



STÁTNÍ ZEMĚDĚLSKÁ  
A POTRAVINÁŘSKÁ INSPEKCE

# AUTENTIFIKACE POTRAVIN POMOCÍ ANALÝZY ZASTOUPENÍ STABILNÍCH IZOTOPŮ

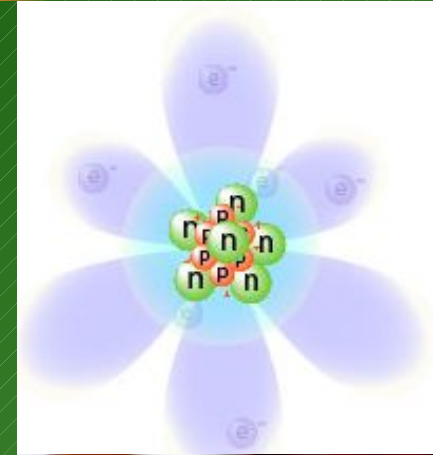
Ing. Kamil Kolář

Mendelova univerzita v Brně  
11. 11. 2013



# Autentifikace potravin pomocí analýzy zastoupení stabilních izotopů

- **Analýza stabilních izotopů**
- zastoupení stabilních izotopů v přírodě
- principy stanovení pomocí IRMS a NMR
- možnosti a omezení
- **Autentifikace rostlinných produktů**
- ovocné šťávy, víno, lihoviny, octy
- olivové oleje
- zelenina
- káva
- **Autentifikace živočišných produktů**
- med
- maso a mléčné výrobky
- vejce
- ryby



# Analýza stabilních izotopů

- stanovuje poměry zastoupení stabilních izotopů nejčastěji tzv. biogenních prvků: **vodíku, uhlíku, kyslíku, dusíku a síry** případně dalších charakteristických izotopů (např. stroncia) v potravinách jako celku nebo v jejich makro- či mikro-

The Periodic Table of the Elements

Legend:

- alkali metals
- alkaline metals
- other metals
- transition metals
- lanthanoids
- actinoids
- metalloids
- nonmetals
- halogens
- noble gases
- unknown elements
- radioactive elements have masses in parentheses

Callout for Iron (Fe):

- atomic mass: 55.845
- atomic number: 26
- 1st ionization energy: 762.5 kJ/mol
- chemical symbol: Fe
- name: Iron
- electron configuration: [Ar] 3d<sup>6</sup> 4s<sup>2</sup>
- oxidation states: most common are bold

Notes:

- as of Jan. elements 113-118 have no official name designated by the IUPAC
- 1 kJ/mol = 96.485 eV
- all elements are assumed to have an oxidation state of zero

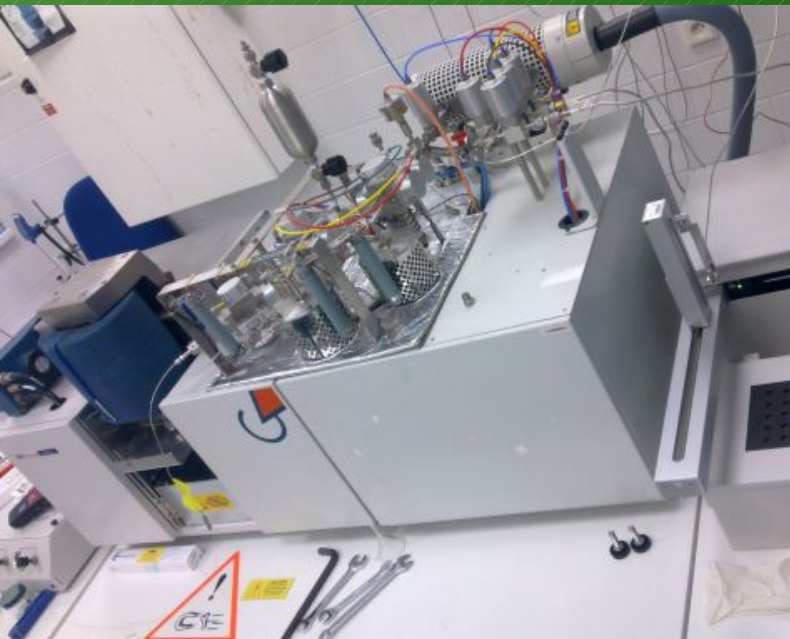






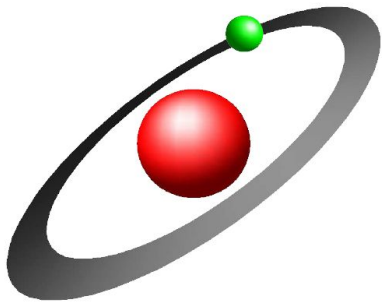
# *Analýza stabilních izotopů*

- míra zastoupení vyjádřená jako poměr minoritních a majoritních izotopů je měřena pomocí nejčastěji hmotnostní spektrometrie (MS) a nukleární magnetické rezonance (NMR)

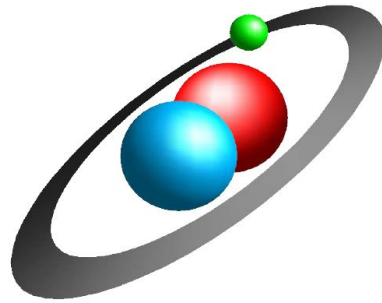


# Analýza stabilních izotopů

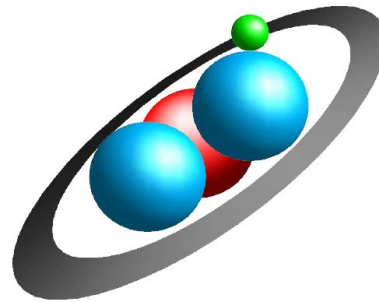
- Počet **neutronů** v jádře jednoho prvku může být proměnný
- Prvek má své **izotopy**
- Vodík jako chemický prvek tvoří **směs** jeho tří v přírodě nacházených **izotopů**
- Z hlediska výskytu má vodík 1 dominantní a 2 minoritní izotopy
- Z hlediska stability má vodík **2 stabilní izotopy** a 1 radioaktivní izotop



Vodík  $^1\text{H}$   
(99,985 %)



Deuterium  $^2\text{H}$   
(0,015 %)

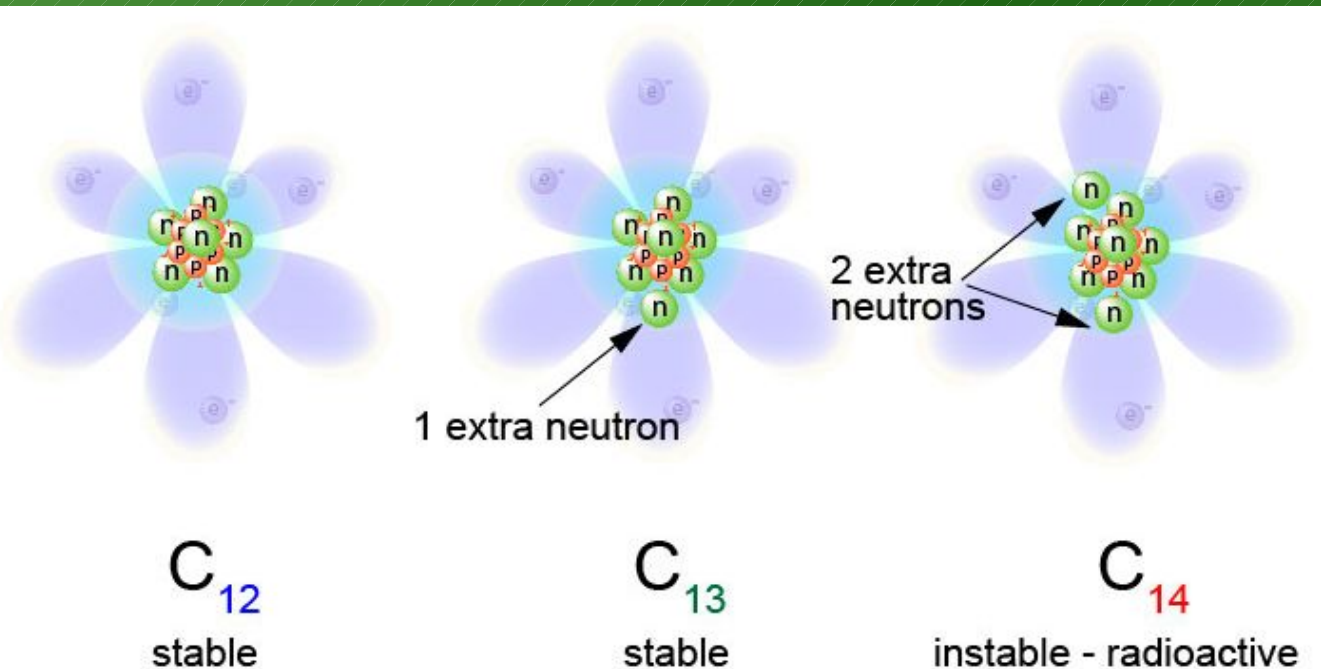


Tricium  $^3\text{H}$   
( $1 \times 10^{-16}$  %)



# Analýza stabilních izotopů

- Podobně **uhlík** jako chemický prvek tvoří **směs** jeho tři v přírodě nacházených **izotopů**
- Z hlediska výskytu má uhlík 1 dominantní a 2 minoritní izotopy
- Uhlík má **2 stabilní izotopy** a 1 radioaktivní izotop







# Analýza stabilních izotopů

- Výskyt stabilních izotopů H,C,O,N,S

| Prvek  | Majoritní stabilní izotop | Přirozený Výskyt (%) | Minoritní stabilní izotop | Přirozený Výskyt (%) |
|--------|---------------------------|----------------------|---------------------------|----------------------|
| Vodík  | $^1\text{H}$              | 99.984               | $^2\text{H}$              | 0.01557              |
| Uhlík  | $^{12}\text{C}$           | 98.892               | $^{13}\text{C}$           | 1.108                |
| Kyslík | $^{16}\text{O}$           | 99.759               | $^{18}\text{O}$           | 0.20004              |
| Dusík  | $^{14}\text{N}$           | 99.635               | $^{15}\text{N}$           | 0.365                |
| Síra   | $^{32}\text{S}$           | 95                   | $^{34}\text{S}$           | 4.21                 |



# Analýza stabilních izotopů

Jste to co jíte...

Průměrná 50 kg osoba v sobě má:

11.4 kg uhlíku z něhož

137 g tvoří uhlík  $^{13}\text{C}$

30.4 kg kyslíku z něhož

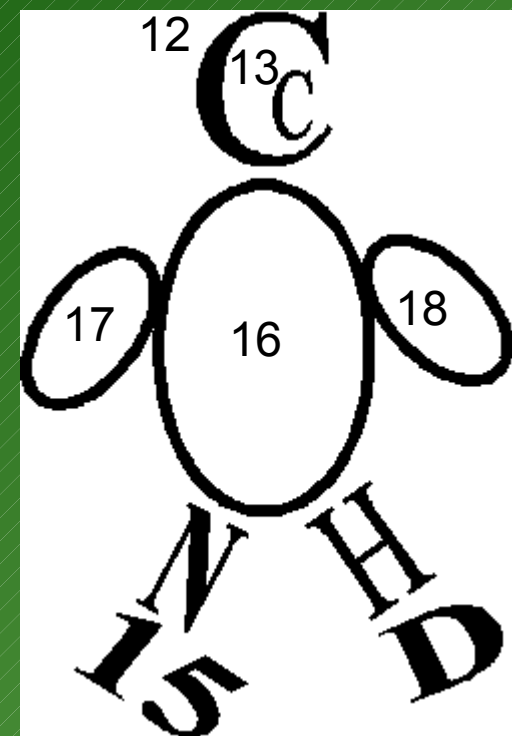
68.6 g tvoří kyslík  $^{18}\text{O}$

1.3 kg dusíku z něhož

5.1 g tvoří dusík  $^{15}\text{N}$

a 5 kg vodíku z něhož

1.5 g tvoří deuterium (D,  $^2\text{H}$ )







# Analýza stabilních izotopů

$$R = A_{\text{minor}}/A_{\text{major}}$$

$$\delta (\text{‰}) = 1000 (R_S - R_{\text{ref}})/R_{\text{ref}}$$

Příklad:

$$R_{\text{ref}} = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ PDB} = 0.011237$$

0 ‰ vs. PDB

Pee-Dee Belemnite

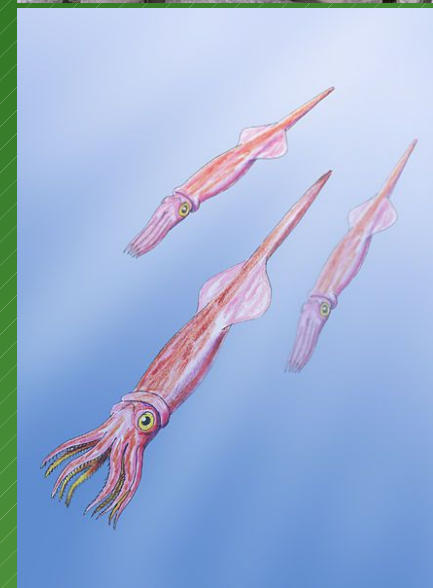
$$R_S = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ vzorek 1} = 0.011248$$

+1 ‰ vs. PDB

$$R_S = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ vzorek 2} = 0.011226$$

-1 ‰ vs. PDB

Poměr izotopů není konstantní!



# Analýza stabilních izotopů

- V roce 1940 Alfred Nier konstruuje první sektorový hmotnostní spektrometr
- V roce 1947 první hmotnostní spektrometr izotopových poměrů (IRMS - Isotope Ratio Mass Spectrometry) s dvojitým vstupem vzorku (Dual Inlet) a 2 kolektory dovolující simultánní měření 2 izotopů
- Sloužil k analýze  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  resp.  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  porovnáváním referenčního  $\text{CO}_2$  a  $\text{CO}_2$  vzniklého spálením neznámého vzorku

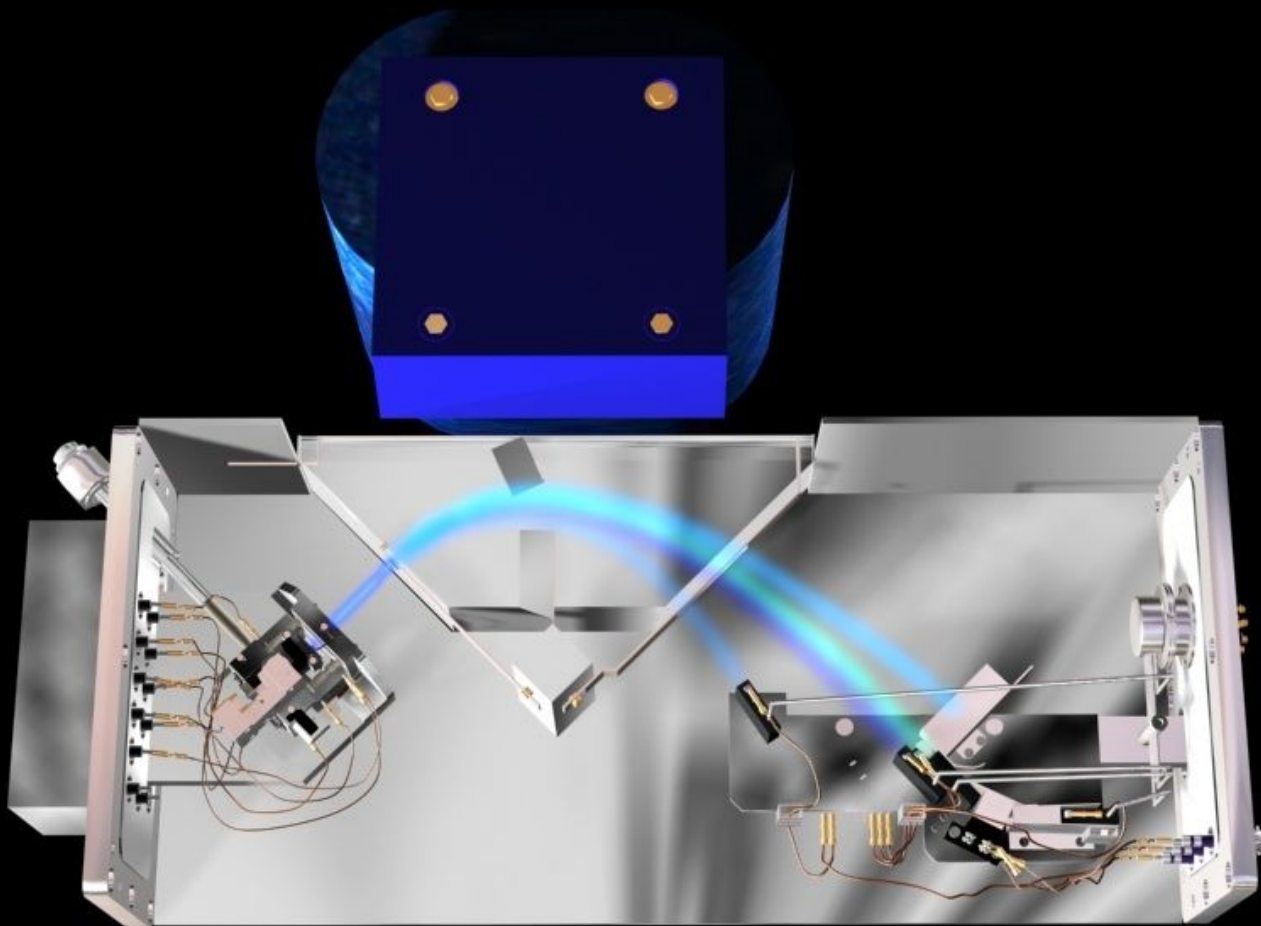


*J. Mass Spectrom.* 2006; 41: 847–854



# *Analýza stabilních izotopů*

- Moderní hmotnostní spektrometr izotopových poměrů



GVI Ltd.

© SZPI

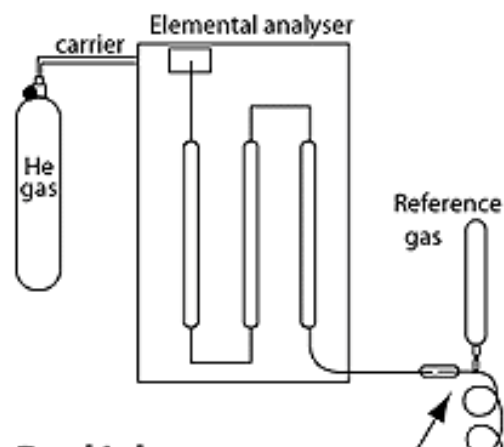




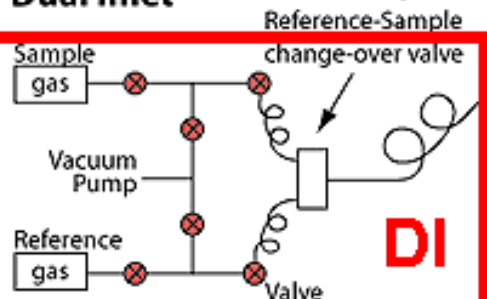
# Analýza stabilních izotopů

- Moderní hmotnostní spektrometr izotopových poměrů EA-DI-IRMS

## Continuous Flow Inlet

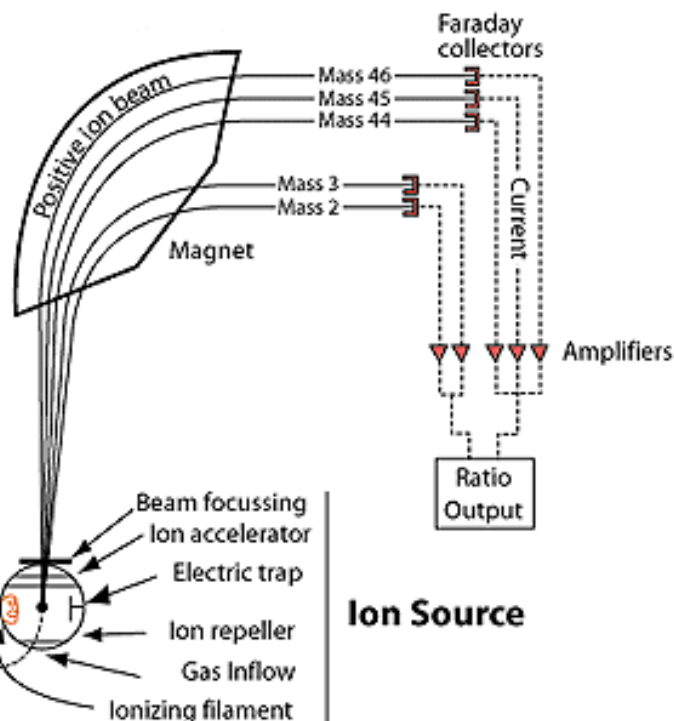


## Dual Inlet



DI

## Detection



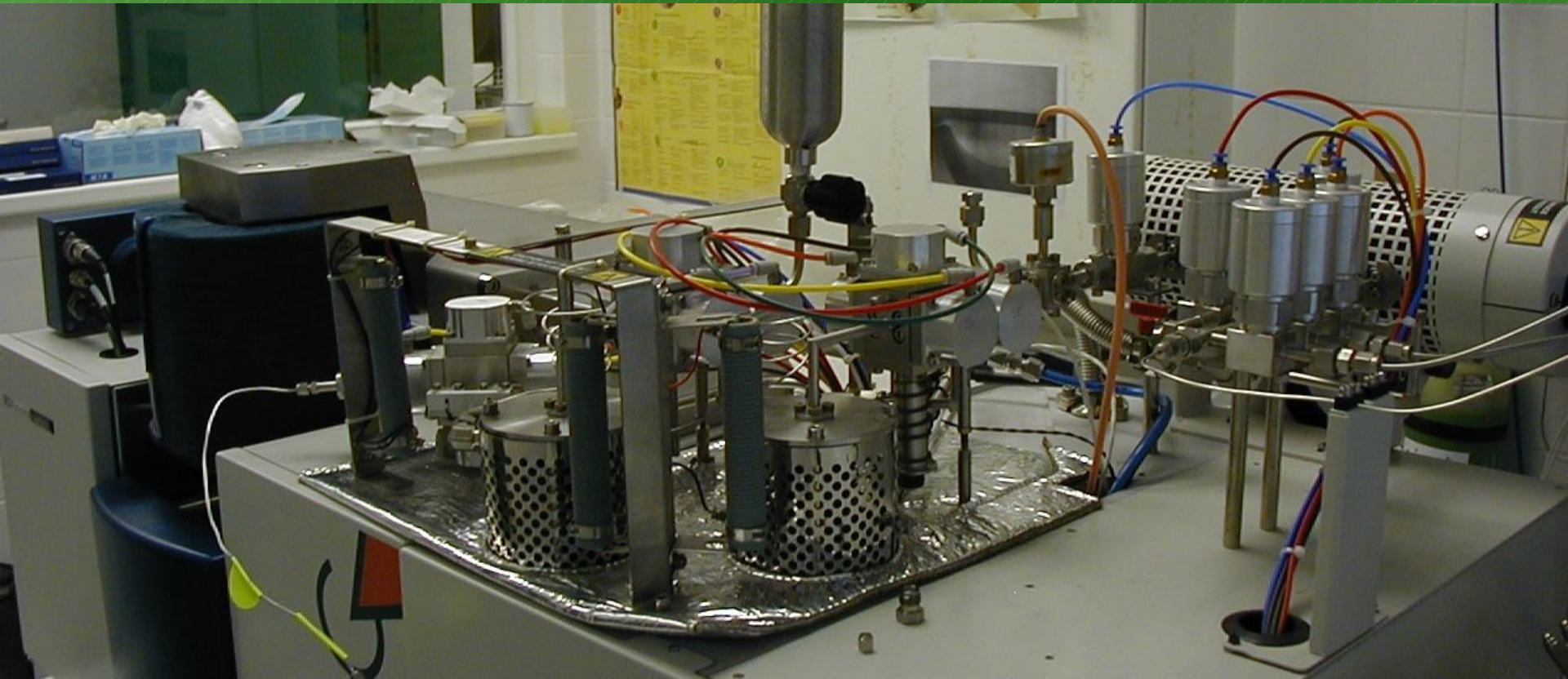
## Ion Source

IRMS

Je spojován s rozhraním DI (Dual inlet) pro automatickou střídavou analýzu dvou vzorků vč. jejich automatické přípravy

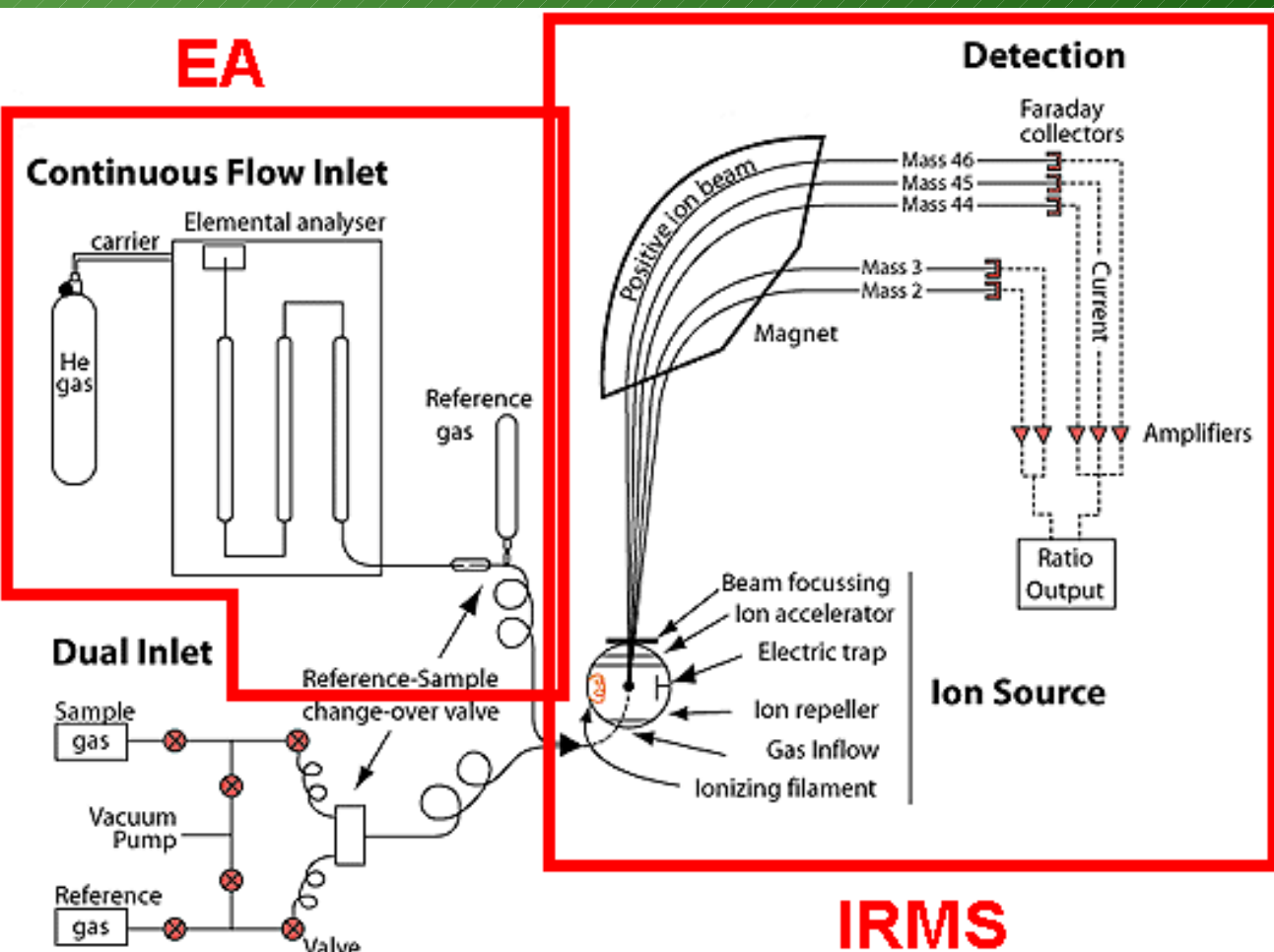
# *Analýza stabilních izotopů*

- Moderní hmotnostní spektrometr izotopových poměrů EA-DI-IRMS



# Analýza stabilních izotopů

- Moderní hmotnostní spektrometr izotopových poměrů EA-DI-IRMS



Je spojován s rozhraním EA (Elemental analysis) pro tzv. on-line analýzu vzorku teplotní konverzí Na jednoduché plyny jako  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{SO}_2$  atd.

