valmistuksessa voidaan käyttää lisäaineita (esim. väriaineet, aromiaineet, hapot, säilöntäaineet jne.), joita ei ole ilmoitettu elintarvikepakkauksen tiedoissa.

Euroopan parlamentin mietinnössä (2013/2091(INI)) elintarvikekriisistä, petoksisista elintarvikeketjussa ja niiden valvonnasta todetaan, että suurin elintarvikepetosriski kohdistuu oliiviöljyyn, kalaan, luomutuoteisiin, maitoon, viljoihin, hunajaan ja vaah-terasiirppiin, kahviin ja teehen, mausteisiin (mm. sahrami ja chilijauhe), viineihin ja tiettyihin hedelmämehuihin. Taulukossa 1 on esitetty analyysimenetelmiä eri elintarvikerhyymiin liittyvien väärennösten toteamiseksi.

Kattavat tietokannat välttämättömiä

Yhteistä aitoustutkimuksiin käytettävillä menetelmillä on tarve vertailunäytteille, jotta tiedetään, millainen on aito tuote ja milloin tutkittava tuote eroaa aidosta. Isotooppitekniikoiden hyödyntäminen elintarvikkeiden aitoustutkimuksissa edellyttääkin kattavia ja ajantasaisia tietokantoja, joita on ylläpidettävä jatkuvasti.

Kromatografisilla menetelmillä näytteenä voidaan tunnistaa spesifisiä yhdisteitä ja määrittää niiden pitoisuudet. Esimerkiksi elintarvikkeesta uutettua aromijaetta voidaan tutkia GC-MS-tekniikalla (kaasukromatografi-massaspektrometri) ja saada tietoa yksittäisten aromiaineiden konsentraatiosta näytteessä, mahdollisista keinotekoisista yhdisteistä ja liuottimista.

Kiraalisten yhdisteiden eli peilikuvaisoomeerien analysoinnilla (R/S-erotus) voidaan lisäksi selvittää, onko kyseessä luontainen vai synteettinen yhdiste. Molekyylibiologisiin DNA:n määrittämiseen perustuvien menetelmien avulla voidaan esimerkiksi identifioida lajeja ja lajikkeita (mm. hevosen, sian ja nautan tunnistaminen). Näiden lisäksi isotooppitekniikoilla saadaan tietoa molekyylien alkuperästä ja profiilintekniikoilla sormenjälkitietoa näytteistä.

Alkuaineen isotoopit ovat atomeja, joissa on sama määrä protoneja, mutta eri määrä



KUVA: PÄIVI LAAKSON KUVA-ARKISTO

Aitoustutkimuksen painopiste on siirtymässä raaka-aineiden varmistamiseen ja brändin imagon suojaamiseen, kirjoittaa analyysipalvelupäällikkö Päivi Laakso.

neutroneja. Saman alkuaineen eri isotoopit ovat kemiallisilta ominaisuuksiltaan samantaisia, mutta poikkeavat toisistaan massaltaan ja magneettisilta ominaisuuksiltaan. Luonnon yhdisteet koostuvat pääasiallisesti hiilestä (C), vedystä (H), hapestä (O), typestä (N) ja rikistä (S), ja nämä alkuaineet esiintyvät myös pysyvinä isotooppeina.

Yleisimmin mitattavat pysyvät isotoopit ja niiden suhteelliset osuudet ovat ^1H (99,985 %) ja ^2H (= D, deuterium) (0,015 %), ^{12}C (98,904 %) ja ^{13}C (1,096 %), sekä ^{16}O (99,763 %) ja ^{18}O (0,2 %). Ilmasto ja maantieteellinen sijainti vaikuttavat pysyvien isotooppien suhteisiin luonnossa. Kasveissa taas fotosynteesimetabolian eli kemialliset ja biokemialliset reaktiot vaikuttavat isotooppisuhteisiin.

Kasveilla kolme yhteyttämisryhmää

Kasvit voidaan jakaa yhteyttämisryhmänsä perusteella kolmeen eri ryhmään: C3-yhteyttävät kasvit (mm. viinirypäleet, sokerijuuri- kas, sitrushedelmät, omenat, punaiset hedelmät), C4-yhteyttävät kasvit (mm. sokeriruoko ja maissi) ja CAM-yhteyttävät (Crassulacean acid metabolism) kasvit (mm. ananas). Näiden kasvien yhteyttämisryhmät eli se, miten kasvit sitovat ilmassa olevan hiilidioksi-



KUVA: EUROFINS

Laborantti tekemässä elintarvikkeiden aitoustutkimukseen liittyvää isotooppimäärittäystä IRMS-laitteella Eurofinsin Ranskan laboratoriossa (Eurofins Analytics France, Nantes).