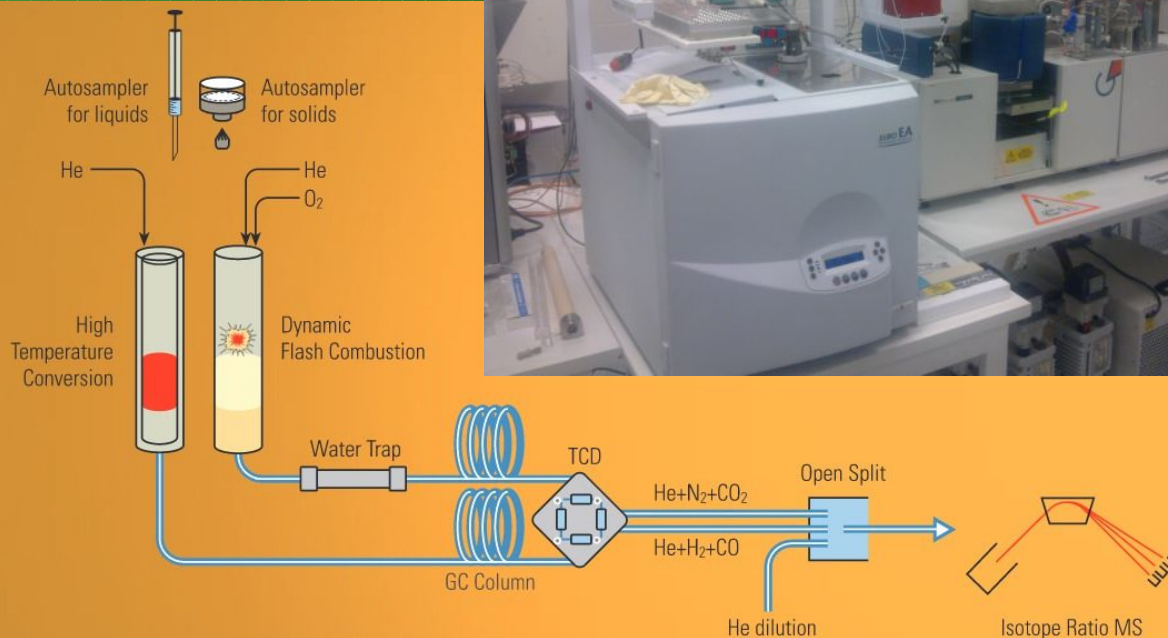


# Analýza stabilních izotopů

- Moderní hmotnostní spektrometr izotopových poměrů EA-DI-IRMS



Je spojován s rozhraním EA (Elemental analysis) pro tzv. on-line analýzu vzorku teplotní konverzí na jednoduché plyny jako  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{SO}_2$  atd.



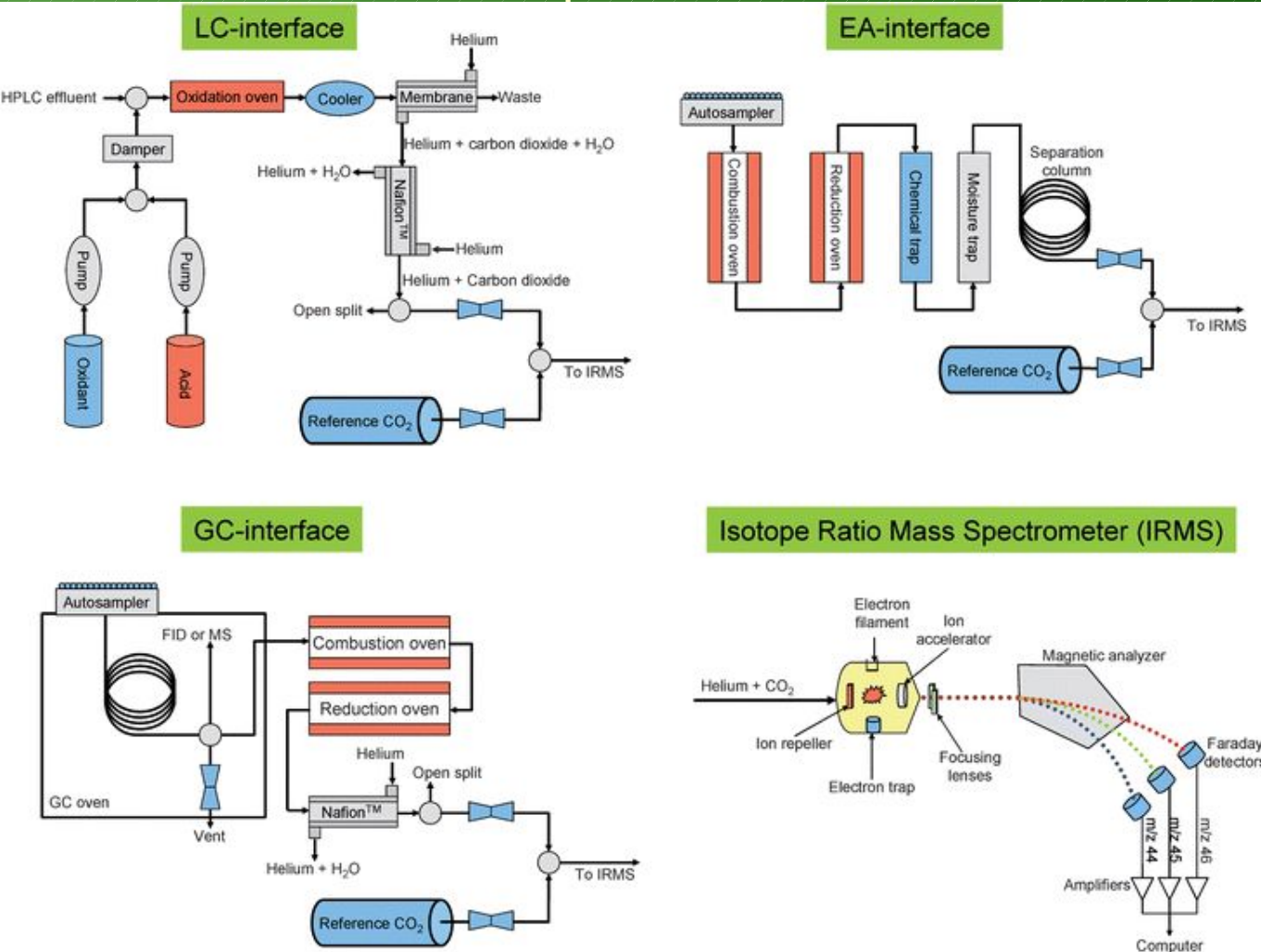
thermoscientific.com

© SZPI



# Analýza stabilních izotopů

## Moderní rozhraní pro IRMS

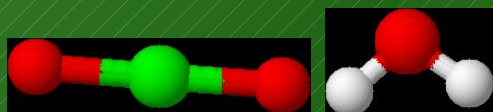
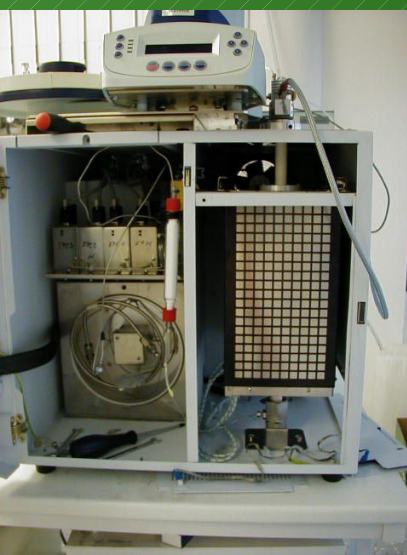
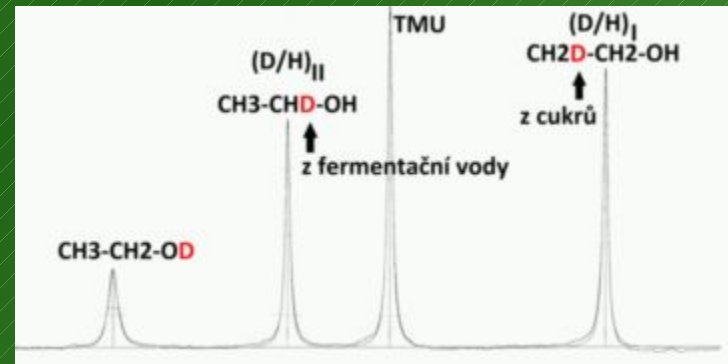
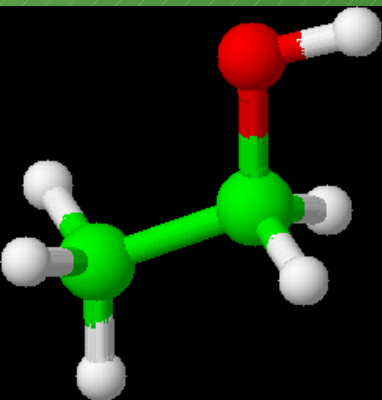


Rozhraní s kapalinovou a plynovou chromatografií umožňují analýzu izotopových poměrů jednotlivých složek potravin



# Analýza stabilních izotopů

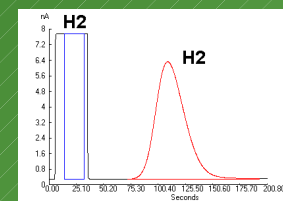
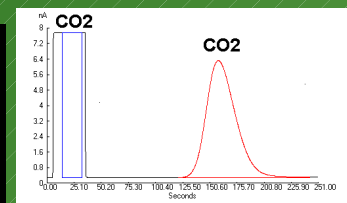
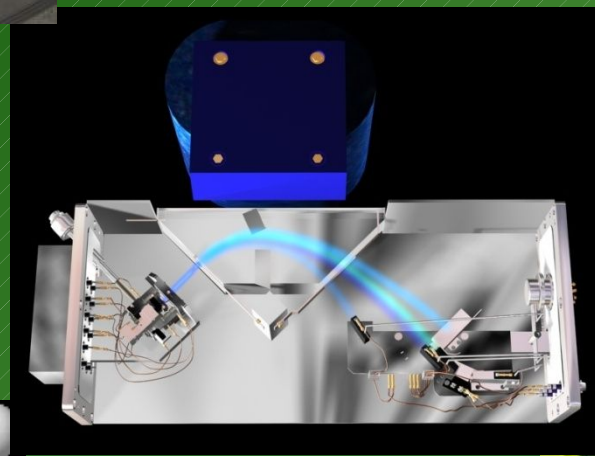
## IRMS versus NMR



1000°C, O<sub>2</sub>



1400°C





# Analýza stabilních izotopů



V roce 1981 G.J. Martin měří zastoupení deuteria na přirozených úrovních pomocí kvantitativní NMR – Metodu pojmenuje **SNIF-NMR (Site-specific Natural Isotope Fractionation)** (NMR přirozené frakcionace izotopů na specifických místech molekul)  
SNIF-NMR dokáže rozlišit jednotlivé polohy vodíků (uhlíku) na organických molekulách a u každé zvlášť měřit zastoupení deuteria ( $^{13}\text{C}$ )



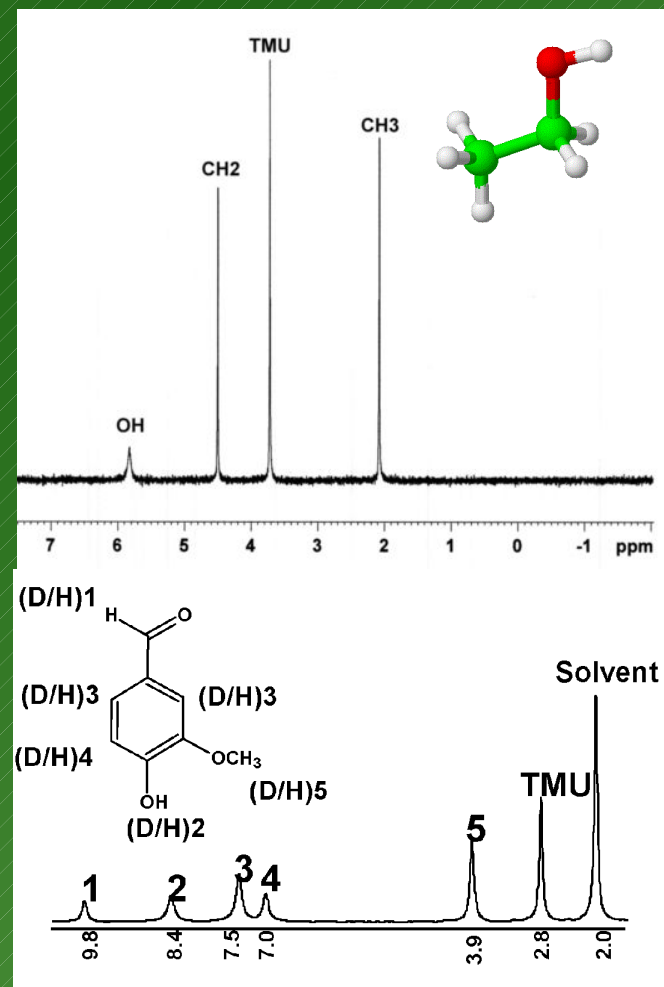
Martin, G. J. & Martin, M. L.: *Tetrahedron Letters*, 1981, 22, 3525

Caer, V.; Trierweiler, M.; Martin, G. J. & Martin, M. L.: *Analytical Chemistry*, 1991, 63, 2306-2313



# Analýza stabilních izotopů

- měřena deuteriová spektra
- stabilizace pole na fluor
- Vzhledem k nízkému zastoupení poměru  $^2\text{H}$  je nutné opakované měření spekter (akumulace) a kontrola experimentu na S/N (150) ratio a SD
- 10 spekter/1 vz. (ethanol, vanillin)
- ~ 200 scanů/spektrum (ethanol, 400 MHz)
- ~ 3300 scanů/spektrum (vanillin, 500 MHz)
- vyhodnocena výška píků D/H1 a D/H2 ethanolu (D/H1,3-5 vanillinu)
- porovnávána s vnitřním standardem TMU s deklarovaným zastoupením D/H



# Analýza stabilních izotopů

- Poměry zastoupení stabilních izotopů v potravinách v sobě ukrývají vzácnou avšak **nespecifickou informaci o původu potraviny nebo její složky** z pohledu **botanického/živočišného, geografického**, z pohledu **klimatických podmínek pěstování/chovu** či **způsobu pěstování/chovu**
- Proto **zpravidla není možné** tyto informace využít k **určení původu zcela neznámé potraviny**, ale využívají se především k potvrzení nebo vyvrácení **deklarace výrobce**, který potravinu uvádí na trh.



vína z Moravy  
vína z Čech





# Analýza stabilních izotopů

- ...je tedy především zaměřena na potraviny s **podrobnou deklarací a vysokou přidanou hodnotou**, a tedy i vyšší koncovou cenou, které jsou oblíbeným cílem falšovatelů, kteří nahrazují suroviny na její výrobu za levnější, vydávají méně kvalitní potraviny za kvalitnější příp. falšují jejich geografický původ nebo způsob pěstování/chovu
- **Vína vyšší jakosti, lihoviny s deklarovaným botanickým původem, 100% ovocné šťávy, kvasné octy, olivové oleje, káva, med, maso a sýry vysoké přidané hodnoty, ryby, biozelenina atd.**



# Analýza stabilních izotopů

- **Omezení**
- analýza zastoupení stabilních izotopů **není** samospasitelná – **nemůže nahradit** klasické kvalitativní znaky potravin
- **je velmi nákladná** (cca 100-1000 €)
- pro analýzu **složek potravin** je před finální analýzou nutná jejich **zdlouhavá a náročná izolace** v co možná nejvyšší čistotě za často velmi limitujících podmínek
- i **falšovaná potravina může být označena jako vyhovující** (NIKDY BY TO VŠAK NEMĚLO PLATIT OPAČNĚ!)





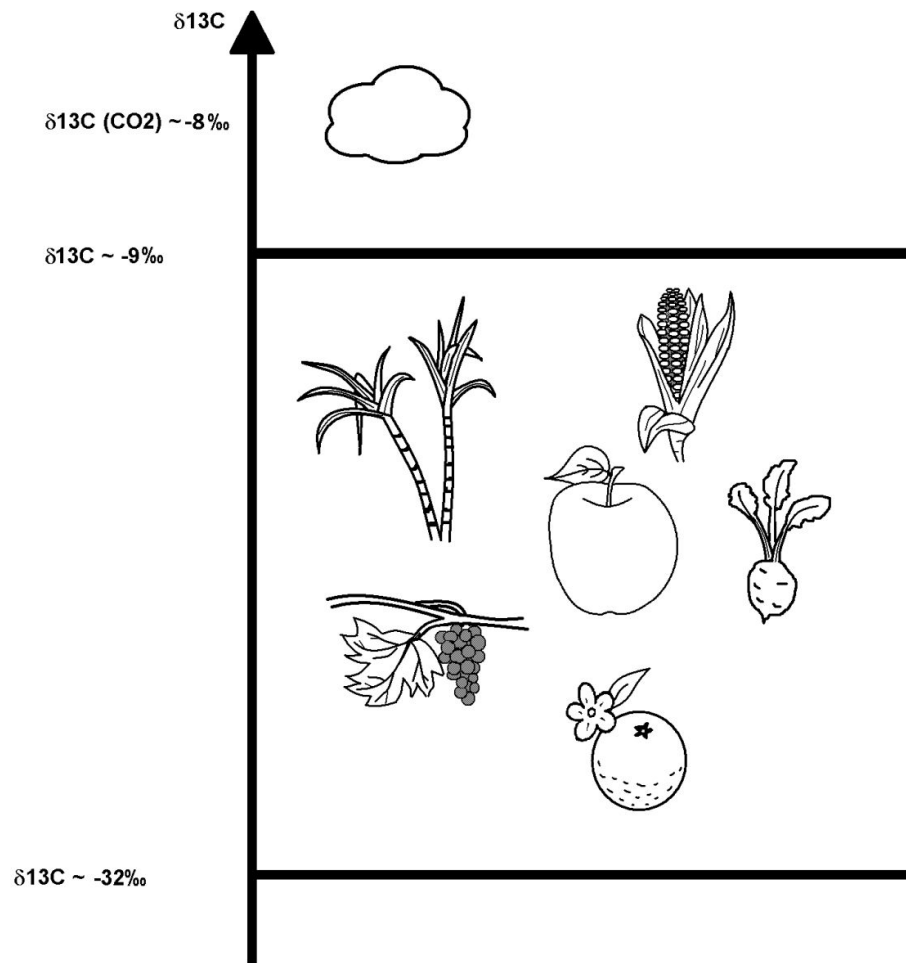
# *Analýza stabilních izotopů*

- už víme **CO** měříme – zastoupení stabilních izotopů biogenních prvků H, C, O, N, S
- už víme **JAK** to měříme – pomocí hmotnostních spektrometrů izotopových poměrů (IRMS) nebo Nukleární magnetické rezonance (NMR)
- jen stále pořádně nevíme **PROČ** to měříme?
- **Jaké zákonitosti využívá a jaké informace přináší analýza poměrů stabilních izotopů v potravinách?**



# Autentifikace rostlinných produktů

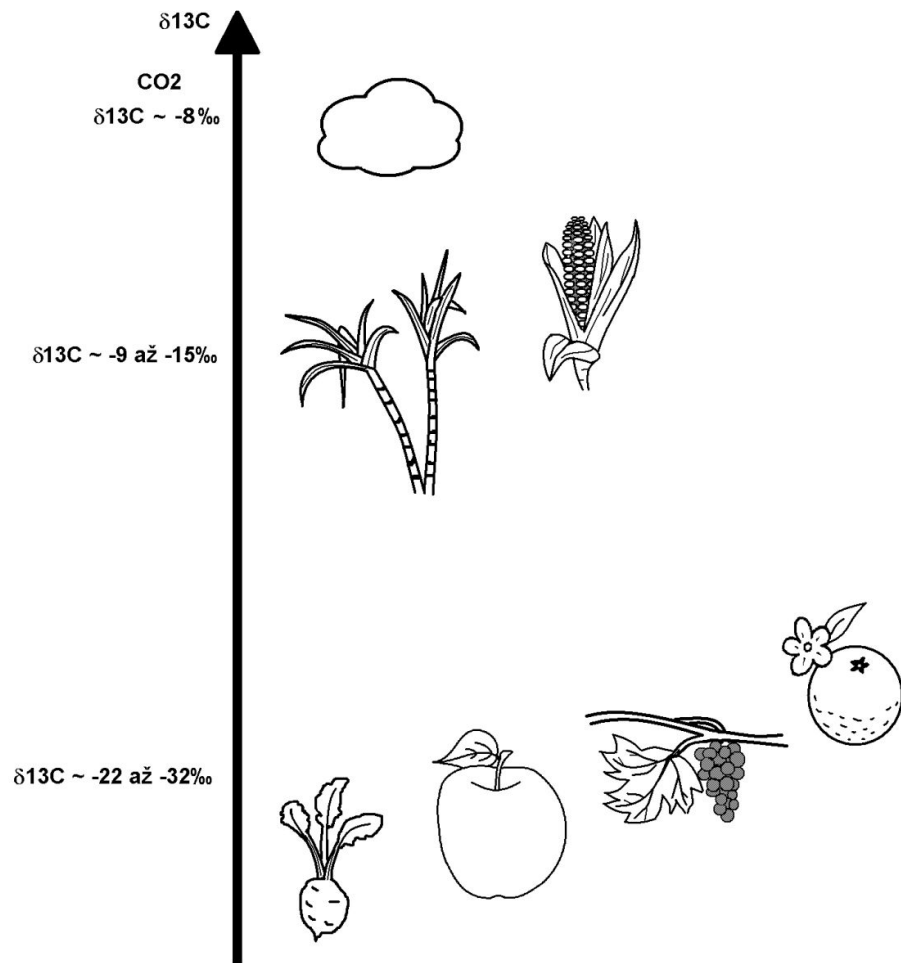
- $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  rostlin
- izotopová frakcionace během fotosyntézy



Park, R. ; Epstein, S.: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1960, 21, 110  
Keeling, C. D. : *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1961, 24, 299

# Autentifikace rostlinných produktů

- $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  rostlin
- Dvě skupiny vyšších rostlin podle  $\delta^{13}\text{C}$

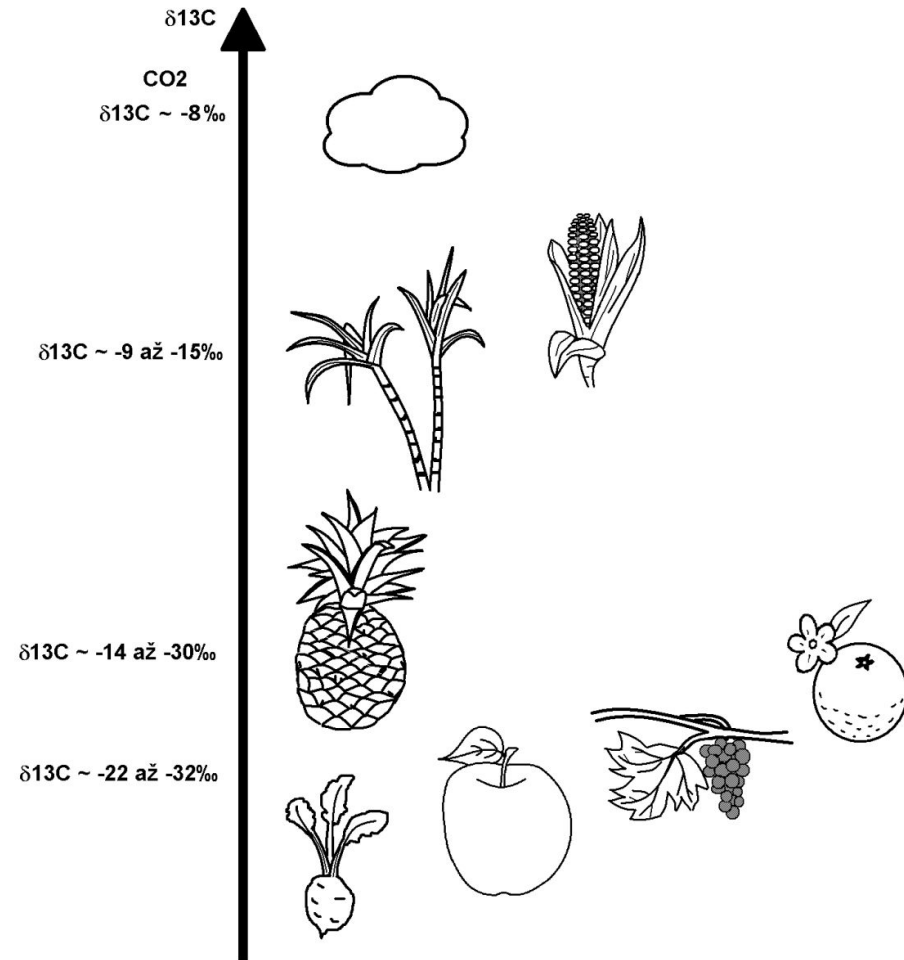


Bender, M. M.: *Radiocarbon*, 1968, 10, 468

Smith, B. N. & Epstein, S.: *Plant Physiology*, 1971, 47, 380

# Autentifikace rostlinných produktů

- $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  rostlin
- Třetí skupina podle  $\delta^{13}\text{C}$