Taulukko 1: Elintarvikeryhmät ja niihin kohdistuvat väärennökset.

Elintarvikeryhmä	Väärennösten toteaminen
Hedelmämehut ja niistä valmistetut tuotteet	– lisätyn sokerin, veden, väriaineiden, aromiyhdisteiden ja elintarvikepakkauksessa mainitsemattomien lisäaineiden toteaminen – hedelmäpitoisuuden määrittäminen – maantieteellisen alkuperän tarkistaminen
Viinit, siiderit	– viiniin lisätyn sokerin (chaptalisointi) ja makeuttamisen toteaminen – laimentamisen tai glyserolilisäyksen toteaminen – kuohuviinin valmistusprosessin toteaminen – isotooppiprofilin yhdenmukaisuus – maantieteellisen alkuperän tarkistaminen
Väkevät viinit, oluet	– alkoholin kasvi-alkuperän kontrollointi – lisätyn veden, sokerin ja aromiyhdisteiden toteaminen nykyisten säädösten ja/tai tuotespesifikaatioiden perusteella
Hunaja, vaahterasiirappi, agave-siirappi	– lisätyn sokerin ja elintarvikepakkauksessa mainitsemattomien lisäaineiden toteaminen – väärin pakkausmerkintöjen toteaminen – maantieteellisen alkuperän tarkistaminen
Aromiaineet	– aromiaineen alkuperän tarkistus (esim. vanilliini, anikseniemen, karvasmanteli, kaneli, laventeli, minttu) – onko kyseessä luontainen vai synteettinen aromiaine
Kahvi, tee, mausteet ja yrtytuotteet	– kahvilajien Arabica ja Robusta toteaminen – kahvin ja sikurin toteaminen – kofeiinin alkuperän tarkistus (luontainen vai synteettinen) teestä, kahvista tai Guaranaa sisältävistä juomista – maantieteellisen alkuperän tarkistus
Lihatuotteet	– eläinlajin varmistaminen – maantieteellisen alkuperän tarkistus
Kala	– kalalajin varmistus – onko kyseessä kasvatettu vai luonnonvarainen kala
Maito ja maitotuotteet	– pääasiallisesti käytetyn rehun toteaminen (ruoho- vai maissisäilörehu) – väärennösten toteaminen (lisätty vettä tai heraa, eri lajien maitoa sekoitettu, käytetty vanhaa maitoa), lisätty typpipitoisia yhdisteitä kuten melamiinia, disyaanidiamidia tai proteiinihydrolysaattia proteiinipitoisuuden nostamiseksi – eläinlajin toteaminen – aromiaineiden toteaminen (esim. hedelmät, vanilliini) – maantieteellisen alkuperän tarkistus
Viljat	– lajikkeen toteaminen – maantieteellisen alkuperän tarkistus
Basmati-riisi	– Basmati-riisin määrän kvanttointi riisistä

din hiiltä itseensä, poikkeavat toisistaan. Tämä vaikuttaa kasvien sokereiden ¹³C/¹²C-isotooppisuhteeseen.

Yhdisteen kasvitieteellinen alkuperä ja kasvin käyttämä biosynteesin reaktiotie vaikuttavat kasvien sisältämien ¹³C- ja ²H-isotooppien määrään. Tietoa voidaan tutkimuksessa hyödyntää osoittamaan, onko esimerkiksi hedelmämehuun lisätty muuta alkuperää olevaa sokeria. Veden alkuperää voidaan selvittää ¹⁸O- ja ²H-isotooppeja tutkimalla ja hyödyntää muun muassa selvittäessä, onko viiniin tai tuoremehuun lisätty vesijohtovettä.

Eläinperäisten tuotteiden osalta rehu vaikuttaa ¹³C- ja ¹⁵N-isotooppien määriin, mitä voidaan käyttää hyväksi ruokintatapaa selvittäessä.

Virallisia isotooppimenetelmiä

Eurofinsin aitoustutkimuksen osaamiskeskus Ranskan Nantesissa (Eurofins Analytics

France, Nantes) on pioneeri isotooppitutkimusten kehittämisessä ja soveltamisessa elintarvikkeiden aitouden testaamisessa. Professorit **G.J.** ja **M.L. Martin** kehittivät ja patentoivat SNIF-NMR® -menetelmän (Site-Specific Natural Isotopic Fractionation studied by deuterium Nuclear Magnetic Resonance) vuonna 1981 Nantesin yliopistossa viinien makeuttamisen (chaptalisoinnin) osoittamiseen, eli onko sokeria lisätty rypälemehuun ennen alkoholikäymistä viinin alkoholipitoisuuden nostamiseksi.

Viinin sokerien alkuperä (luontaista tai lisättyä) vaikuttaa fermentaatioprosessissa muodostuneen etanolin (D/H)₁-isotooppisuhteeseen. SNIF-NMR® -tekniikalla tämä suhde on mahdollista määrittää suurella tarkkuudella molekyylin jokaisessa kohdassa ja tuloksia vertaamalla olemassa olevaan tietoon voidaan osoittaa sokerin alkuperä.

Etanolin tapauksessa tarkasteltavat molekyylit ovat CH₃CH₂OD, CH₃CHDOH ja

CH₂DCH₂OH. Esimerkiksi juurikassokerin (D/H)₁-suhde on noin 92 ppm, ruoko- ja maissisokerin noin 110 ppm, appelsiinin noin 104 ppm ja omenan noin 99 ppm. Jos hedelmämehusta fermentoidun etanolin (D/H)₁-suhde pienenee, voidaan päätellä, että tuotteeseen on lisätty sokerijuurikkaan sokeria.

Sekä OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin) vuonna 1987 että Euroopan komissio vuonna 1990 ottivat SNIF-NMR® -menetelmän käyttöön virallisena menetelmänä. Se on myös virallinen menetelmä Pohjois-Amerikan AOAC -menetelmäkokoelmassa (Association of Official Analytical Chemists International) hedelmämehuun lisätyn juurikassokerin osoittamiseen.

Tällä tekniikalla voidaan myös varmistaa, onko aromiyhdiste luontainen vai keinotekoinen (mm. vanilliini, bentsaldehydi ja anetoli). Menetelmää käytetään myös alkoholin ja viinietikan aitouden selvittämiseen. Vuon-

▷ na 2006 menetelmä otettiin käyttöön AOAC -menetelmänä luontaisen ja synteettisen vanilliinin toteamiseksi.

Isotooppisuhteita voidaan määrittää myös IRMS-tekniikalla (Isotope Ratio Mass Spectrometry) ja saada tietoa yhdisteen tai materiaalin muodostumistavasta ja -olosuhteista kuten lämpötilasta. Määrittämistä varten orgaaninen yhdiste poltetaan tai pyrolysoidaan, jonka jälkeen yhdisteet voidaan tarvittaessa erottaa kaasukromatografisesti ennen IRMS-detektointia.

IRMS tuottaa tietoa isotoopin keskimääräisestä jakaumasta koko näytteessä. Sitä käytetään muun muassa keskimääräisen isotooppisuhteen $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (tai $\delta^{13}\text{C}_{\text{näyte}} = ((^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{näyte}} / (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{referenssi}} - 1) \times 1000$) määrittämiseen sokereista ja alkoholista. Esimerkiksi C3-kasveista peräisin olevan etanolin $\delta^{13}\text{C}$ on noin -26‰ , C4-kasveista peräisin olevan etanolin noin -11‰ ja CAM-kasveista peräisin olevan etanolin noin -14‰ . Jos C3-kasvin sokereista fermentoimalla saadun etanolin $\delta^{13}\text{C}$ kasvaa, voidaan päätellä, että tutkittavaan hedelmämehuun tai viiniin on lisätty C4-ryhmään kuuluvien kasvien (sokeriruoko tai maissi) sokeria.

IRMS- ^{13}C -menetelmällä saadaan useimmiten selvitettyä, onko tuotteeseen lisätty ruoko- tai maissisokeria, kun taas SNIF-NMR® -tekniikalla voidaan osoittaa juuri-

kassokerin lisääminen tuotteeseen. Hyvin usein isotooppitutkimuksissa käytetään useampaa tekniikkaa (kuva 1). Esimerkiksi viininäytteistä saadaan IRMS-tekniikalla tietoa veden alkuperästä määrittämällä $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -isotooppien suhde. Viinin makeutamisesta saadaan tietoa IRMS-menetelmällä etanolista määritettävästä $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -suhteesta ja SNIF-NMR®-menetelmällä määritettävästä $(\text{D}/\text{H})_1$ -suhteesta etanolimolekyyleissä.

Taulukossa 2 on esitetty elintarvikkeiden analysointiin tarkoitetut viralliset isotooppimenetelmät.