# Autentifikace rostlinných produktů

- Calvin a Benson (1948) – tzv. **Calvinův cyklus** mechanismus asimilace  $\text{CO}_2$  rostlinami, tzv. C3 cyklus
- Ranson (1960) – **cyklus rostlin CAM**
- Hatch a Slack (1966) – fotosyntéza ve třinových listech – tzv. **Hatch-Slackův** – též C4 – **cyklus** asimilace  $\text{CO}_2$

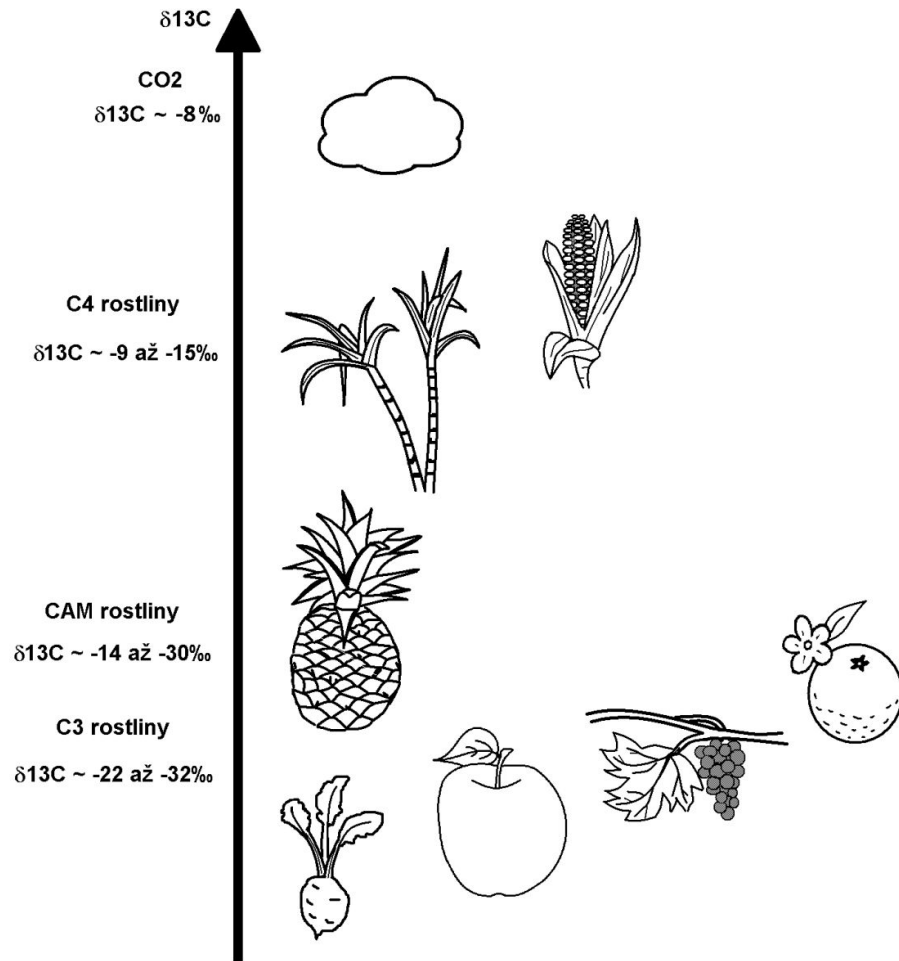
Calvin, M. ; Benson, A. A.. *Science*, **1948**, 107, 476-80

Ranson, S. L. ; Thomas, M: *Annual Review of Plant Physiology*. **1960**, 11, 81-110

Hatch, M. D. ; Slack, C. R.: *The Biochemical Journal*, **1966**, 101, 103-111

# Autentifikace rostlinných produktů

- Atmosférické CO<sub>2</sub>
- **C4 rostliny** (cukrová třtina, kukuřice, proso, čirok..)
- **CAM rostliny** (ananas, agáve, kaktusy, vanilka...)
- **C3 rostliny** (vinná réva, obilí, brambory, cukrová řepa, pomeranče, jablka, švestky, meruňky...)

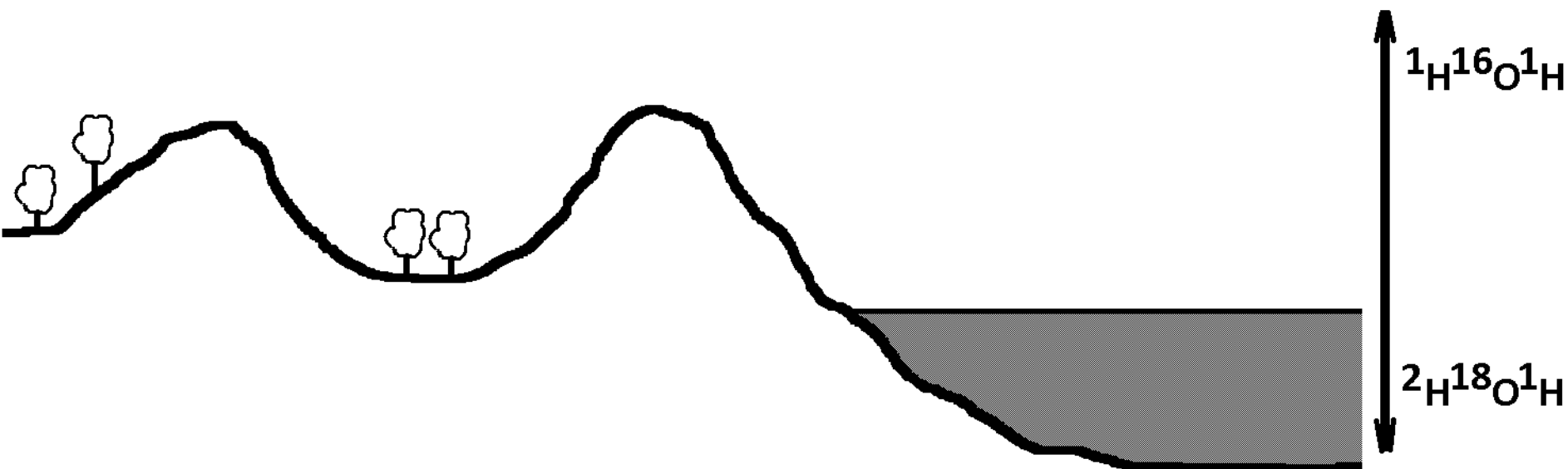




# Autentifikace rostlinných produktů

|        |                 |        |                 |         |
|--------|-----------------|--------|-----------------|---------|
| Vodík  | $^1\text{H}$    | 99.984 | $^2\text{H}$    | 0.01557 |
| Kyslík | $^{16}\text{O}$ | 99.759 | $^{18}\text{O}$ | 0.20004 |

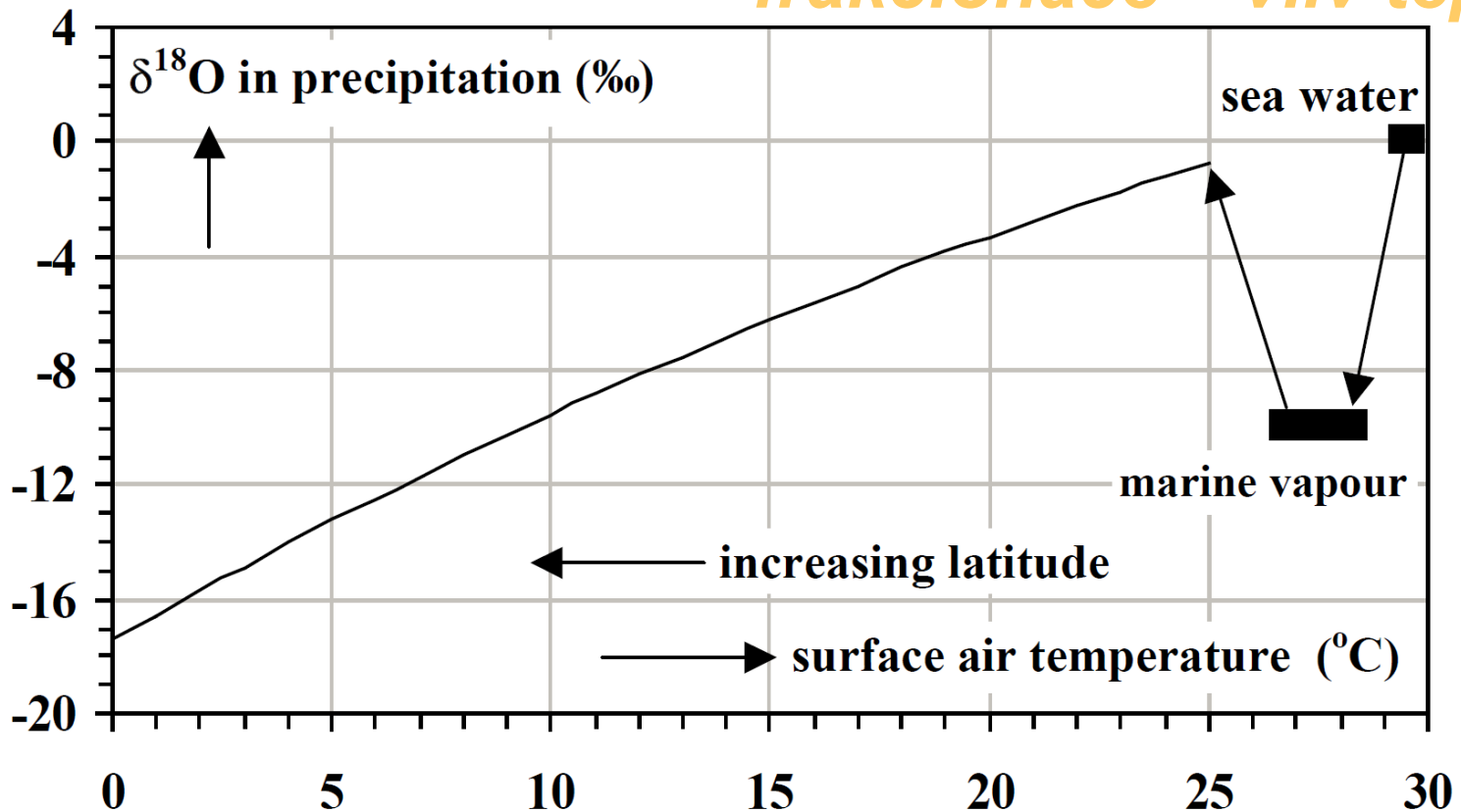
frakcionace



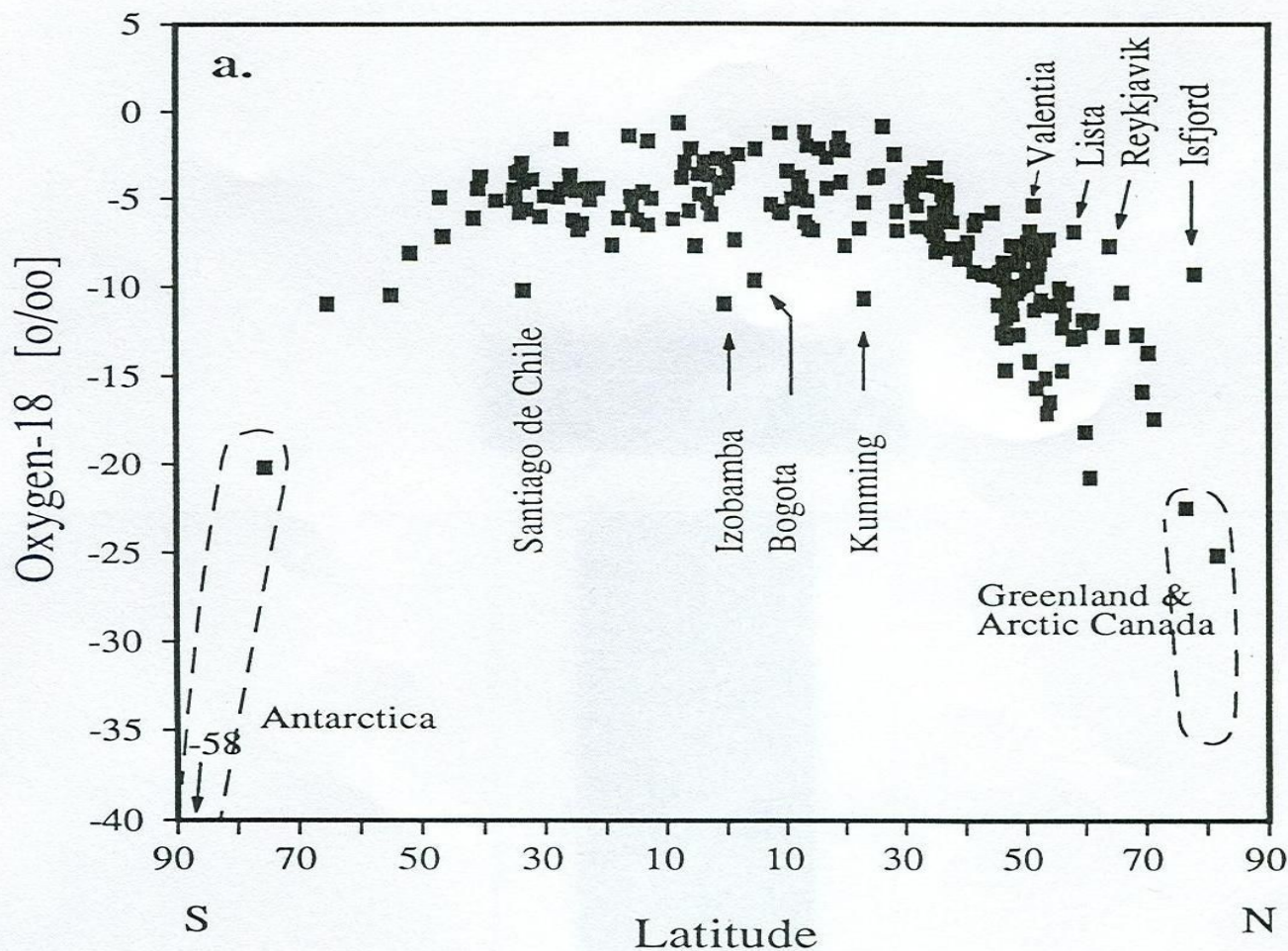


# Autentifikace rostlinných produktů

frakcionace – vliv teploty

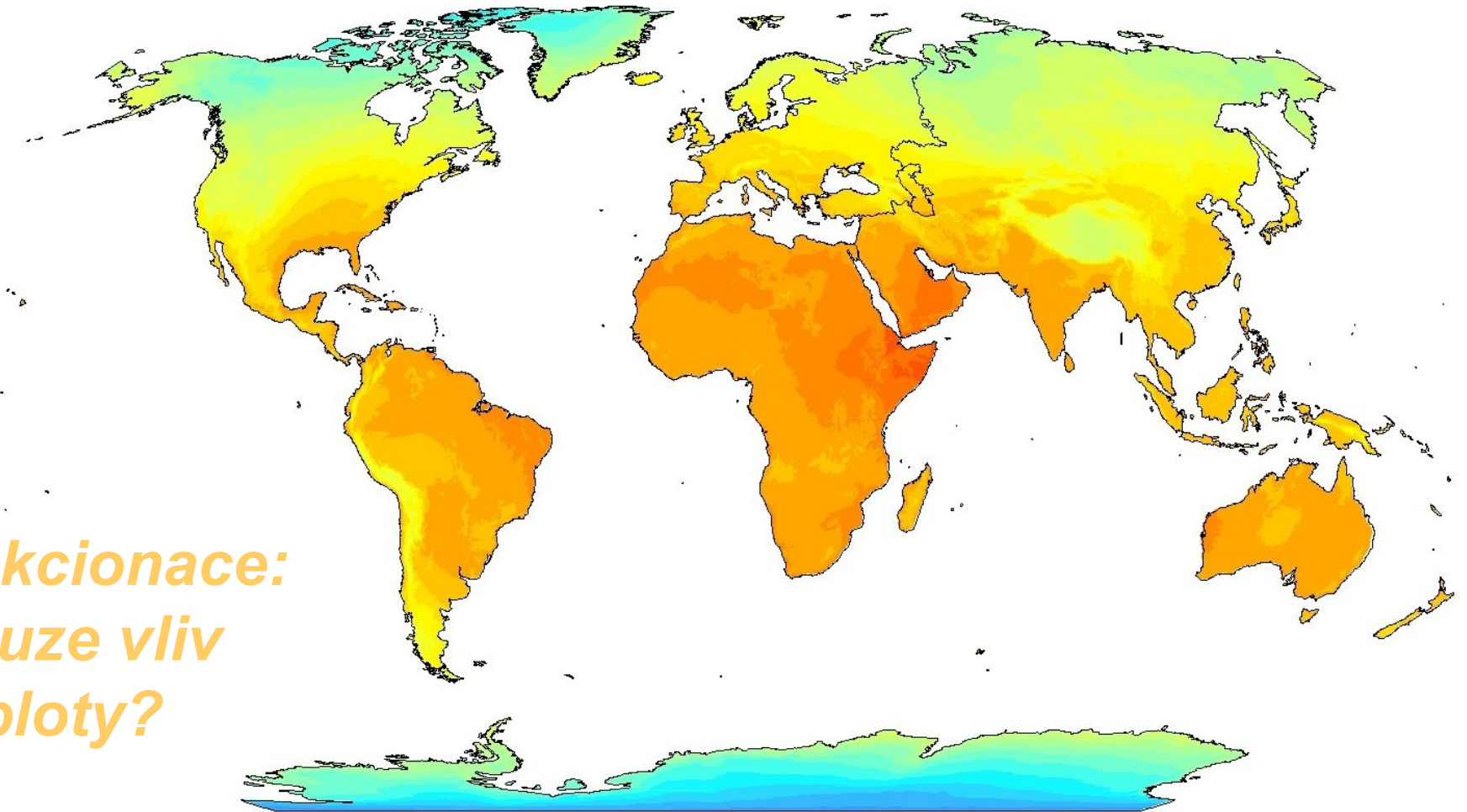


# Autentifikace rostlinných produktů



*frakcionace  
– vliv teploty*

# Autentifikace rostlinných produktů



*frakcionace:  
pouze vliv  
teploty?*

$\delta^2\text{H}$  of Annual Precipitation

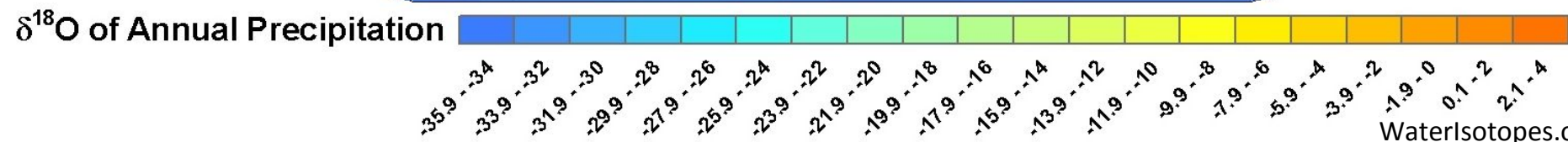
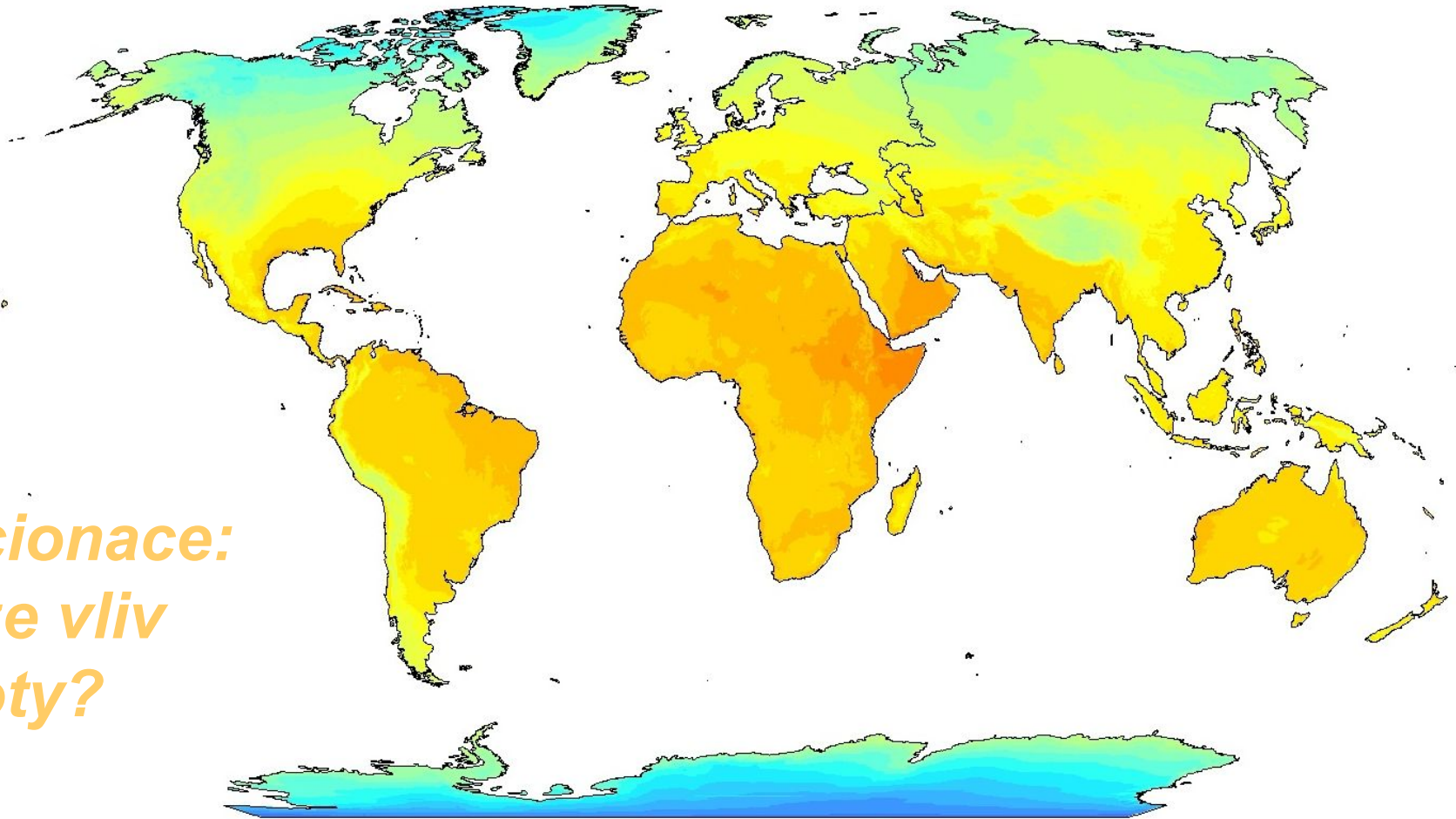