Profiloititekniikat kiinnostavat

Viime aikoina kiinnostus ^1H -NMR-profilointitekniikoiden (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy) hyödyntämiseen aitoustutkimuksissa on kasvanut huomattavasti. Menetelmä perustuu magneettisten atomiydinten vuorovaikutukseen magneettikenttien kanssa. Tällä tekniikalla saadaan spektri koko näytematriisista, eli sillä on mahdollista analysoida suuria näytesarjoja nopeasti ja erittäin toistettavasti laboratoriosta toiseen.

Kohdennetulla (targeted) ^1H -NMR-määrityksellä saadaan tietoa yhdisteiden määrästä ppm-tasolta %-osuuksiin. Kohdentamaton määritys (non-targeted) tuottaa kuitenkin näytteelle yksilöllisen sormenjälkipro-

fiilin, jota voidaan verrata tietokannoissa oleviin profiileihin tilastotieteellisiä menetelmiä hyväksi käyttäen. Kohdennetun ja kohdentamattoman ^1H -NMR-määrityksen yhdistelmällä näytteestä saadaan nopeasti lähes täydellinen aitousskriinaus (kuva 2).

Uudet elintarvikkeväärennökset ovat entistä vaikeammin todennettavissa perinteisin analyysimenetelmin, koska väärentäjien tavoitteena on välttää kiinnijääminen testauksessa. Tämän takia uusien analyysitekniikoiden kehittäminen on tärkeää vaatimusten vastaisten elintarvikkeiden toteamiseksi. ^1H -NMR-skriinauksella on mahdollista todeta myös sellaiset väärennökset, joista emme ole edes kuulleet vielä: kokonaisvaltaisen sormenjälkiprofiili tarjoaa elintarvikkeesta tietoa, jota emme vielä osaa etsiä.

Elintarvikkeiden välttämiseksi ja kuluttajan terveyden suojaamiseksi aitoustutkimuksen painopiste on siirtymässä raaka-aineiden varmistamiseen ja brändin imagon suojaamiseen. Tähän tarkoitukseen erityisesti kohdentamattomat NMR-määritykset tuovat uusia, nopeita ja kustannustehokkaita analyysimahdollisuuksia. ■

Päivi Laakso
analyysipalvelupäällikkö
Eurofins Scientific Finland Oy
PaiviLaakso(at)Eurofins.fi

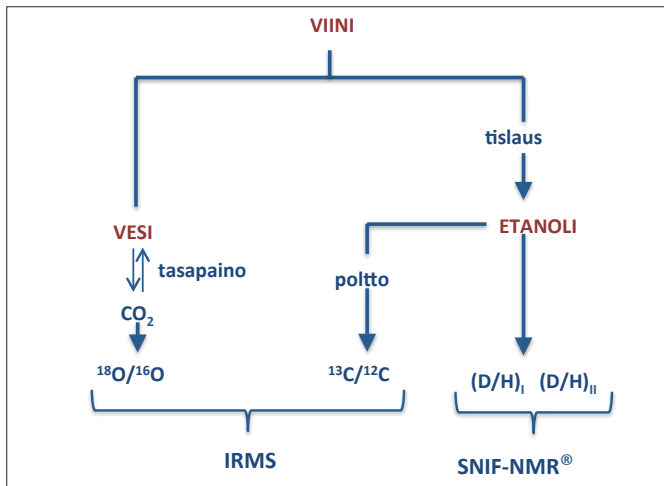
Taulukko 2. Elintarvikkeiden analysointiin tarkoitetut viralliset isotooppimenetelmät.