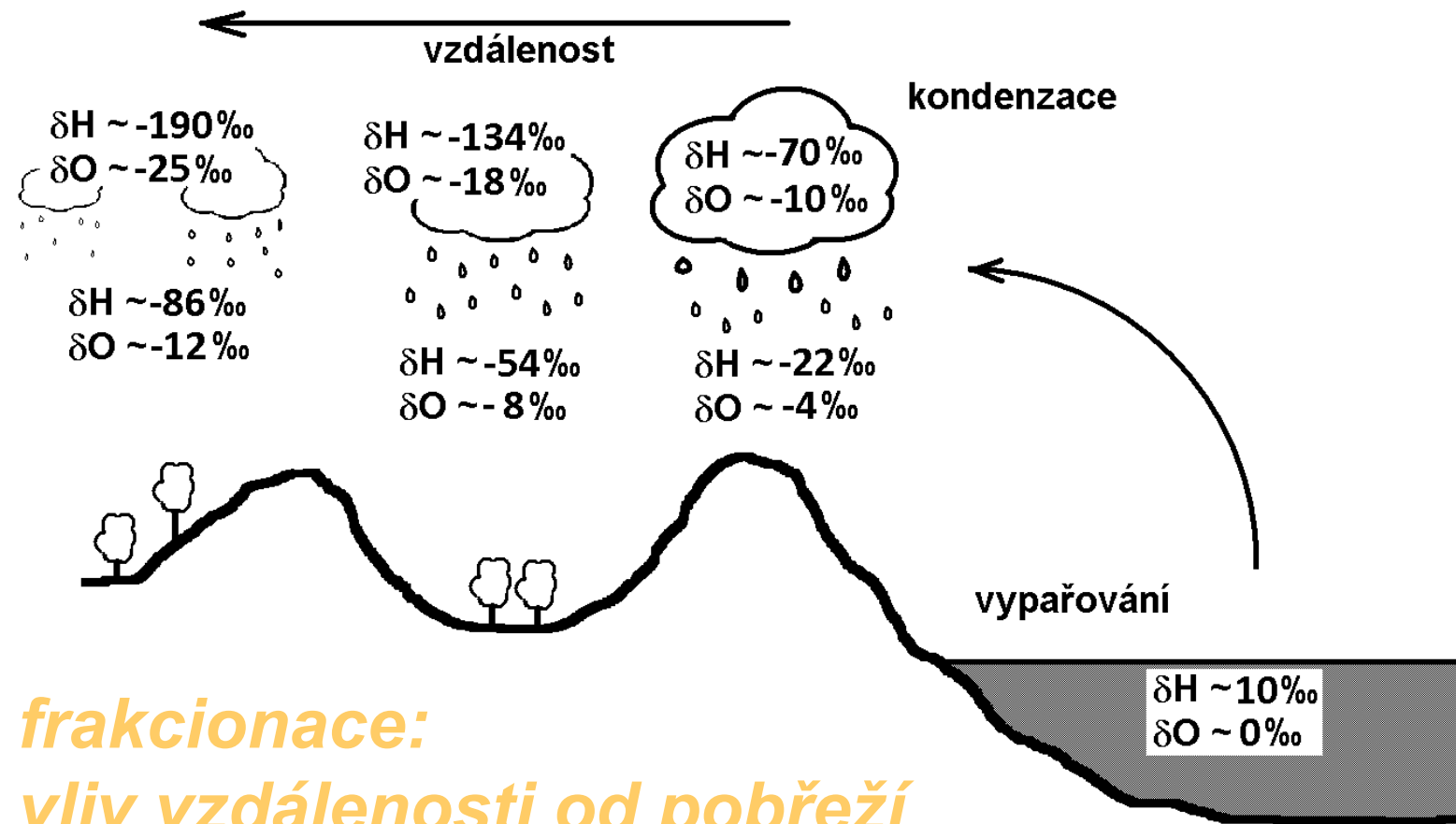
# Autentifikace rostlinných produktů



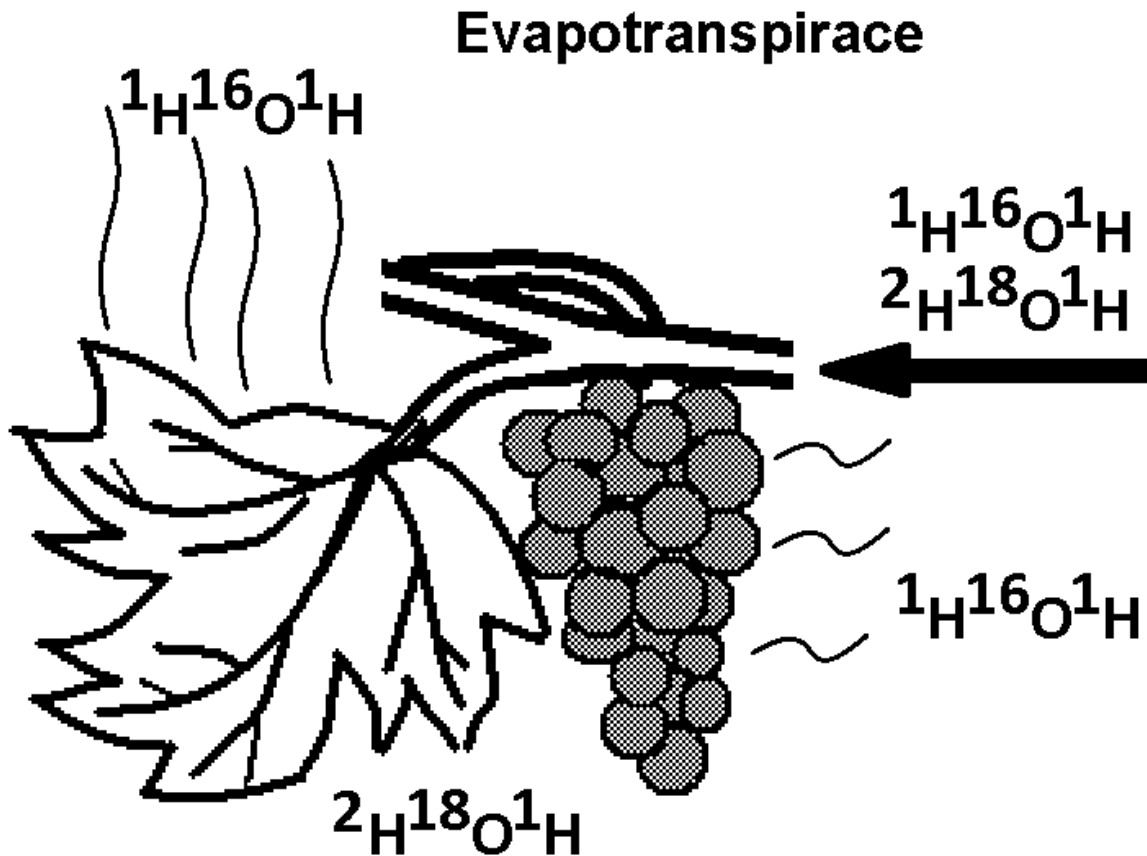
*frakcionace:  
pouze vliv  
teploty?*



# Autentifikace rostlinných produktů



# Autentifikace rostlinných produktů

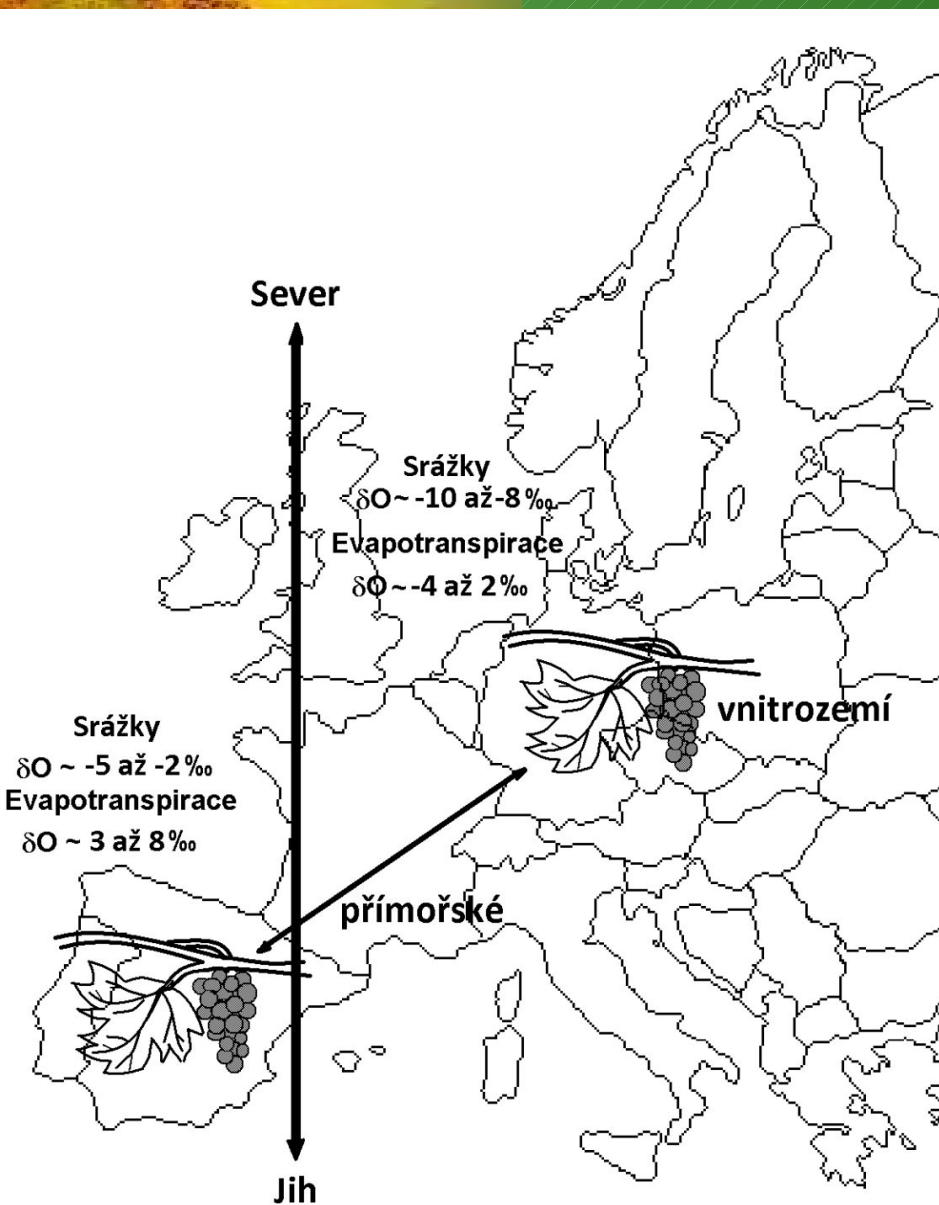


Frakcionace  
Evapotranspirace





# Autentifikace rostlinných produktů



frakcionace:

- vliv teploty
- množství srážek
- vzdálenosti od pobřeží
- nadmořské výšky

kombinace jevů



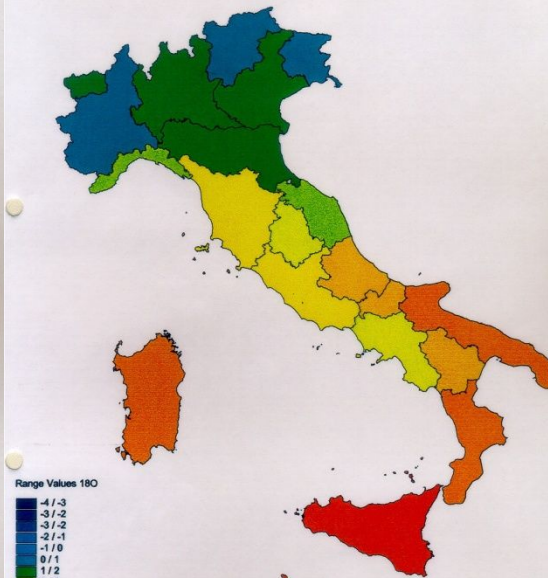
# Autentifikace rostlinných produktů

Frakcionace, kombinace jevů  $\delta^{18}\text{O}$  vín: Itálie 1993-1995

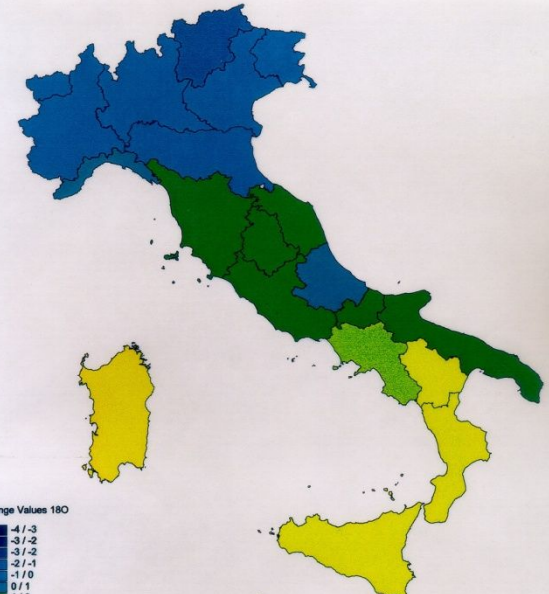
180 MEAN VALUES - ITALY 1993



180 MEAN VALUES - ITALY 1994



180 MEAN VALUES - ITALY 1995



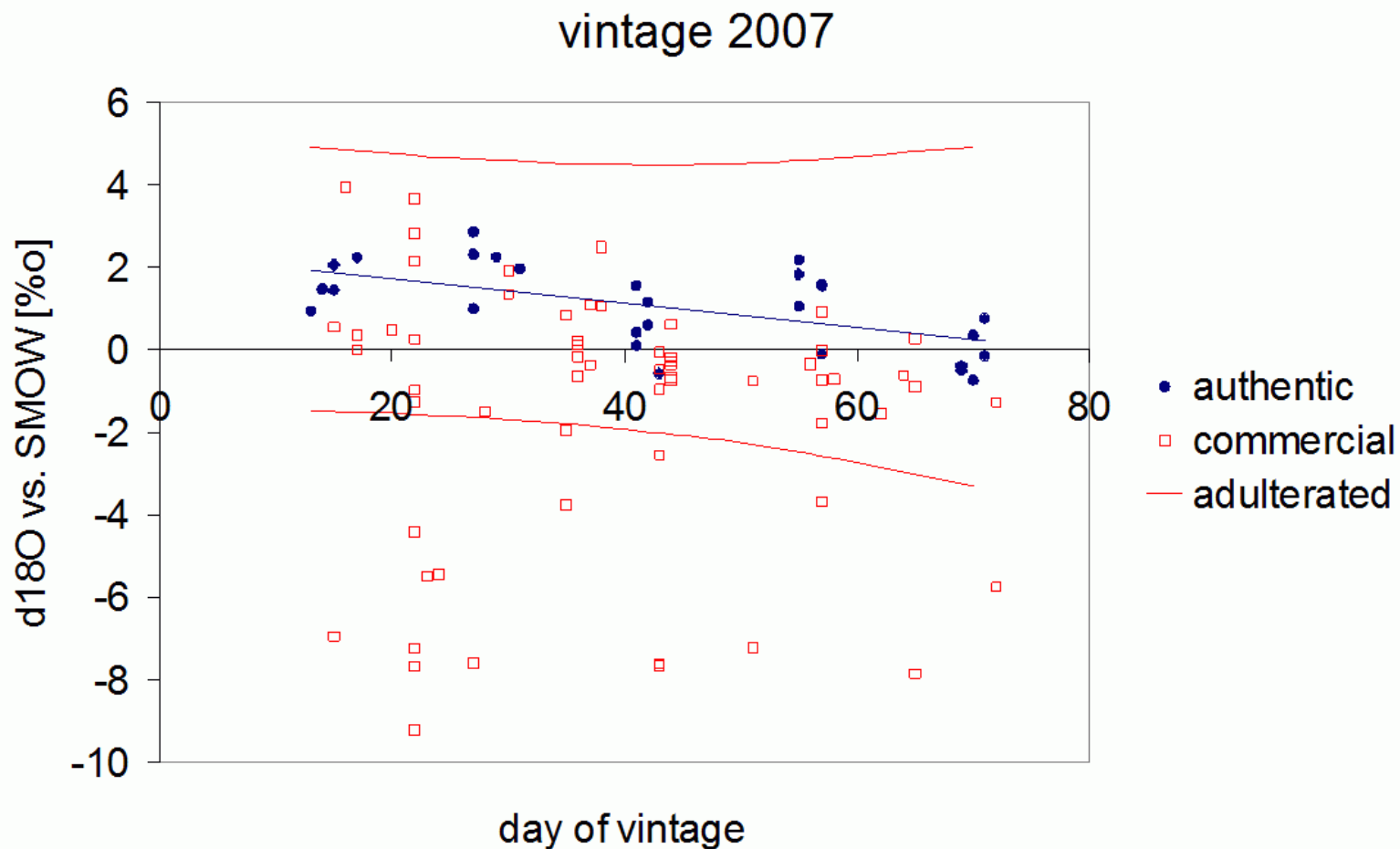
# Autentifikace rostlinných produktů

- Stanovení  $\delta^{18}\text{O}$  vody v potravinách umožňuje rozpoznat zda je voda původní nebo byla do produktu přidána
- Slouží také jako důležitý ukazatel geografického původu potravin
- Používá se zejména odhalení nedovoleného přídavku vody a geografického původu vín, ovocných šťáv typu „fresh“, kvasných octů nebo i mléka





# Autentifikace rostlinných produktů



# Autentifikace rostlinných produktů

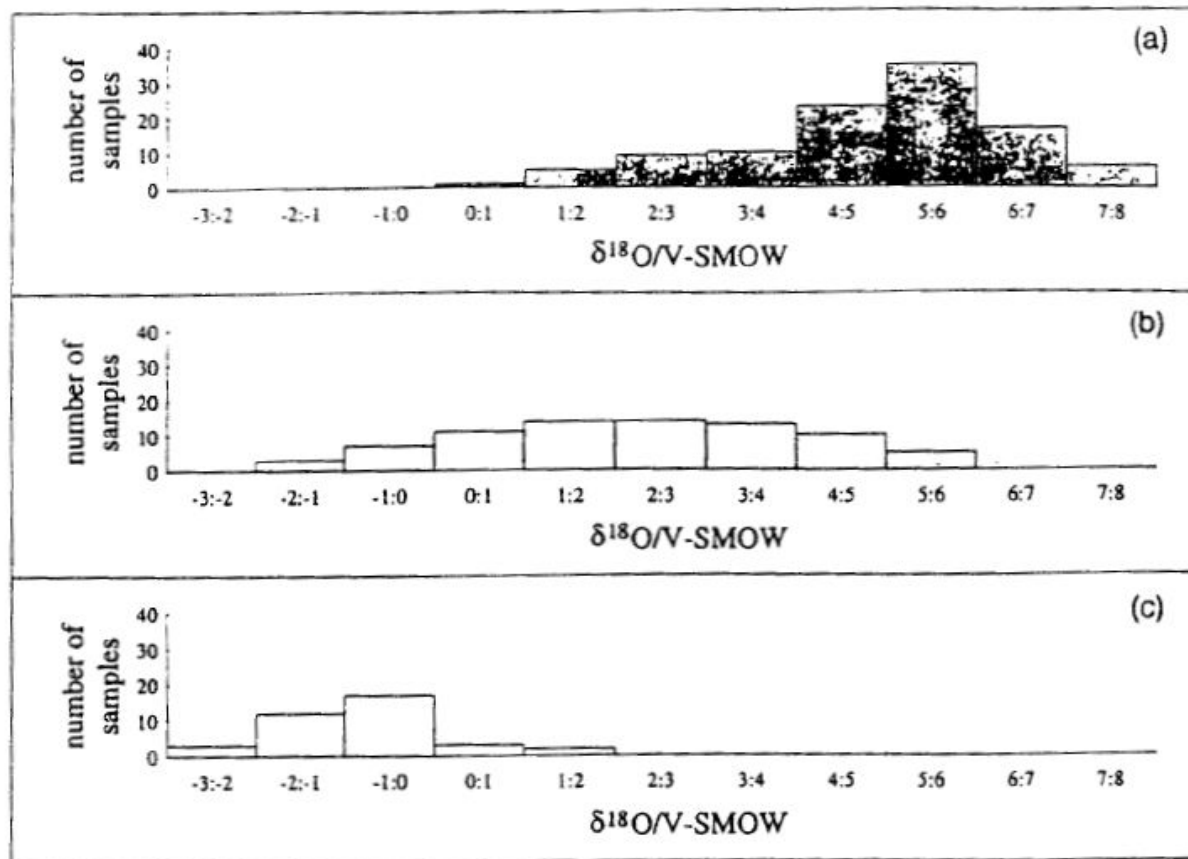


Figure 3.  $^{18}\text{O}$  content of wines from different European countries: (a) warmer European countries, (b) temperate European countries, (c) humid and colder European countries.

# Autentifikace rostlinných produktů

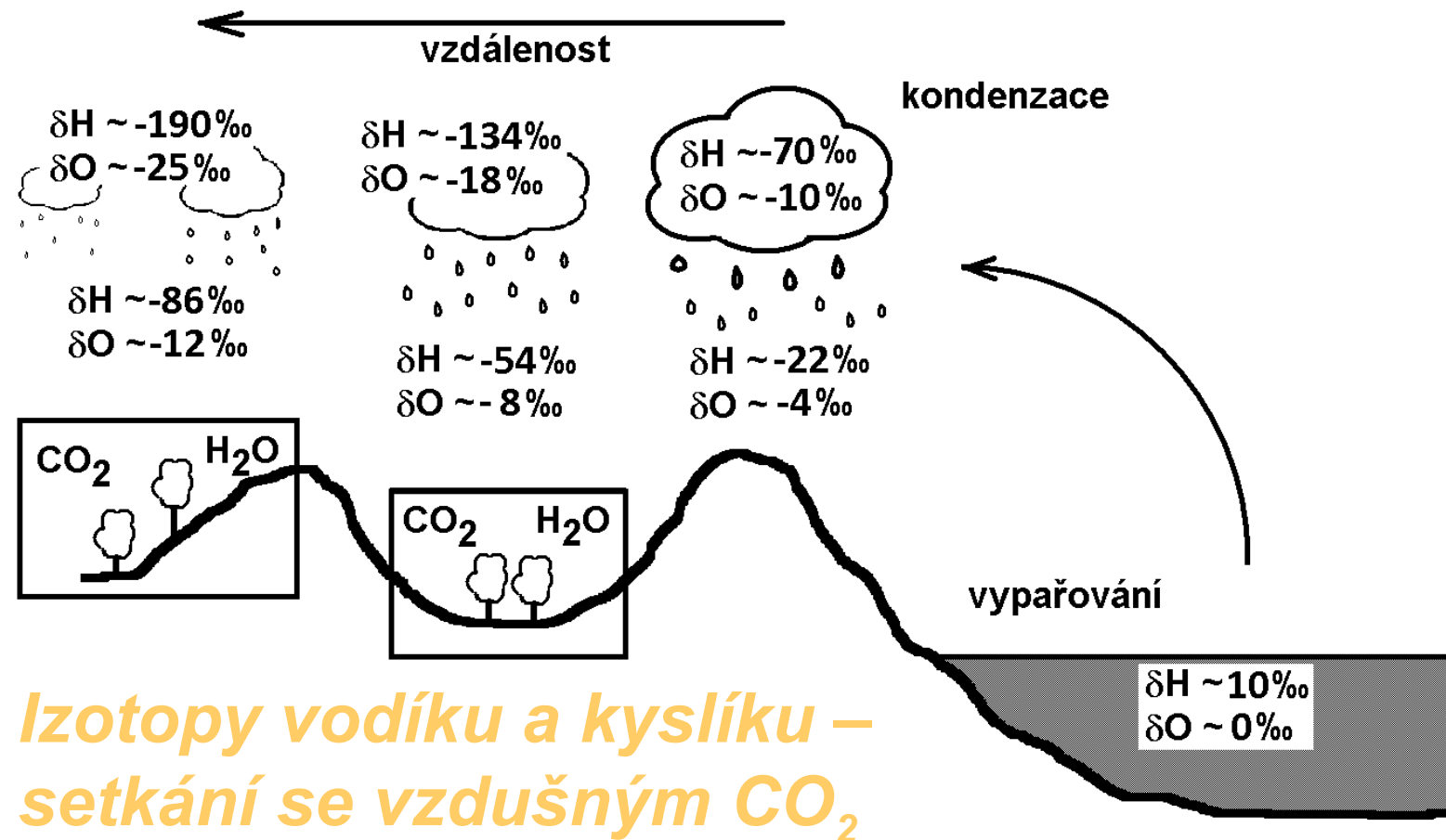
Table I.  $\delta^{18}\text{O}$  Measurements of the Water in a Variety of Fruits and Vegetables

| Fruit        | $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}\text{‰}$ | Vegetable             | $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}\text{‰}$ |
|--------------|---------------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------|
| Pomegranate  | -3.5                                        | Potato                | -4.9                                        |
| Blackberry   | +2.7                                        | Kumera (sweet potato) | -3.7                                        |
| Apple        | -0.4                                        | Zucchini              | -3.7                                        |
| Pear         | -0.3                                        | Cucumber              | -3.5                                        |
| Orange       | -1.9                                        | Marrow                | -2.2                                        |
| Lemon        | -2.5                                        | Tomato (ripe)         | -3.1                                        |
| Grapefruit   | +1.8                                        | Tomato (unripe)       | -2.4                                        |
| Plum         | 0.0                                         | Watermelon            | -4.9                                        |
| Nectarine    | -0.4                                        | .                     |                                             |
| Peach        | -1.2                                        |                       |                                             |
| Passionfruit | -3.4                                        |                       |                                             |
| Guava        | -3.9                                        | Local water           | -7.5 <sup>a</sup>                           |
| Strawberry   | -0.5                                        |                       |                                             |
| Mandarin     | -2.9                                        |                       |                                             |
| Tamarillo    | -2.0                                        |                       |                                             |
| Fejoa        | -5.6                                        |                       |                                             |
| Rosehip      | -3.5                                        |                       |                                             |
| Kiwifruit    | -3.4                                        |                       |                                             |

<sup>a</sup> With small seasonal variations



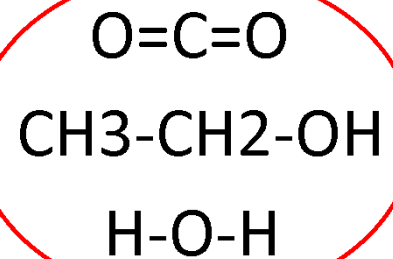
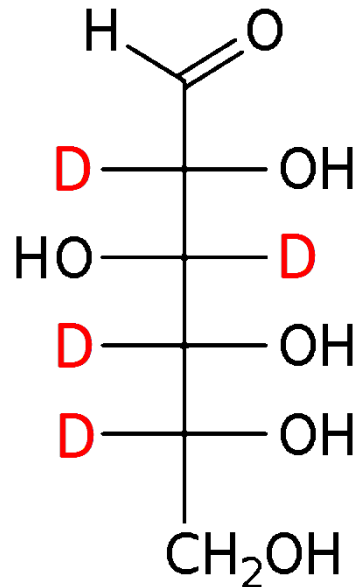
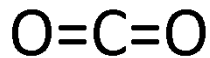
# Autentifikace rostlinných produktů



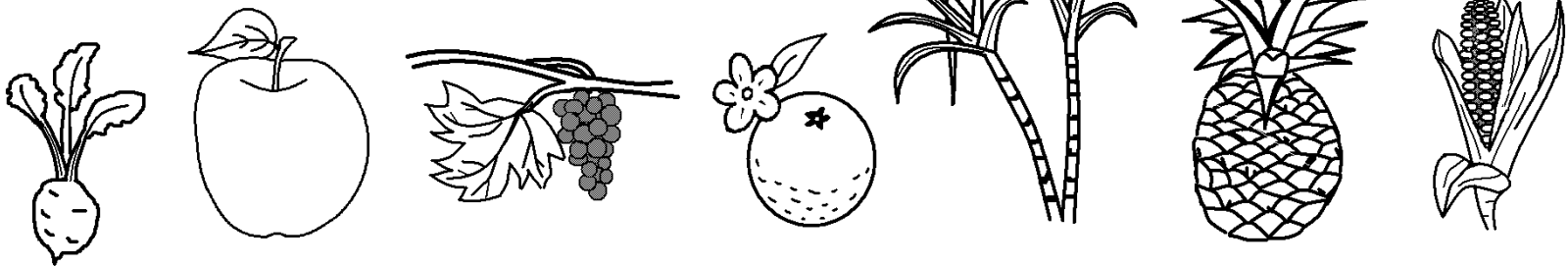
Izotopy vodíku a kyslíku – setkání se vzdušným CO<sub>2</sub>

# Autentifikace rostlinných produktů

rozlišení botanického původu cukrů pomocí analýzy D/H nitrátů cukrů



???



# Autentifikace rostlinných produktů

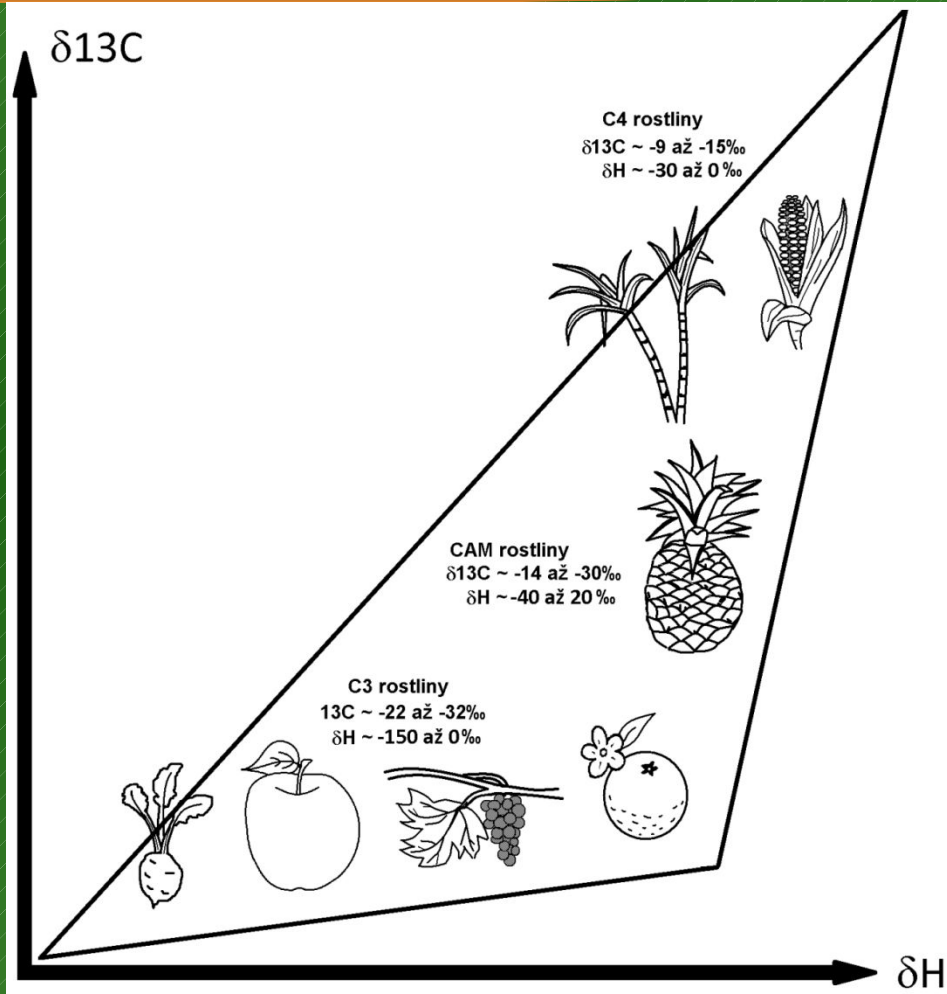
|                                                 |                                            |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| $\text{CH}_2\text{D}-\text{CH}_2\text{OH}$      | botanická informace, geografická informace |
| $\text{CH}_3-\text{CHD}-\text{OH}$              | geograf. informace, botanická informace    |
| $^{13}\text{C}\text{H}_3-\text{CH}_2-\text{OH}$ | botanická informace, geografická informace |
| $\text{CH}_2-^{13}\text{C}\text{H}_2-\text{OH}$ | botanická informace, geografická informace |





# Autentifikace rostlinných produktů

- kombinací analýzy zastoupení izotopů uhlíku a vodíku v ethanolu izolovaném z fermentovaných nebo fermentovatelných nápojů lze získat tzv. falšovací trojúhelník umožňující lépe poznat původ cukrů/ethanolu
- Jak zjistit původ neznámého vzorku? **Porovnáním s databází autentických hodnot stejné deklarace!**



Martin, G: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1991, 56, 419-434

Martin, M. L: *Mikrochimica Acta*, 1991, 2, 81-91

Pupin, A. M: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46, 1369-1373

# Autentifikace rostlinných produktů

## Burčák 2013

### VARIABLES

X Axis : (D/H)1  
Y Axis : 13C/12C

### TEST LEVEL

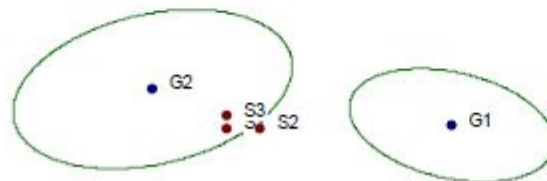
1 : 95% █

### SAMPLES N°

S1 : 13090060  
S2 : 13090060U1  
S3 : 13090060U2

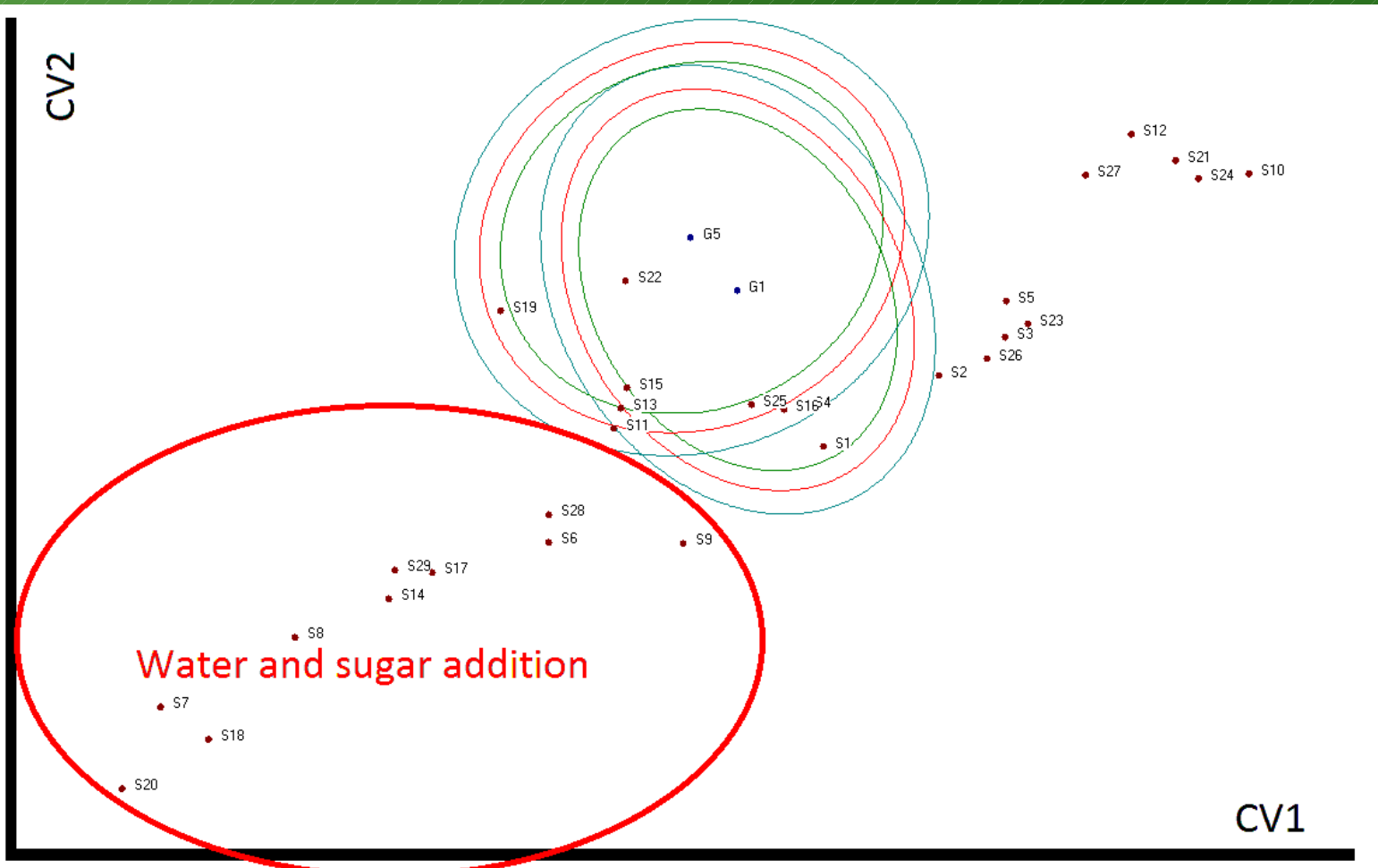
### GROUPS

G1 : CZ13IGRAPES  
G2 : BEET  
G3 : CANE



# Autentifikace rostlinných produktů

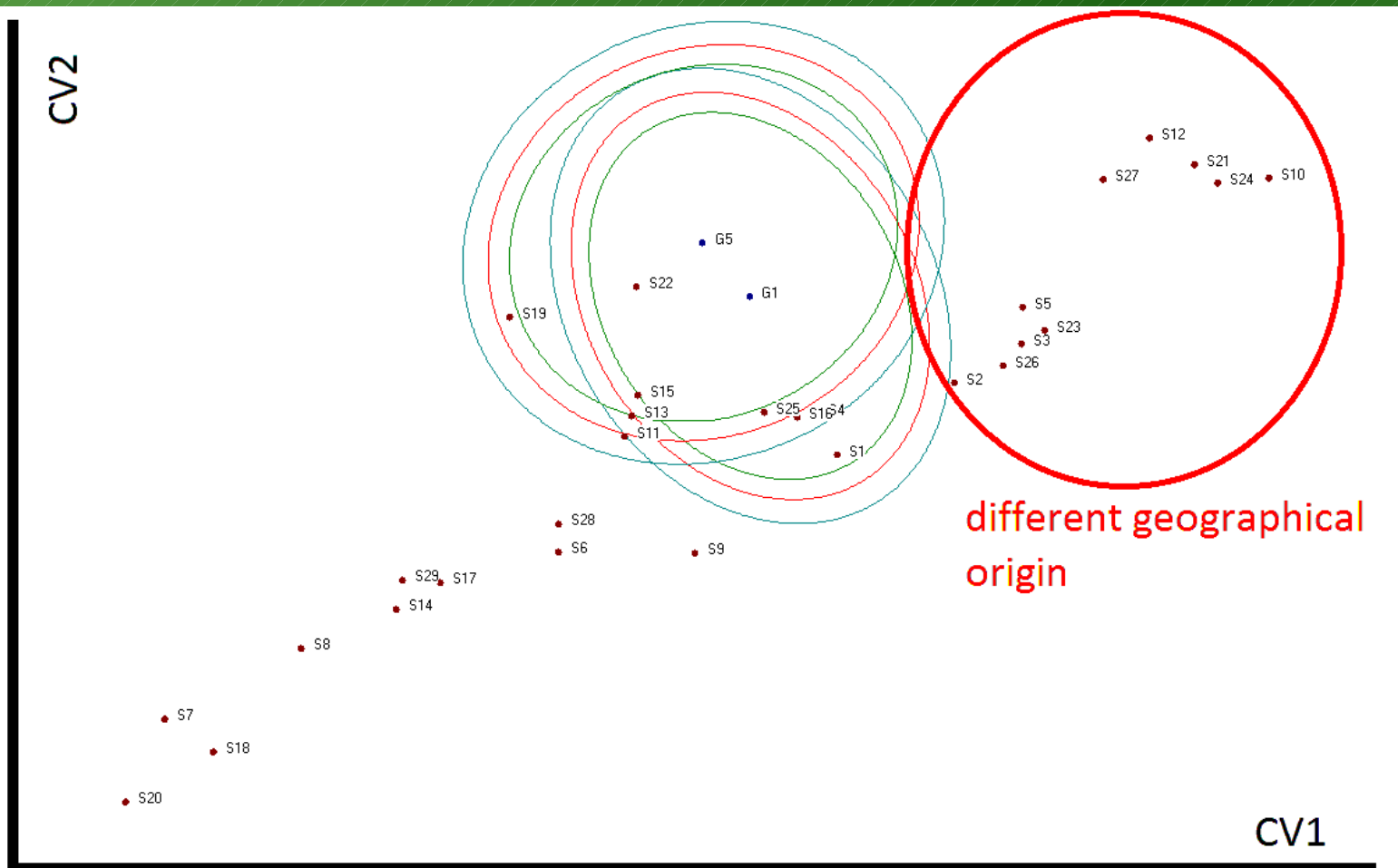
## Burčák 2010





# Autentifikace rostlinných produktů

## Burčák 2010



# Autentifikace rostlinných produktů

Kvasné octy – původ k. octové

$\text{CH}_2\text{D-COOH}$  botanická informace, geografická informace

$^{13}\text{C}\text{H}_3\text{-COOH}$  botanická informace, geografická informace

$\text{CH}_3\text{-}^{13}\text{C}\text{OOH}$  botanická informace, geografická informace



wikimedia.org\_CC\_Andrea\_Levers

Remaud, G: *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, **1992**, 342, 457-461

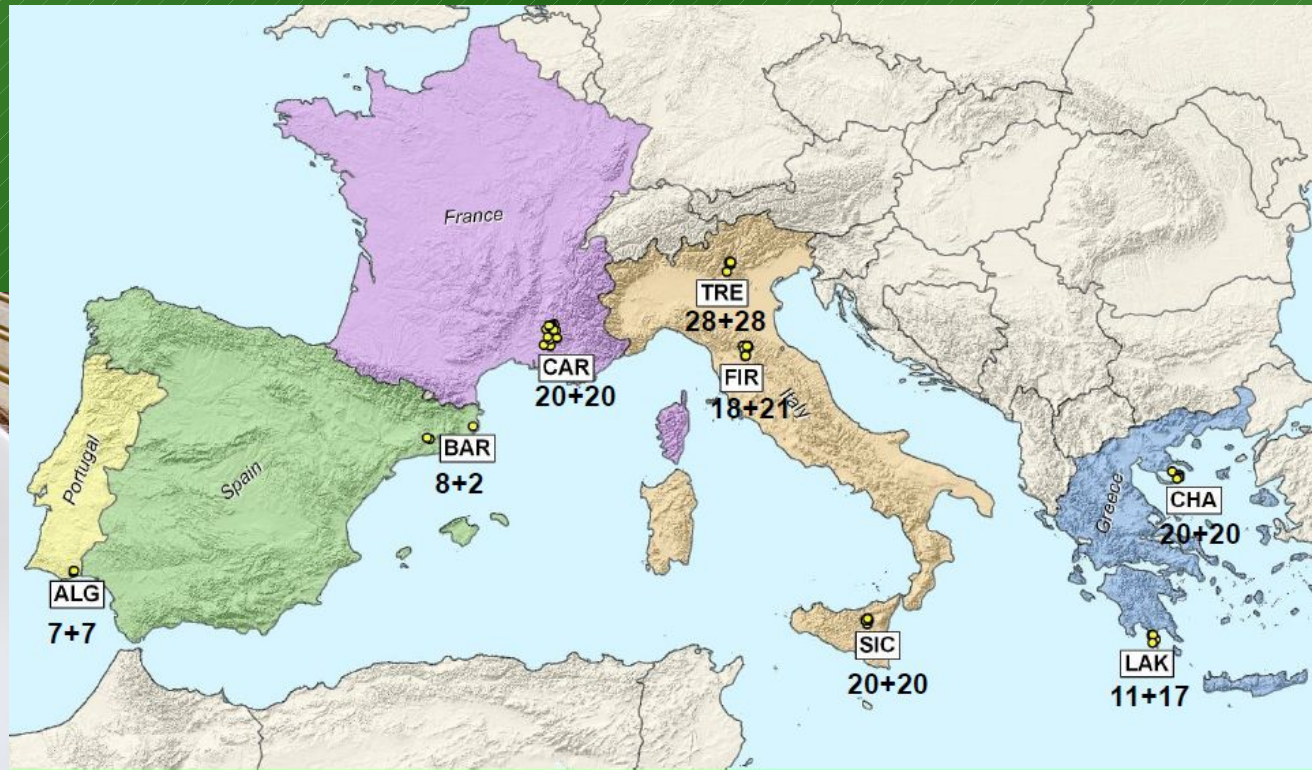
Thomas, F: *Analytica Chimica Acta*, **2009**, 649, 98-105.

© SZPI



# Autentifikace rostlinných produktů

Olivové oleje – geografický původ (267 olejů) projekt TRACE



wikimedia.org CC2.0 Leon Brocard

Camin F: Final TRACE conference, 2009, Belgium

© SZPI





# Autentifikace rostlinných produktů

## Olivové oleje – geografický původ

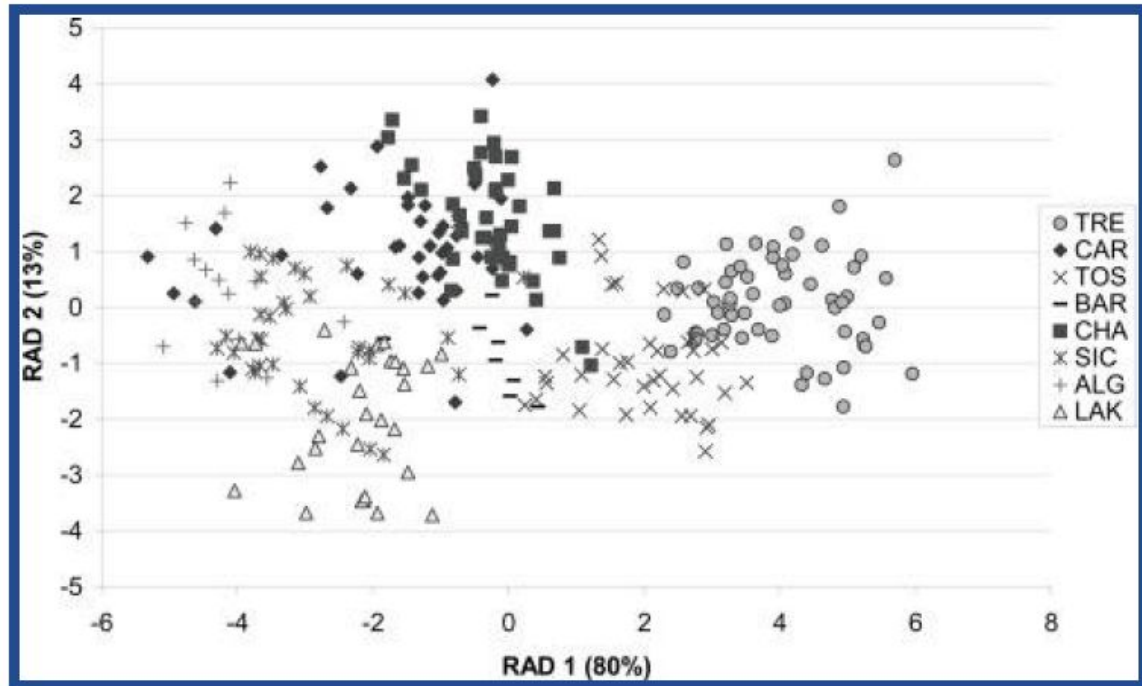


Figure 2. Canonical discriminant analysis of  $\delta^2\text{H}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ , and  $\delta^{18}\text{O}$  of the olive oils from the eight European sites: scatterplot of the first two canonical variables.

wikimedia.org CC2.0 Leon Brocard

Camin, F: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58, 570-577

© SZPI

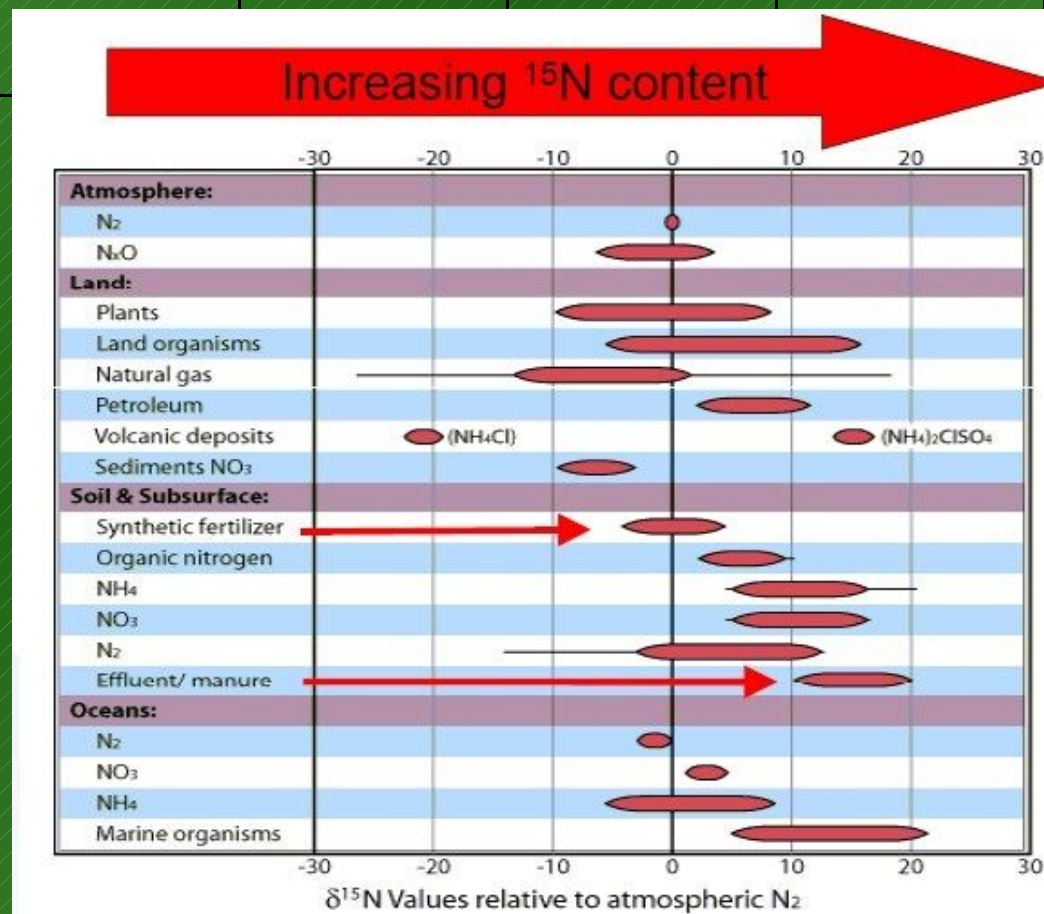
# Autentifikace rostlinných produktů

Dusík

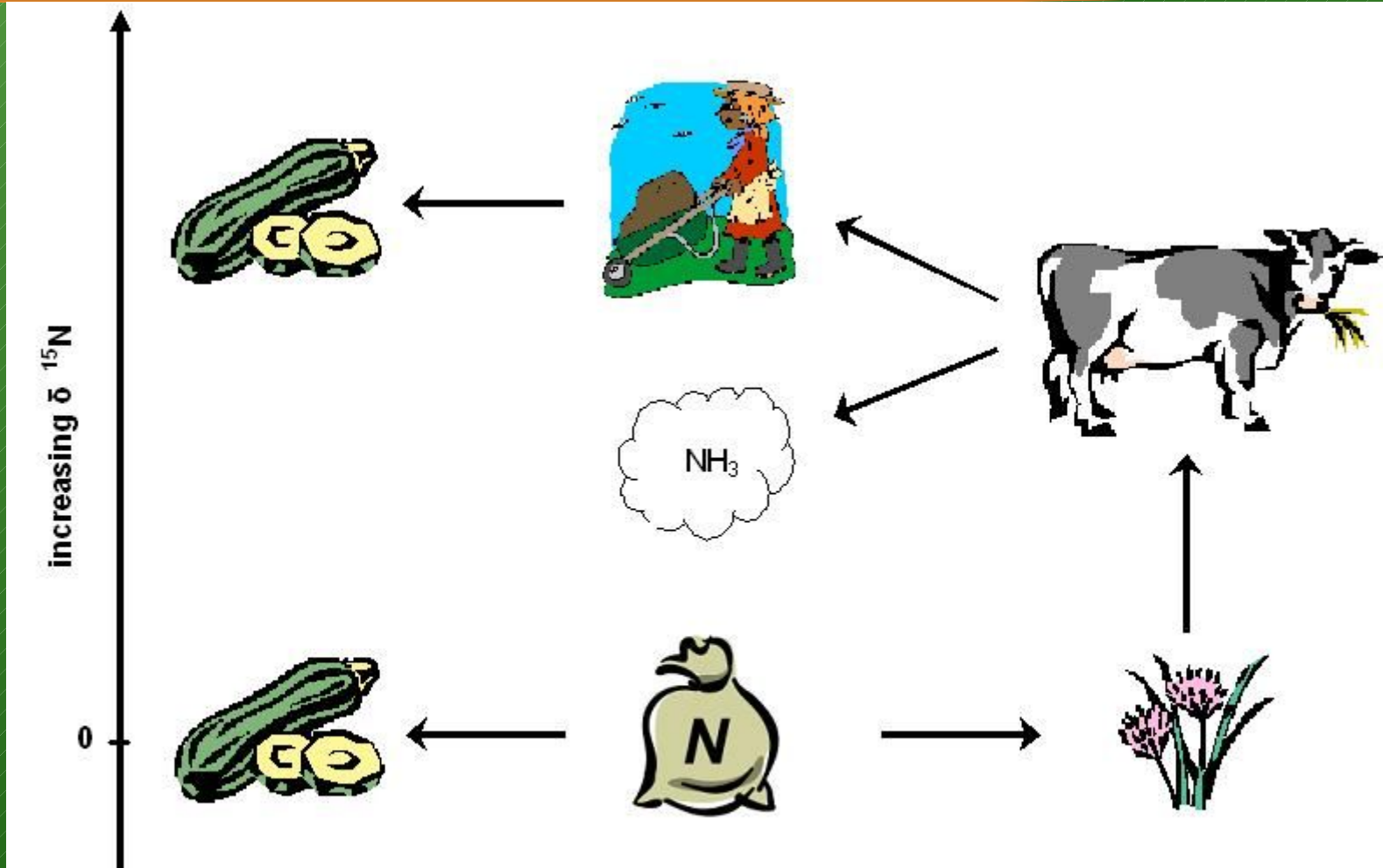
$^{14}\text{N}$  99.635 %

$^{15}\text{N}$  0.365 %

- Izotopový poměr  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  slouží zejména k rozpoznání způsobu pěstování rostlin konvenční/bio nebo rozlišení syntetických a pravých složek potravin (kofein) případně geografického původu (káva, tabák, oříšky)