Menetelmä	Elintarvike	Fraktio	Tekniikka	Isotooppisuhteet
AOAC ^{a)} Official method 995.17	Hedelmämehut	Etanoli (fermentoinnista)	SNIF-NMR	$(\text{D}/\text{H})_I, (\text{D}/\text{H})_{II}, \text{R}$
AOAC Official method 998.12	Hunaja	Hunaja ja proteiinit	IRMS	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
AOAC Official method 2000.19	Vaahterasiirappi	Etanoli (fermentoinnista)	SNIF-NMR	$(\text{D}/\text{H})_I, (\text{D}/\text{H})_{II}, \text{R}$
AOAC Official method 2004.01	Hedelmämehut & vaahterasiirappi	Etanoli (fermentoinnista)	IRMS	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
AOAC Official method 2006.05	Vanilliini	Vanilliini	SNIF-NMR	$(\text{D}/\text{H})_I$
CEN ^{b)} (TC174 N108, ENV 12140)	Hedelmämehut	Sokerit	IRMS	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
CEN (TC174 N109, ENV 12141)	Hedelmämehut	Vesi	IRMS	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$
OIV ^{c)} -MA-AS311-05, OIV-OENO 426-2011	Viinit & väkevät alkoholijuomat	Etanoli	SNIF-NMR	$(\text{D}/\text{H})_I, (\text{D}/\text{H})_{II}, \text{R}$
OIV-MA-AS312-06, OIV/OENO 381/2009	Viinit & väkevät alkoholijuomat	Etanoli	IRMS	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
OIV-MA-AS2-12, OIV/OENO 353/2009	Viinit & väkevät alkoholijuomat	Vesi	IRMS	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$
CEN, EN 16466-1:2012: OIV-OENO 527-2015	Viinietikka	Etikkahappo	SNIF-NMR	$(\text{D}/\text{H})_{\text{CH}_3}$
CEN, EN 16466-2:2012: OIV-OENO 510-2013	Viinietikka	Etikkahappo	IRMS	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
CEN, EN 16466-3:2012: OIV-OENO 511-2013	Viinietikka	Vesi	IRMS	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$
OIV-OENO 512-2014	Kuohuviini	CO ₂	IRMS	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
OIV-OENO 512-2010	Viini	Glyseroli	GC-/LC-IRMS	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

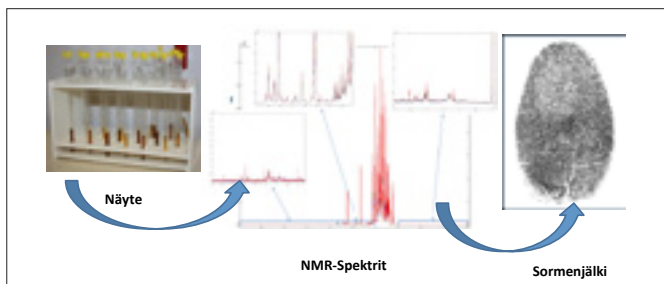
a) AOAC = Association of Official Analytical Chemists (USA)

b) CEN = European Committee for Standardization (EU)

c) OIV = International Organisation of Vine and Wine



Kuva 1. Esimerkki isotoppi määrityksistä viinin analysoinnissa.



Kuva 2. Kaaviokuva ¹H-NMR-määrityksistä.

Yli 25 000 laboratorio-ammattilaisen konserni

Tänä vuonna 30 vuotta täyttävä Eurofins Scientific perustettiin vuonna 1987 Ranskan Nantesiin kymmenen henkilöä työllistävänä laboratorioana. Se erikoistui isotoppi menetelmien kaupalliseen kehittämiseen ja hyödyntämiseen elintarvikkeiden aitous tutkimuksissa. Nykyisin Eurofins Analytics France, Nantes on Eurofins Scientific -konsernin elintarvikkeiden aitous tutkimuksen osaamiskeskus. Konserni on maailman johtava bioanalyysipalveluiden tarjoaja.

Päätösmialoja ovat laboratorio- ja asiantuntijapalvelut elintarvike-, ympäristö-, maatalous- ja lääkesektoreilla. Konserniin kuuluu yli 25 000 laboratorioalan ammattilaista yli 250 laboratoriossa 39 maassa. Analyysivalikoima kattaa yli 130 000 validoitua analyysimenetelmää turvallisuuden, koostumuksen, aitouden, alkuperän, jäljitettävyyden ja puhtauden testaamiseen.

Eurofins Scientific on aloittanut toimintansa Suomessa Tampereella

vuonna 2007 ja Raisiossa vuonna 2008. Joulukuussa 2012 toiminta laajeni Suomessa Mikkeliin (Viljavuuspalvelu Oy), vuonna 2014 Kokkolaan (ympäristö- ja elintarvikelaboratorio Maintpartner Oy) ja keuhkälä 2016 Helsinkiin, Viikin tiedepuistoon (asiakaspalvelu- ja näytteen vastaanoton toimipiste). Eurofins työllistää Suomessa yli 80 laboratorioalan ammattilaista, ja vuotuinen liikevaihto ylittää 10 miljoonaa euroa.

Suomessa tehtävien määritysten lisäksi Suomen Eurofins-laboratorioilla on käytettävissään konsernin globaali laboratorioverkosto ja osaamiskeskukset nk. One-Stop-Shop -periaatteella. Perusmääritysten lisäksi analyysivalikoimaan sisältyy paljon erikoisanalytiikkaa, mm. DNA-, dioksiini- ja POP-yhdiste-, PAH-, allergeeni-, hometoksiini- ja vitamiinimääritykset. ■

Lisätietoja:
www.eurofins.fi