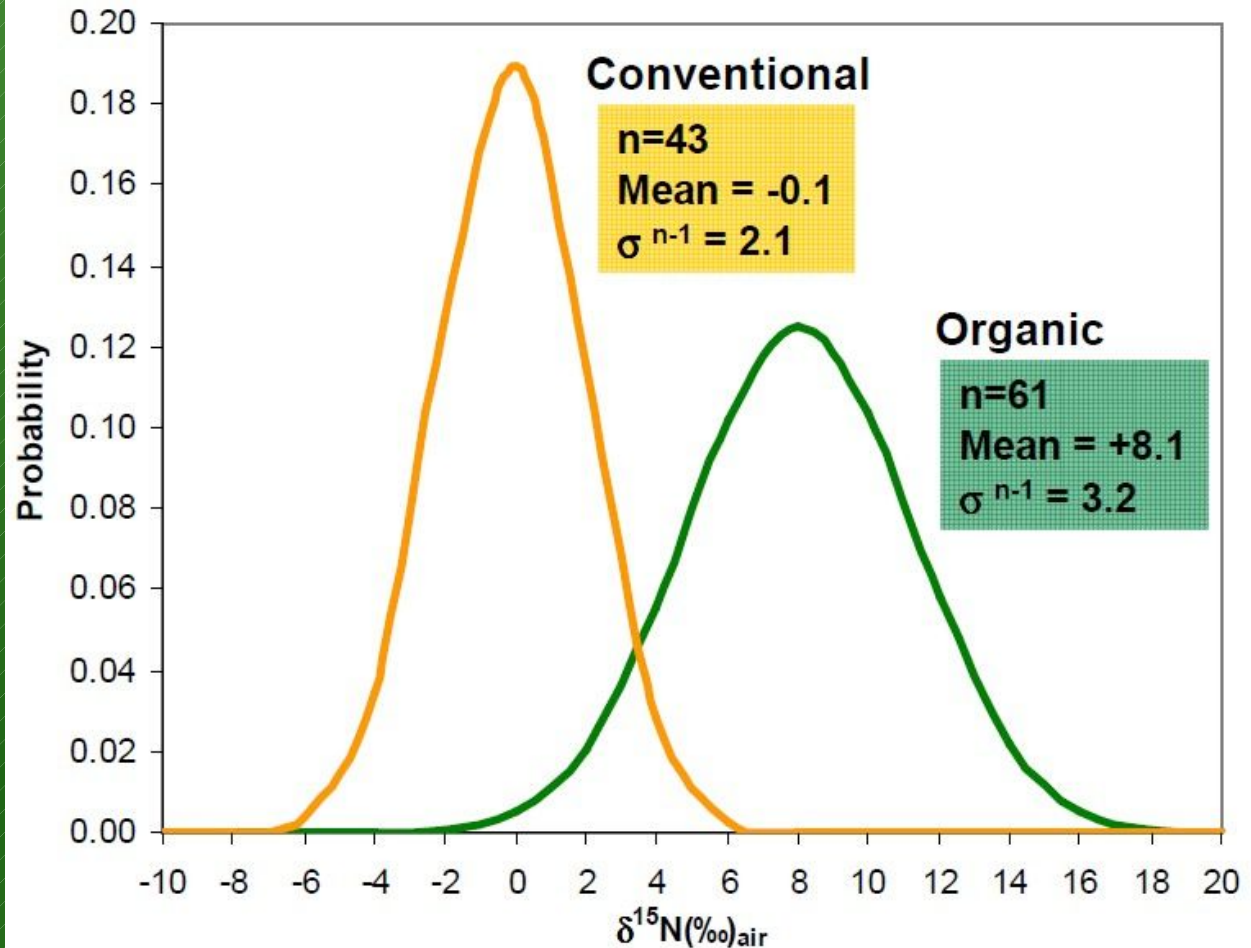
# Autentifikace rostlinných produktů





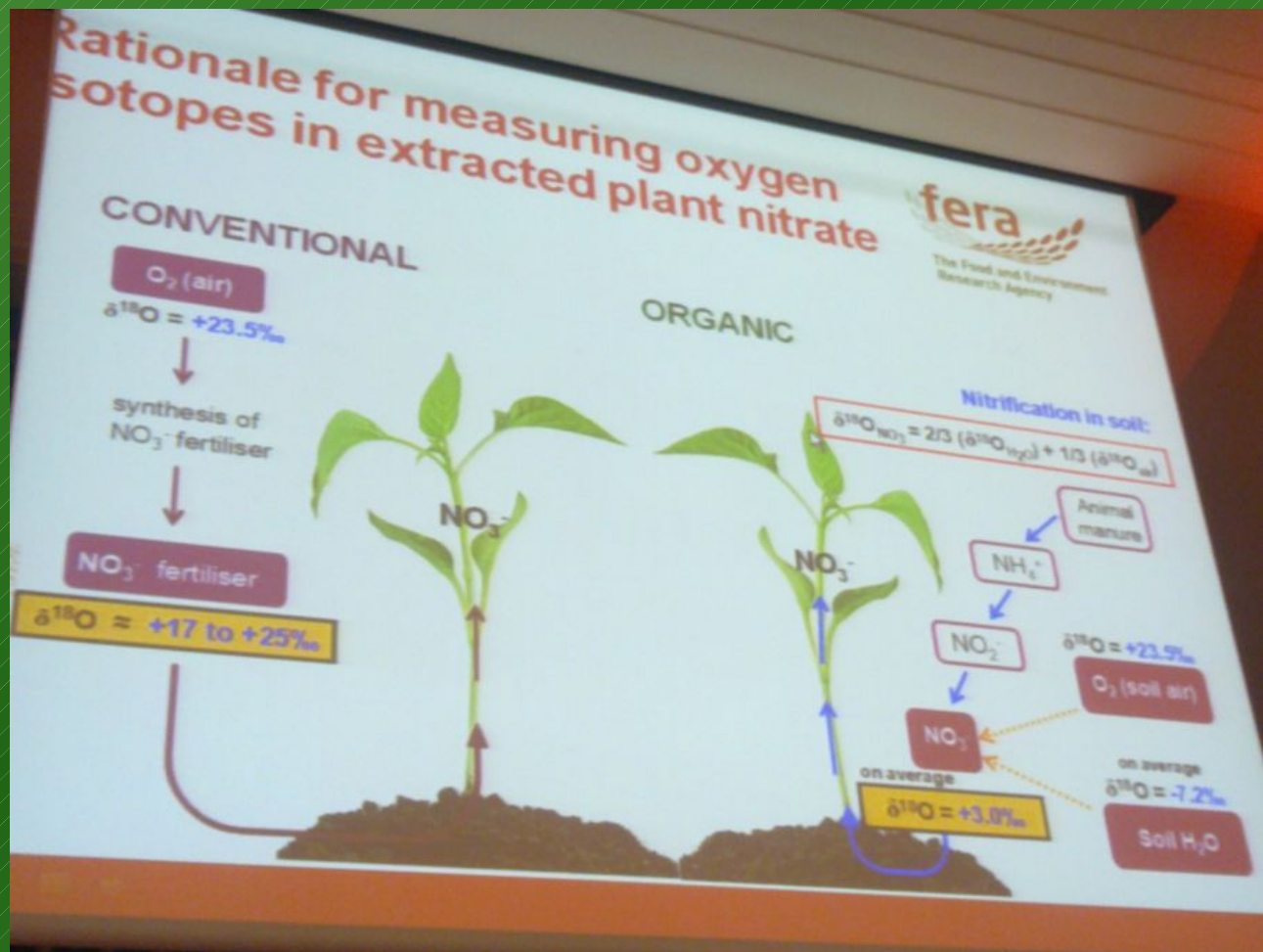
# Autentifikace rostlinných produktů

- Rajčata
- způsob pěstování konvenční/bio



# Autentifikace rostlinných produktů

- způsob pěstování konvenční/bio

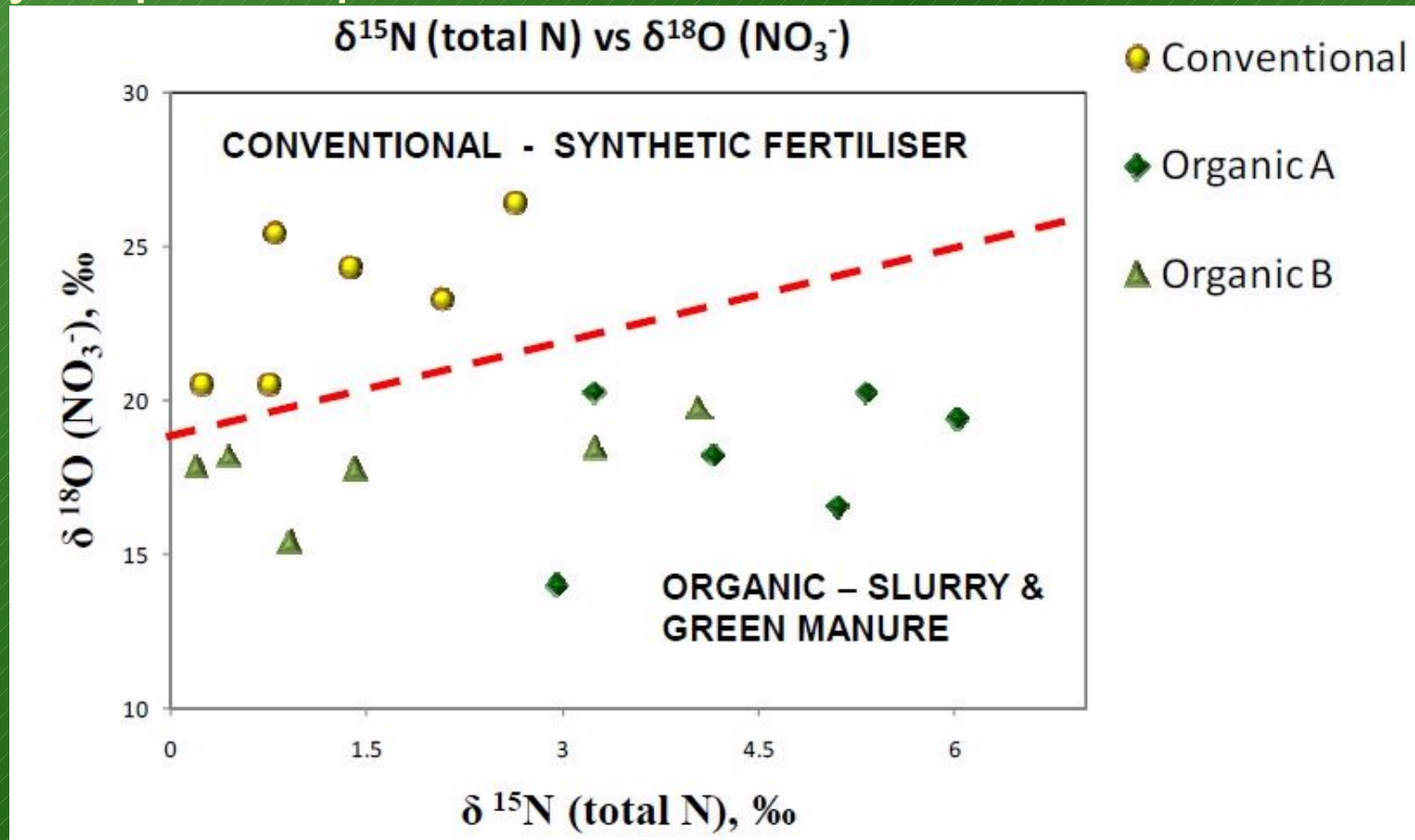


Simon Kelly: Is it Organic? What do existing food authentication techniques have to offer?  
ASSET Food Integrity and Traceability Conference, Queen's University Belfast, 2011



# Autentifikace rostlinných produktů

- Brambory - způsob pěstování konvenční/bio





# Autentifikace rostlinných produktů

## Káva geografický původ

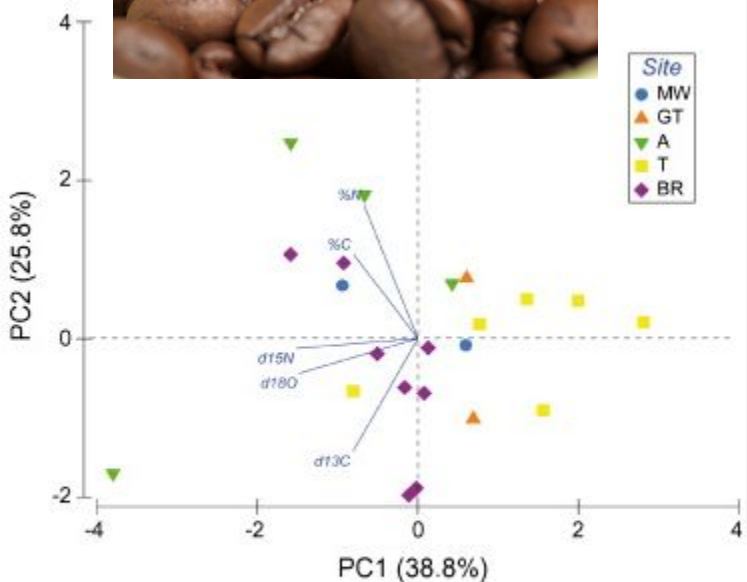


Fig. 3. Scores of the 22 certified green coffee samples on the first two principal components explaining the variability in  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  and C and N percentage data (MW, Malawi; GT, Guatemala; A, Angola; T, East Timor; BR, Brazil).

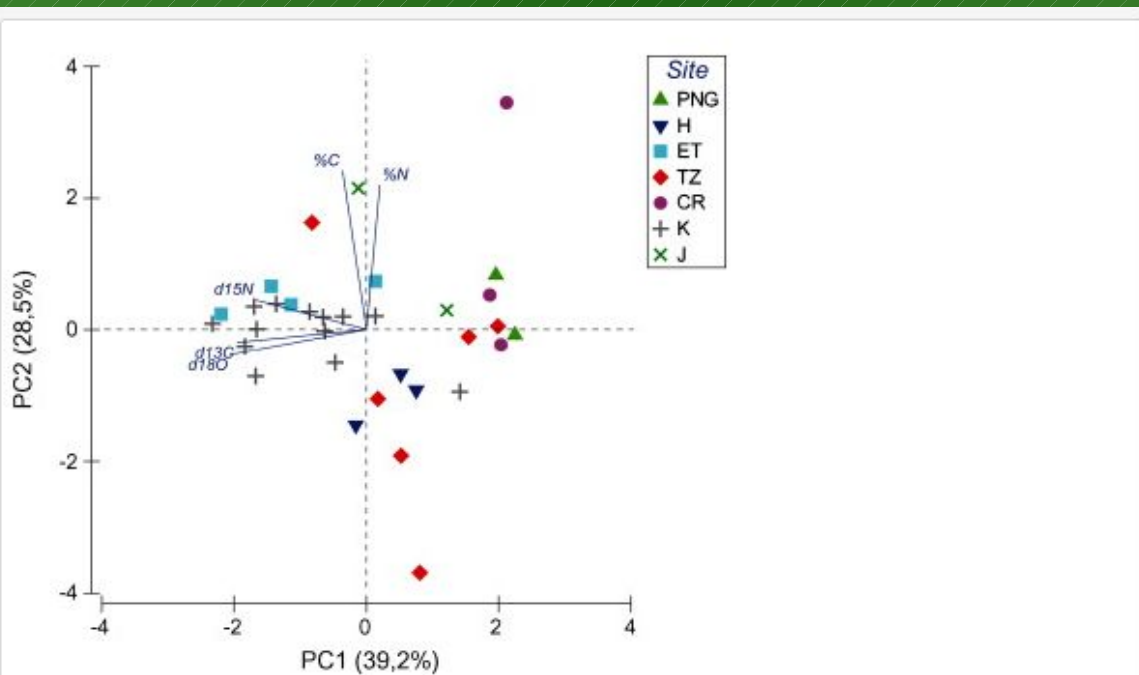
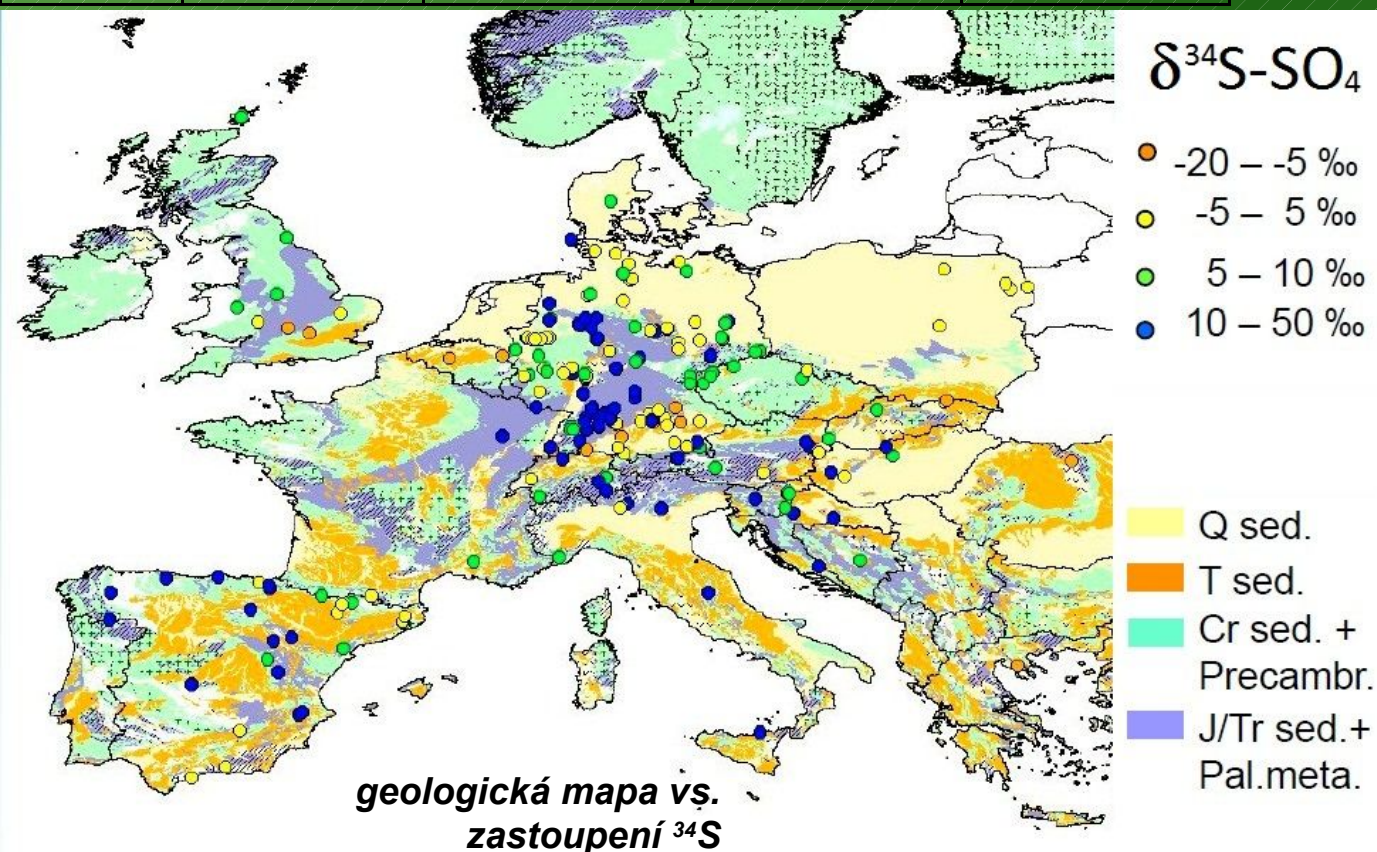


Fig. 2. Scores of the 32 gourmet green coffee samples on the first two principal components explaining the variability in  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  and C and N percentage data (PNG, Papua New Guinea; H, Hawaii; ET, Ethiopia; TZ, UR Tanzania; CR, Costa Rica; K, Kenya; J, Jamaica).



# Autentifikace rostlinných produktů

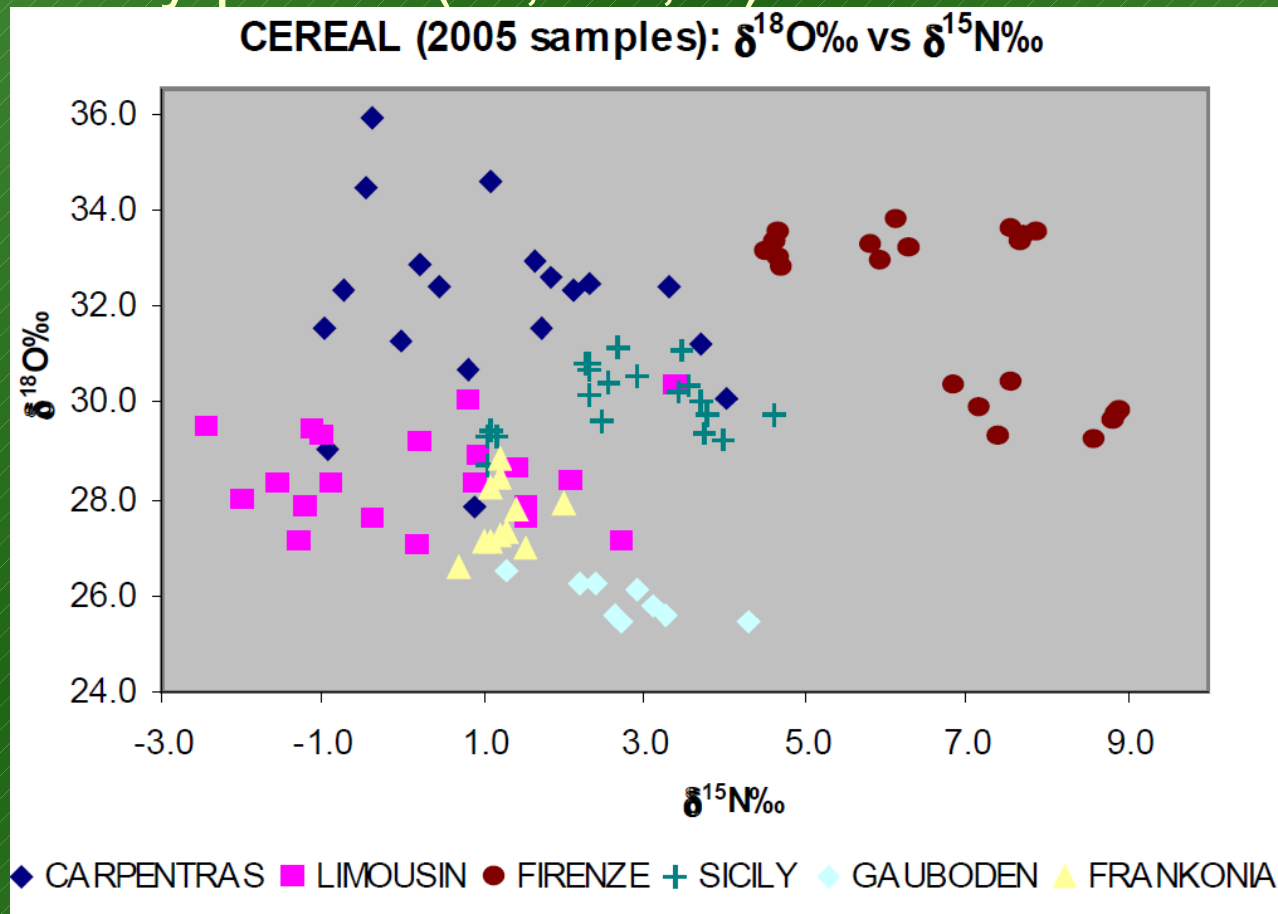
|      |                 |      |                 |        |
|------|-----------------|------|-----------------|--------|
| Síra | $^{32}\text{S}$ | 95 % | $^{34}\text{S}$ | 4.21 % |
|------|-----------------|------|-----------------|--------|



Stanovení izotopového poměru  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  slouží především k určení geografického původu zejména ve vztahu ke geologickému podloží resp. vzdálenosti od moře

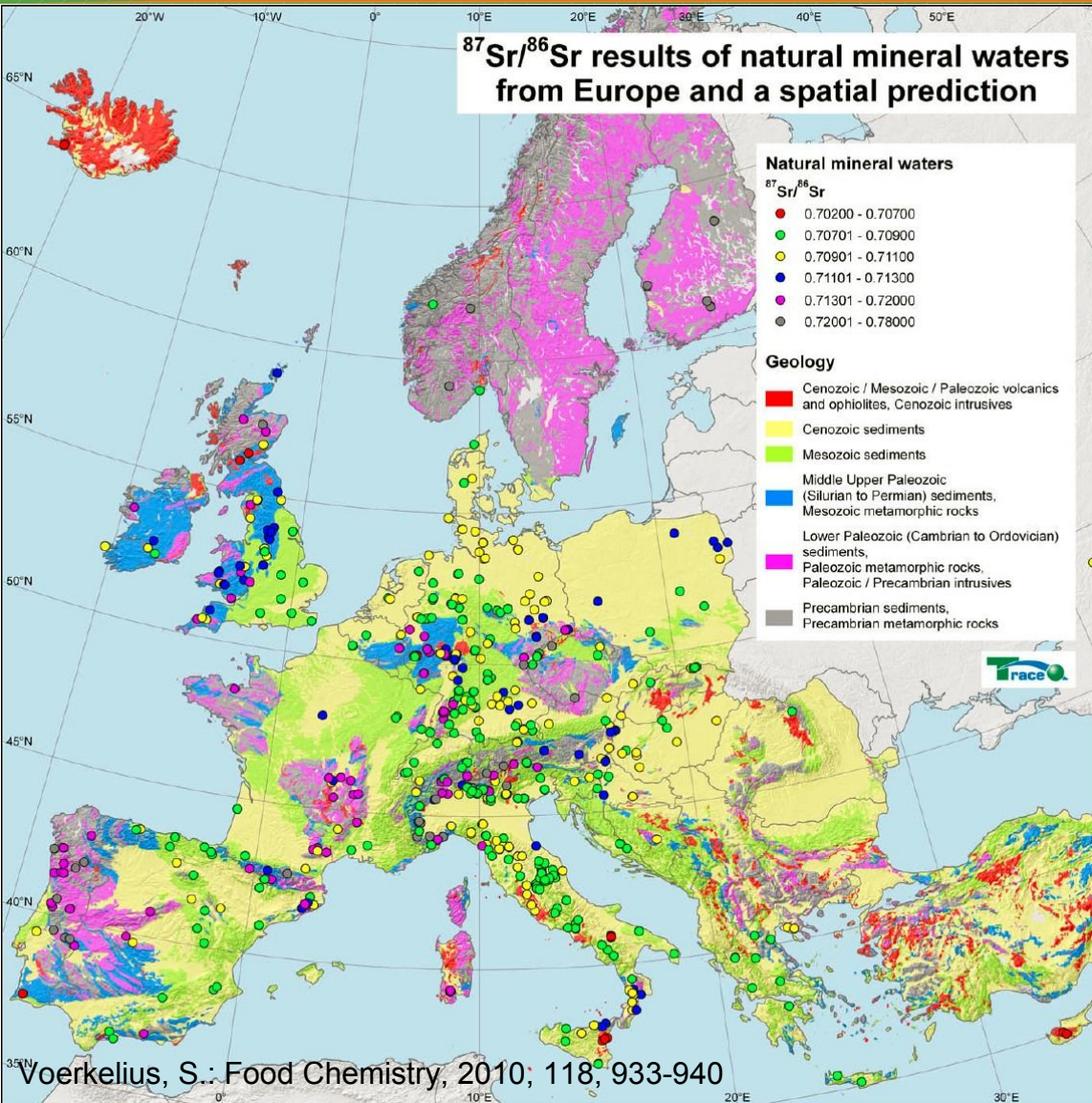
# Autentifikace rostlinných produktů

- Obiloviny – geografický původ (Fr, Ge, It)





# Autentifikace rostlinných produktů



- Analýza  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  podzemních vod dala základ modelování původu potravin pomocí tzv. Izotopových map

## Isoscapes



Fuji Mineral Water



# Autentifikace živočišných produktů

Distribuce a frakcionace stabilních izotopů pochopitelně pokračuje i na vyšších trofických úrovních.

V zásadě platí, že izotopové složení diety zvíře se promítá následně složení částí jeho těla

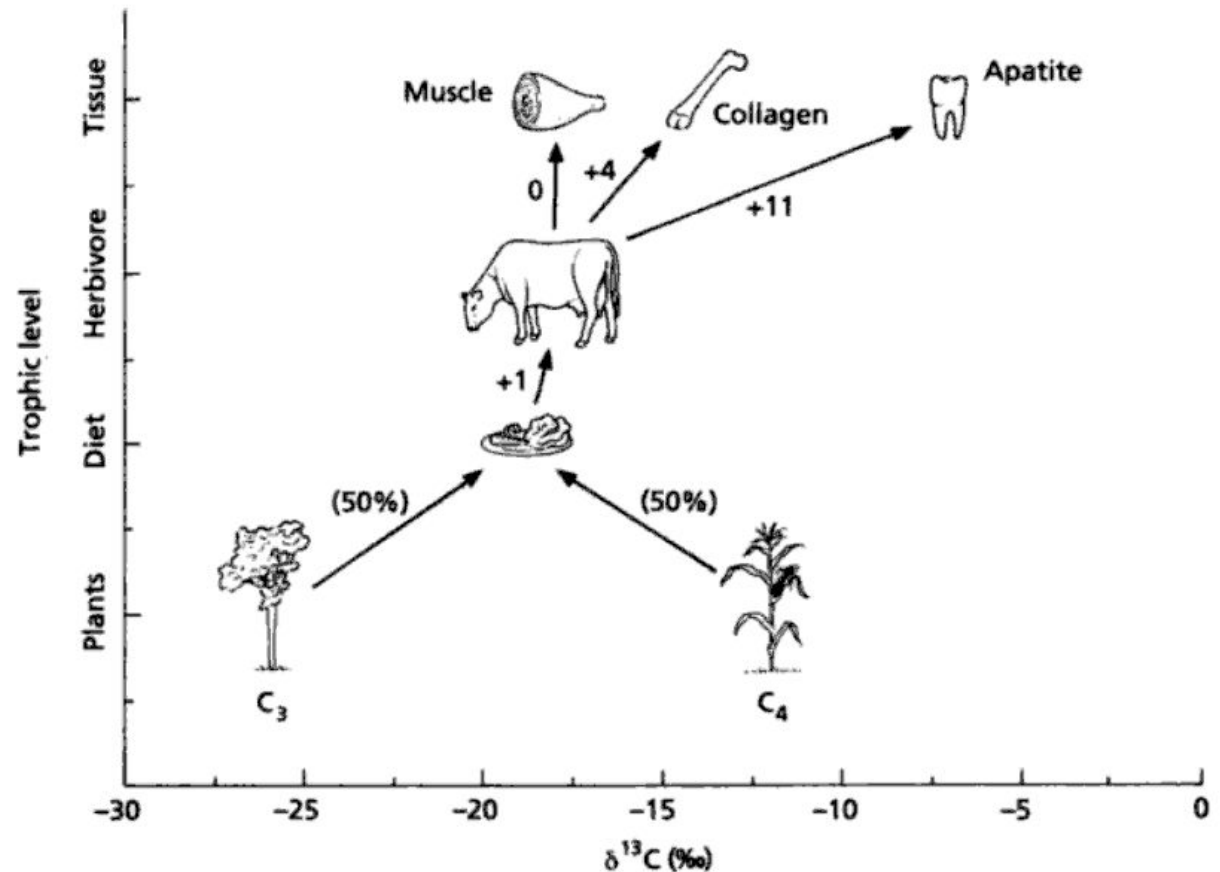


Fig. 4.2 Model of carbon isotope variation in diet and the fractionation of carbon between diet and different tissues in mammalian herbivores.



# Autentifikace živočišných produktů

Distribuce a frakcionace stabilních izotopů pochopitelně pokračuje i na vyšších trofických úrovních.

V zásadě platí, že izotopové složení diety zvíře se promítá následněm složení částí jeho těla

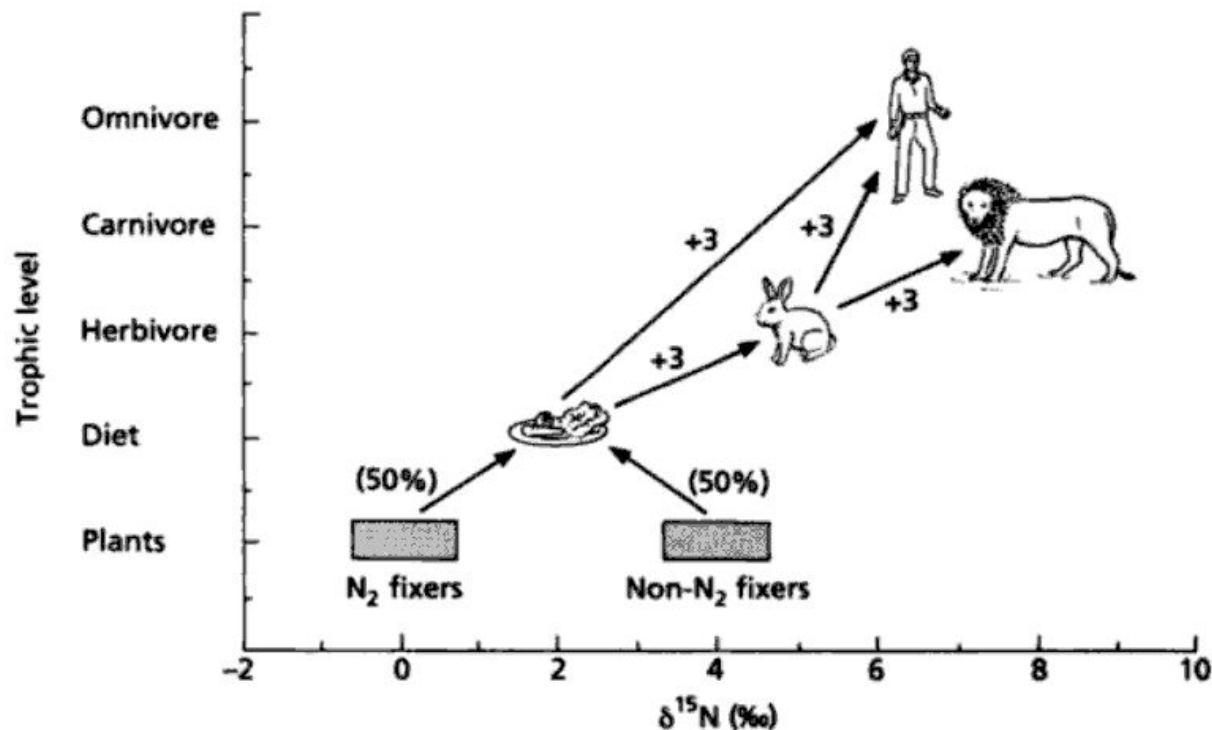


Fig. 4.4 Model of nitrogen isotope variation in plants and the fractionation of nitrogen isotopes between different trophic levels, including herbivores, carnivores and omnivores.

Deniro, M. J. & Epstein, S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1981, 45, 341-351

Lajtha K., Michener R. H.: Stable isotopes in ecology and environmental science, 1994

© SZPI





# Autentifikace živočišných produktů

## Medy

C3 rostliny (vinná réva, obilí, brambory, cukrová řepa, pomeranče, jablka, švestky, meruňky...)  
 $\delta^{13}\text{C} \sim -22$  až  $-32$  ‰ vs. VPDB

CAM rostliny (ananas, agáve, kaktusy, vanilka...)  
 $\delta^{13}\text{C} \sim -14$  až  $-30$  ‰ vs. VPDB

C4 rostliny (cukrová třtina, kukuřice, proso, čirok...)  
 $\delta^{13}\text{C} \sim -9$  až  $-15$  ‰ vs. VPDB

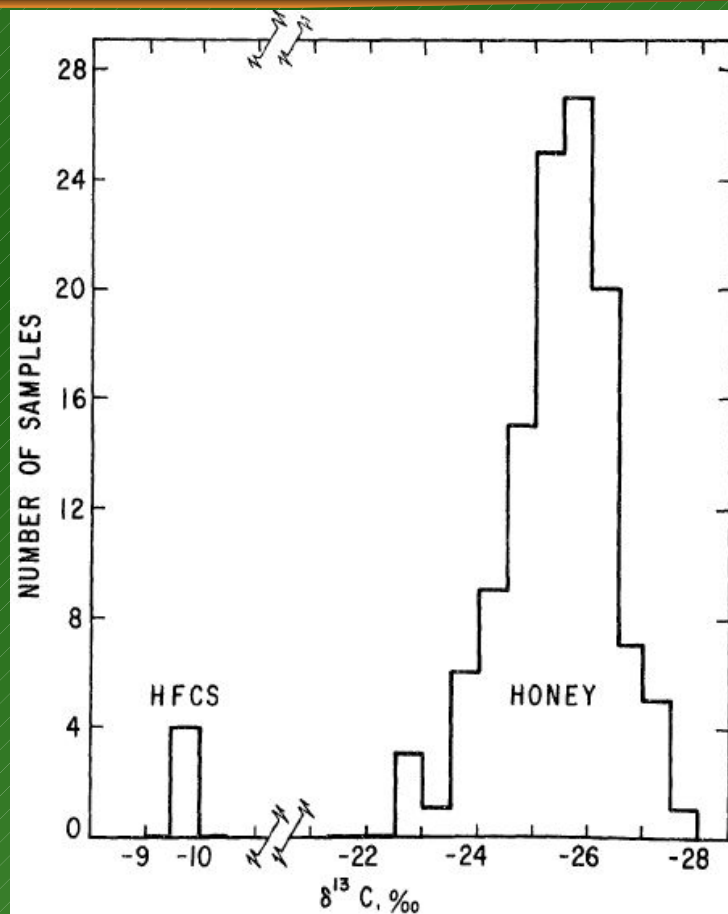


FIG. 1—Distribution of  $\delta^{13}\text{C}$  values among 4 HFCSs and 119 samples of honey, including 4 honeydew honeys.

# Autentifikace živočišných produktů

- **Medy**
- V roce **1977 Doner a White** publikovali poznatky o souvislosti hodnot  $\delta^{13}\text{C}$  a původem medu
- V roce **1978 De Niro** publikoval práci zabývající se distribucí izotopů uhlíku v tělech živočichů
- **1989** přidal **White** srovnávací analýzu  $\delta^{13}\text{C}$  proteinu izolovaného z medu pro rozsouzení nejasných případů
- **1998** **Oficiální metoda** americké asociace analytických chemiků – stanovení C4 cukrů v medu

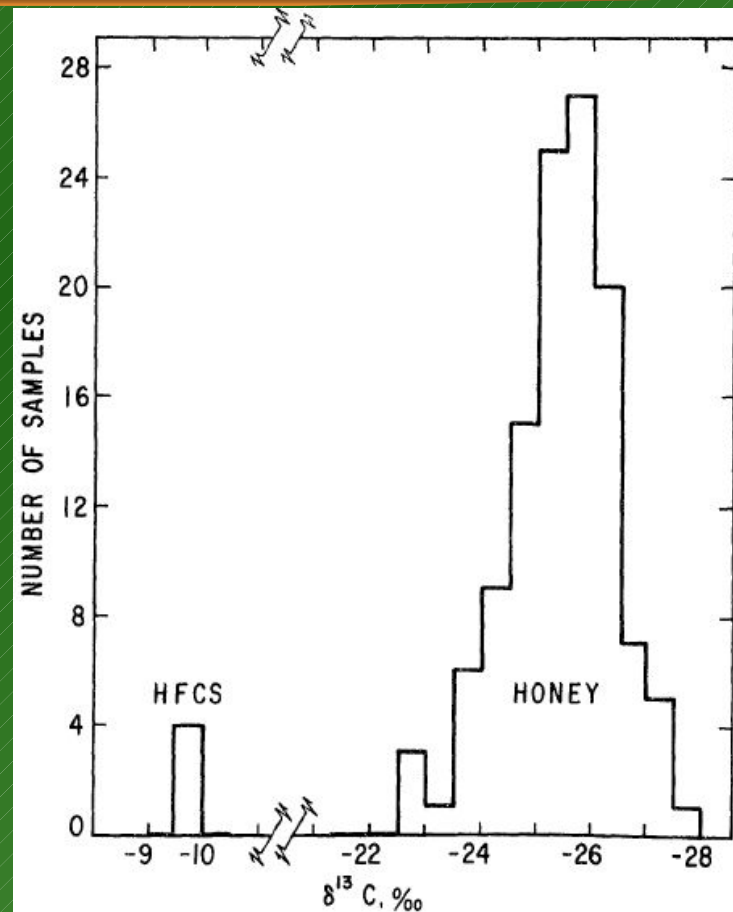


FIG. 1—Distribution of  $\delta^{13}\text{C}$  values among 4 HFCSs and 119 samples of honey, including 4 honeydew honeys.

Doner, L. W. & White, J. W. J.: *Science*, **1977**, 197, 891-892

DeNiro, M. & Epstein, S. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1978**, 42, 495-506

White, J. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, **1989**, 72, 907-911

AOAC Official Method 998.12 (AOAC44.4.18A) AOAC International, **1998**

# Autentifikace živočišných produktů

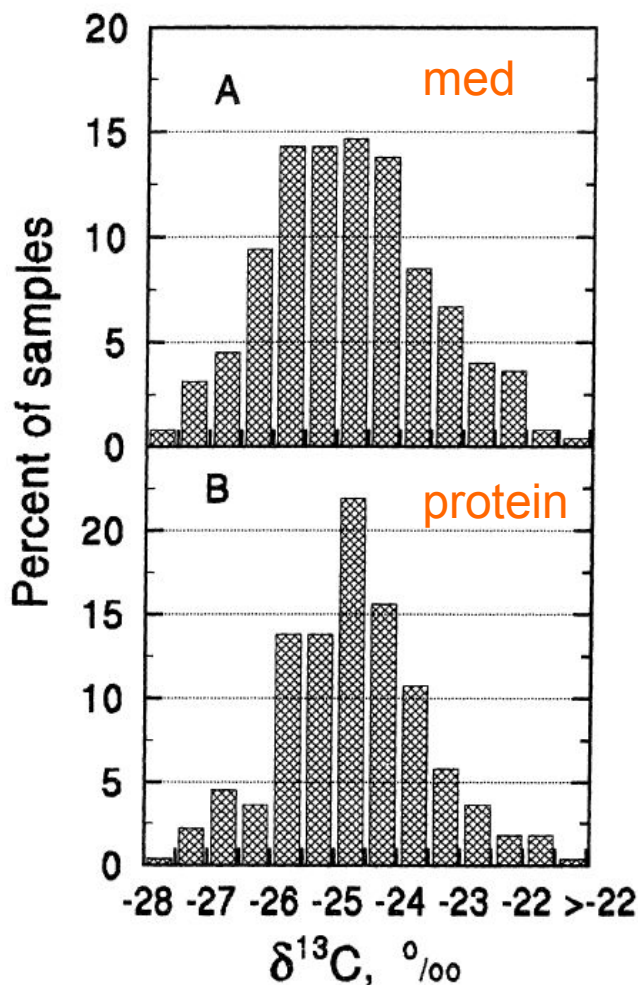


Lynn L. Walters for The New York Times, Corn Refiners Association





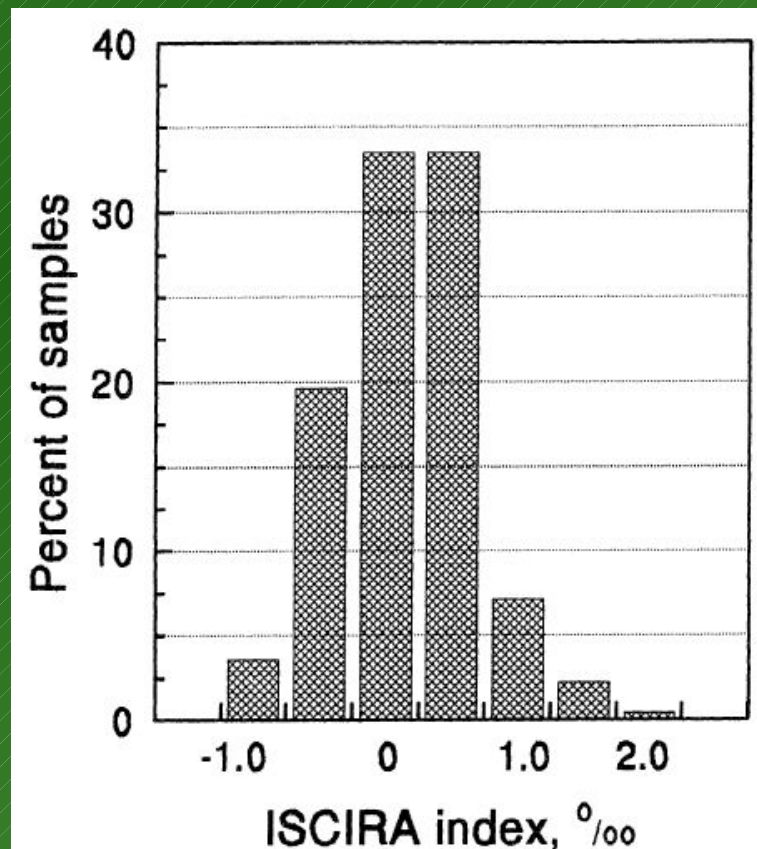
# Autentifikace živočišných produktů



**ISCIRA index**  
(Internal Standard  
Carbon Isotope  
Ratio Analysis)

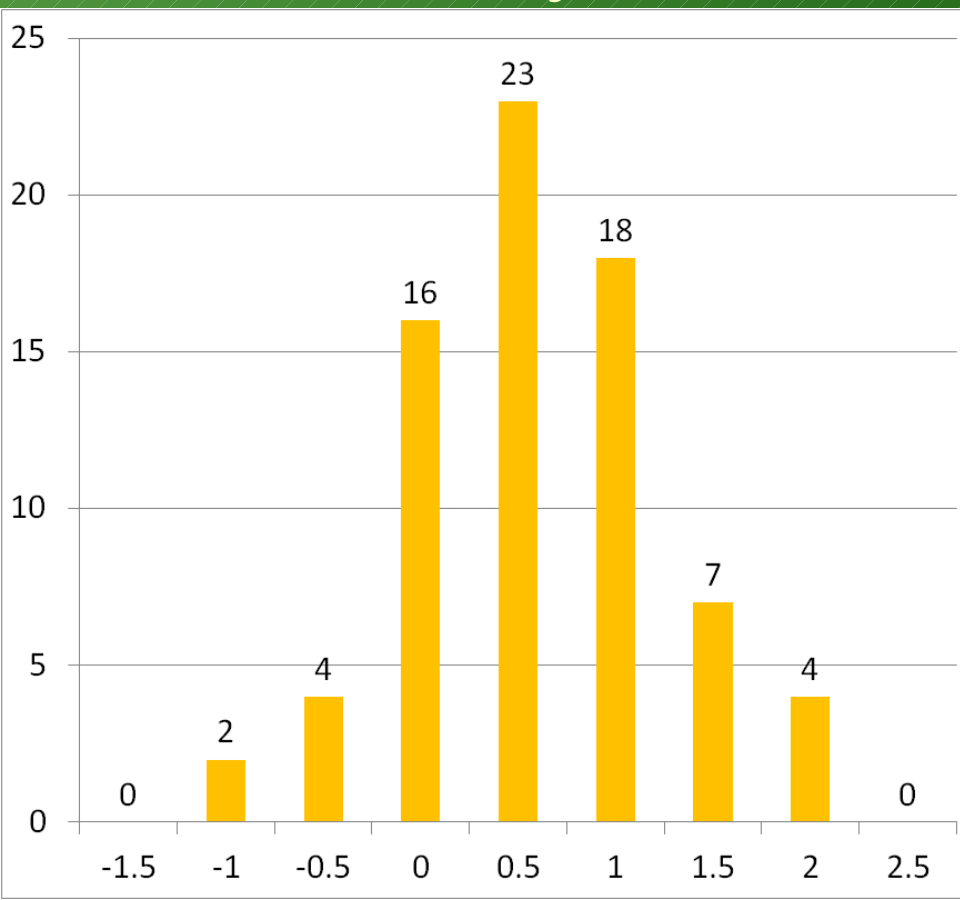
od +2 do -1 ‰

-1‰ ~ 7% C4 cukru



# Autentifikace živočišných produktů

- Distribuce ISCIRA indexu potvrzená i na českých autentických medech (74) (\*)



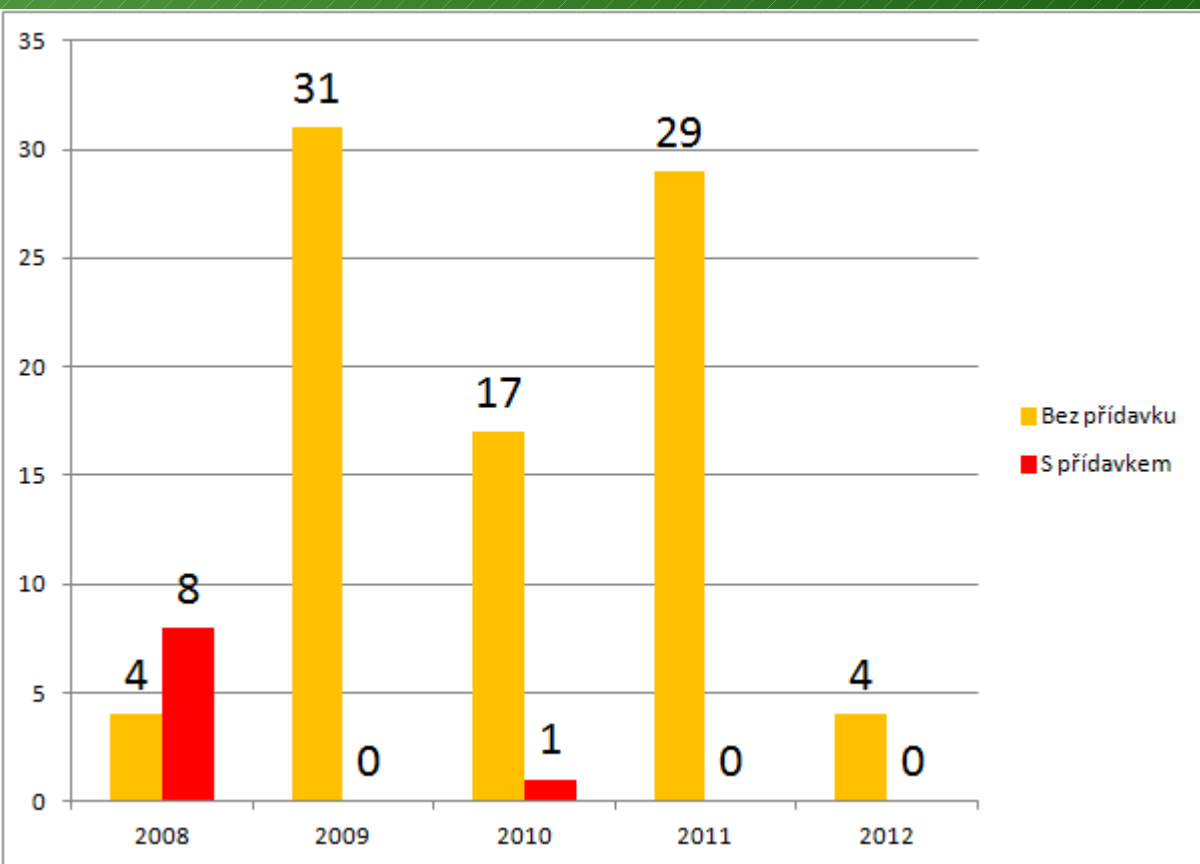
- Druhý způsob zjišťování falšování pomocí izotopové analýzy – porovnáním s tzv. vnitřním standardem

\* Přípravovaná publikace Šimková a kol.



# Autentifikace živočišných produktů

- SZPI: 2008-2012 analyzováno 94 komerčních medů, 74 autentických (VUV Dol) a 15 medů na výzkum
- U 9 komerčních medů z 94 analyzovaných byl prokázán přídavek C4 cukrů





# Autentifikace živočišných produktů



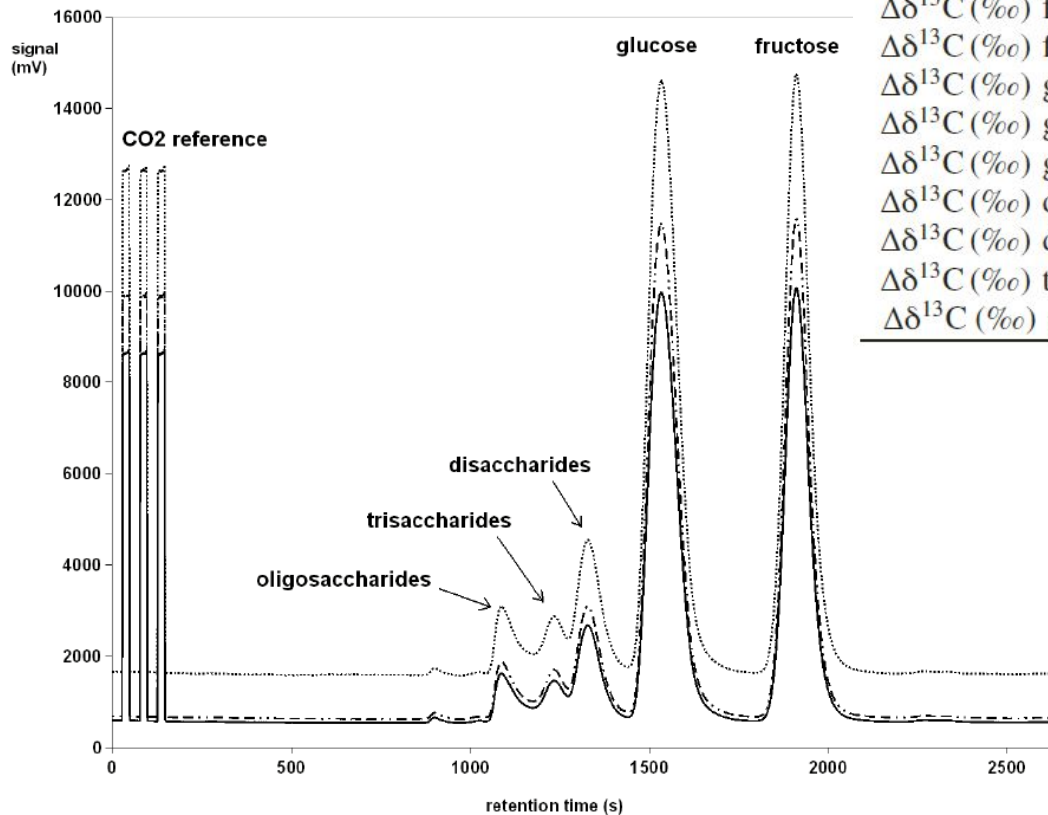
Lynn L. Walters for NYTimes, Corn Refiners Assoc.  
CC Venex\_jpb

© SZPI



# Autentifikace živočišných produktů

- Separace cukrů on-line LC-IRMS analýza  $\delta^{13}\text{C}$



| Parameter                                 | Proposed limit                                   |
|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) fru – glu | $\pm 1.0$                                        |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) fru – ds  | subsumed as $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) max. |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) fru – ts  |                                                  |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) fru – p   |                                                  |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) glu – ds  |                                                  |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) glu – ts  |                                                  |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) glu – p   |                                                  |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) ds – ts   |                                                  |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) ds – p    |                                                  |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) ts – p    |                                                  |
| $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰) p – h     |                                                  |

# Autentifikace živočišných produktů

- Geografický původ medů
- pomocí analýzy H,C,N,O,S proteinů izolovaných z medů
- Projekt TRACE



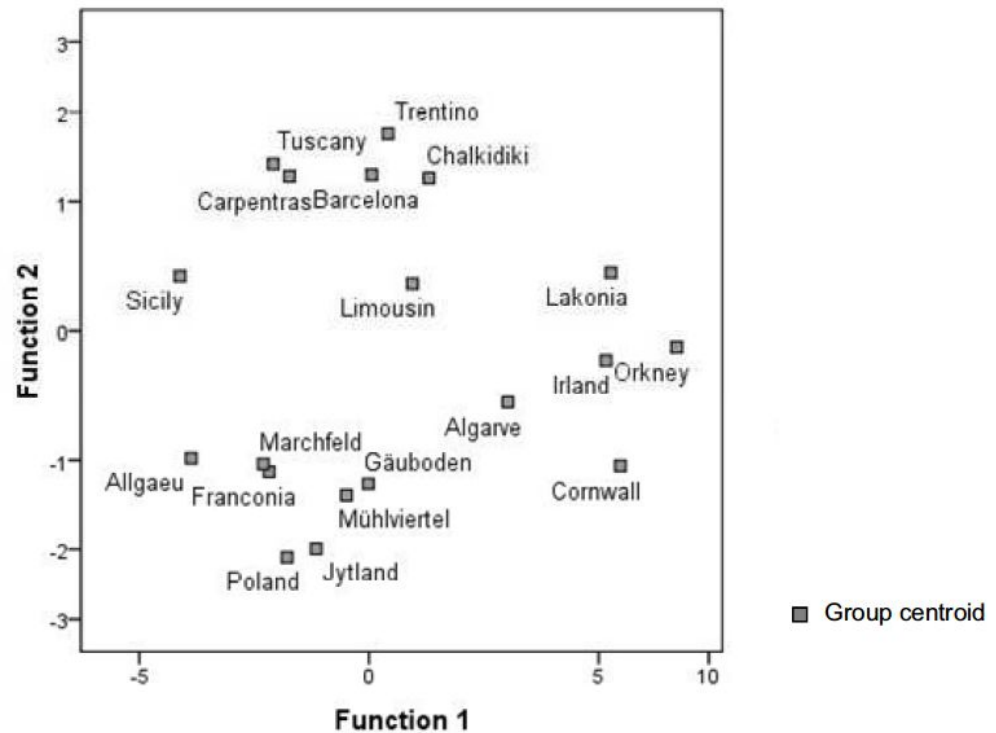
Fig. 1 Map of TRACE honey sampling sites

Schellenberg, A.: Multielement stable isotope ratios (H, C, N, S) of honey from different European regions, *Food Chemistry*, **2010**, 121, 770-777



# Autentifikace živočišných produktů

- Geografický původ medů
- pomocí analýzy H,C,N,O,S proteinů izolovaných z medů
- Projekt TRACE

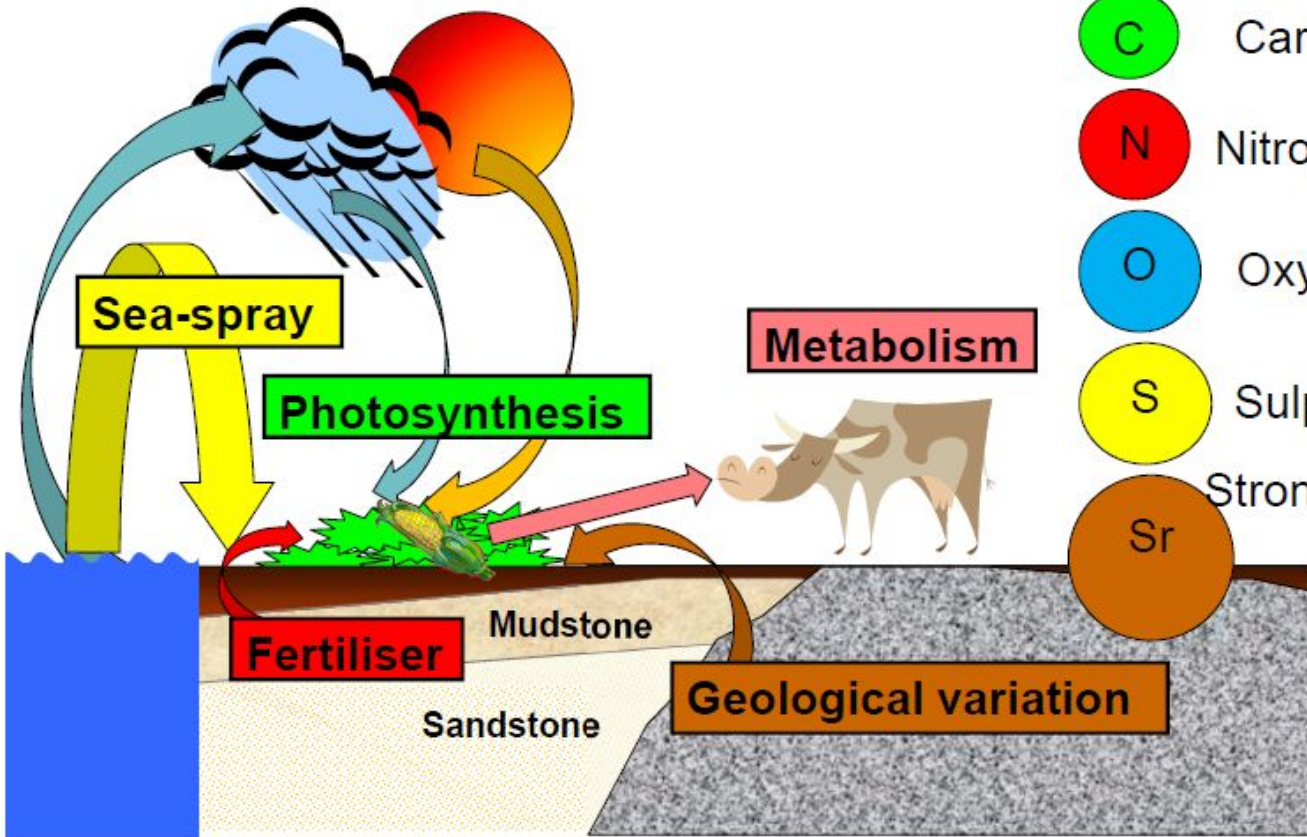


**Fig. 4** Cross plot of the first two discriminant functions obtained from the stepwise canonical discriminant analysis of honey protein (H C N S) stable isotope data. In this model only the group centroids were presented.

Schellenberg, A.: Multielement stable isotope ratios (H, C, N, S) of honey from different European regions, *Food Chemistry*, **2010**, 121, 770-777

# Autentifikace živočišných produktů

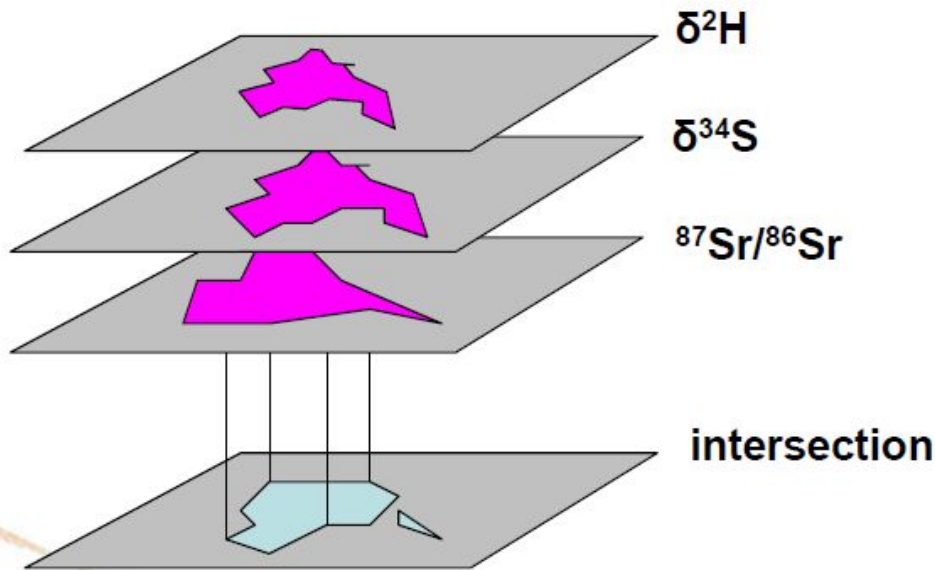
Meteorological variation



- Multivarietní přístup k analýze britského hovězího
- **Třetí způsob** vyhodnocování falšování pomocí izotopové analýzy
- tzv. **Isoscapes**
- modelace metabolických zákonitostí na základě výpočtů a měření geoklimatických podmínek

# Autentifikace živočišných produktů

Combined areas of possible origin for  $\delta^2\text{H}$ ,  $\delta^{34}\text{S}$  and  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$



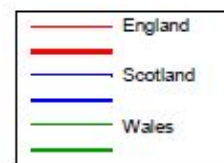
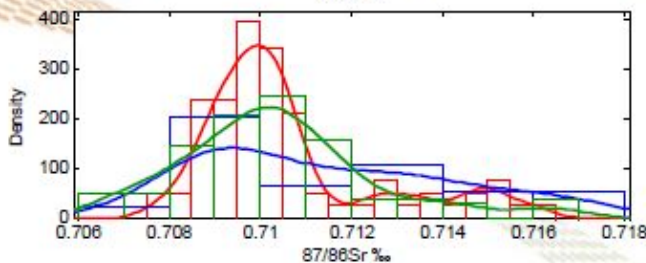
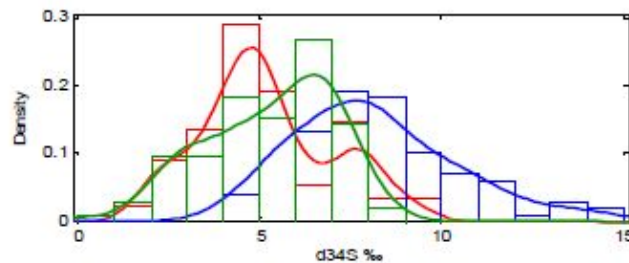
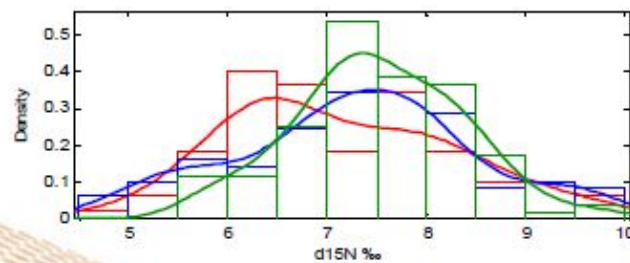
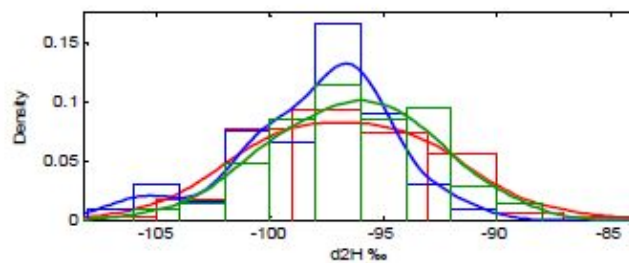
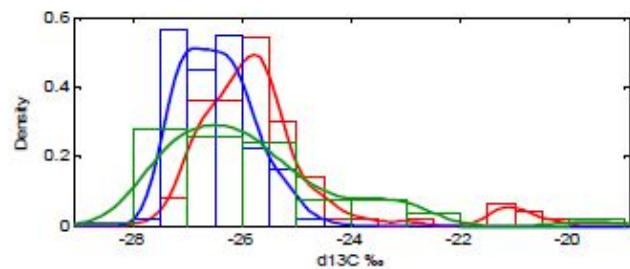
The combined area of possible origin (in green) applies to a intersection which is smaller than the individual specification areas

- Multivarietní přístup k analýze britského hovězího
- **Třetí způsob** vyhodnocování falšování pomocí izotopové analýzy
- tzv. **Isoscapes**
- modelace metabolických zákonitostí na základě výpočtů a měření geo-klimatických podmínek





# Autentifikace živočišných produktů



Multivarietní přístup k analýze britského hovězího

# Autentifikace živočišných produktů

Tvrdé  
sýry  
 $\delta^{34}\text{S}$   
Vs.  $\delta^{15}\text{N}$   
kaseinu

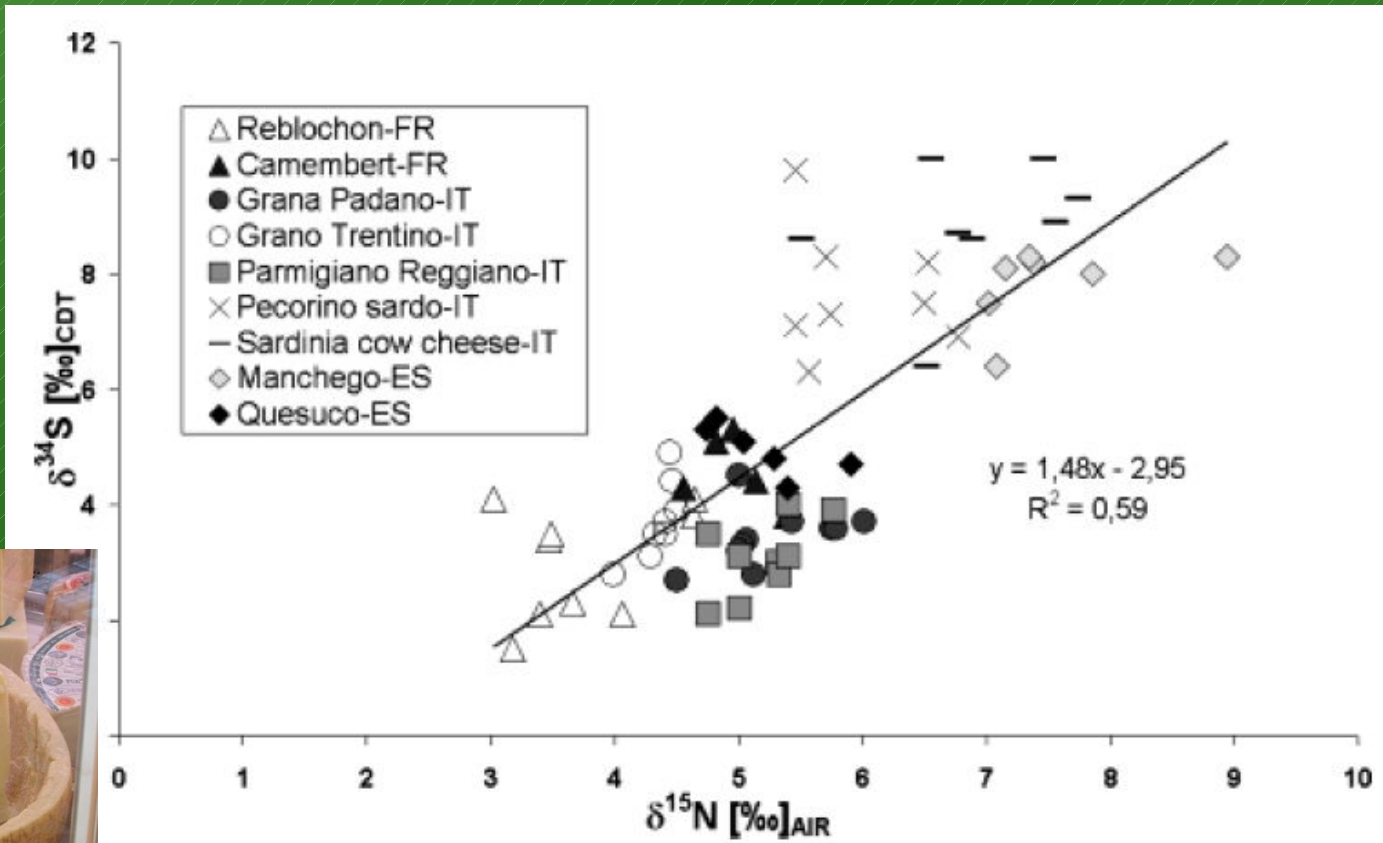
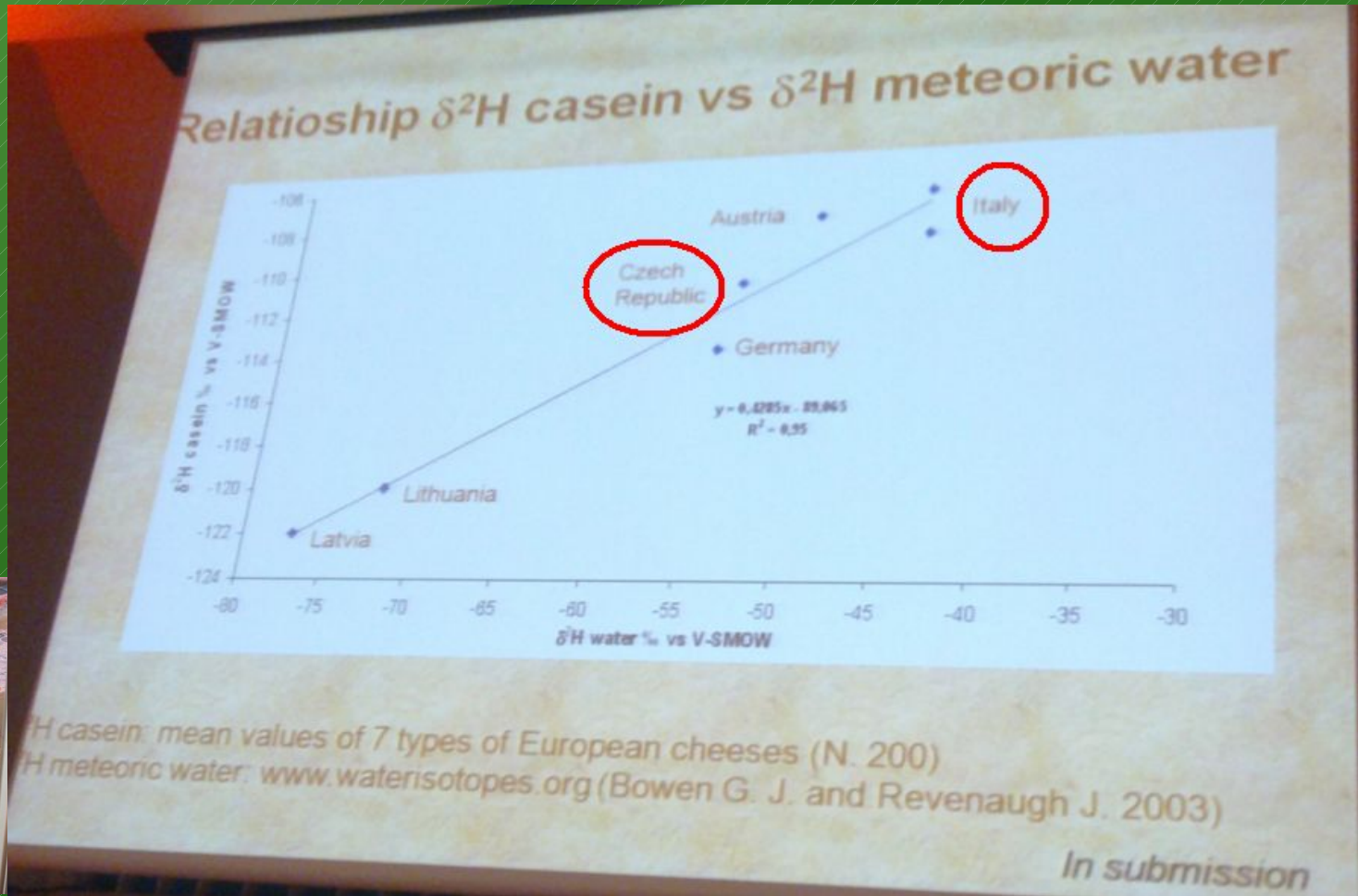


Figure 4. Correlation between  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{34}\text{S}$  values of casein.



# Autentifikace živočišných produktů

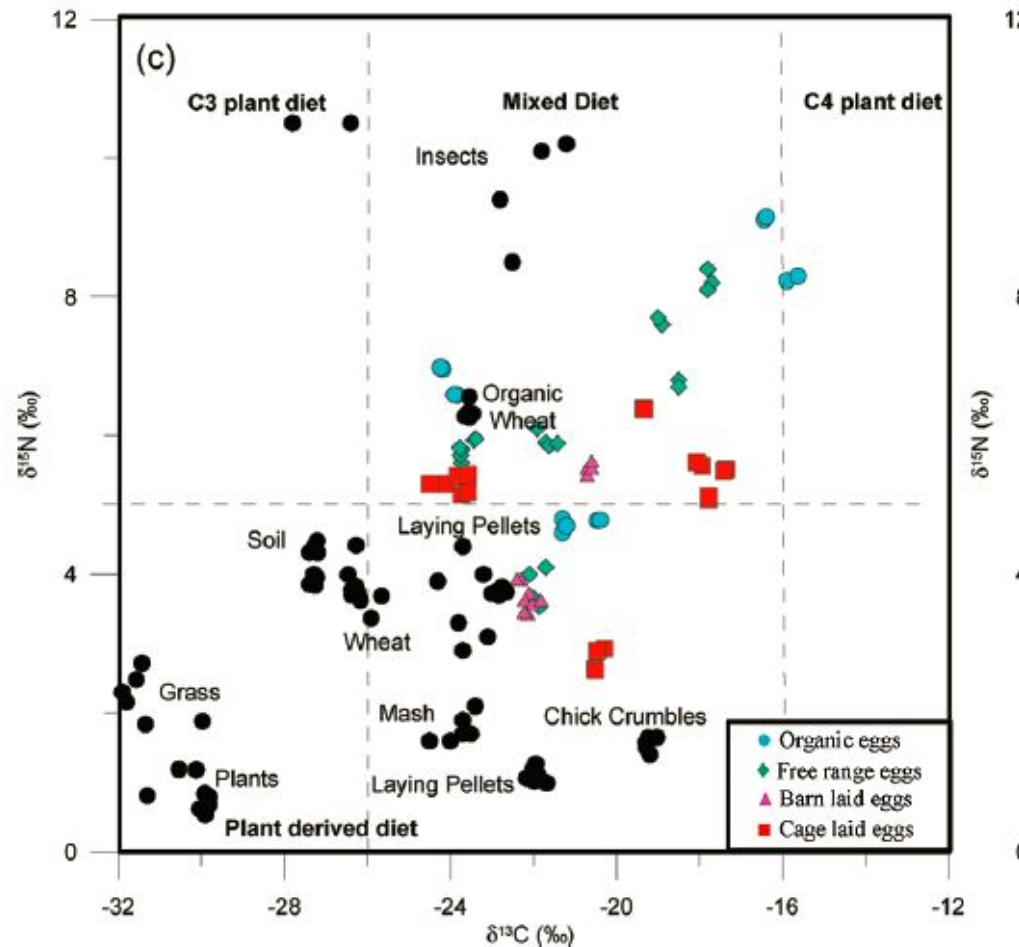
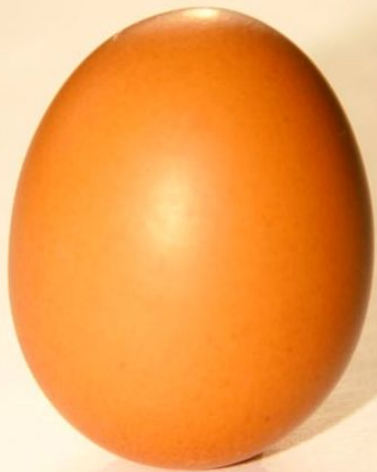
Tvrdé  
sýry  
 $\delta^2\text{H}$   
srážky  
Vs.  $\delta^2\text{H}$   
kaseinu





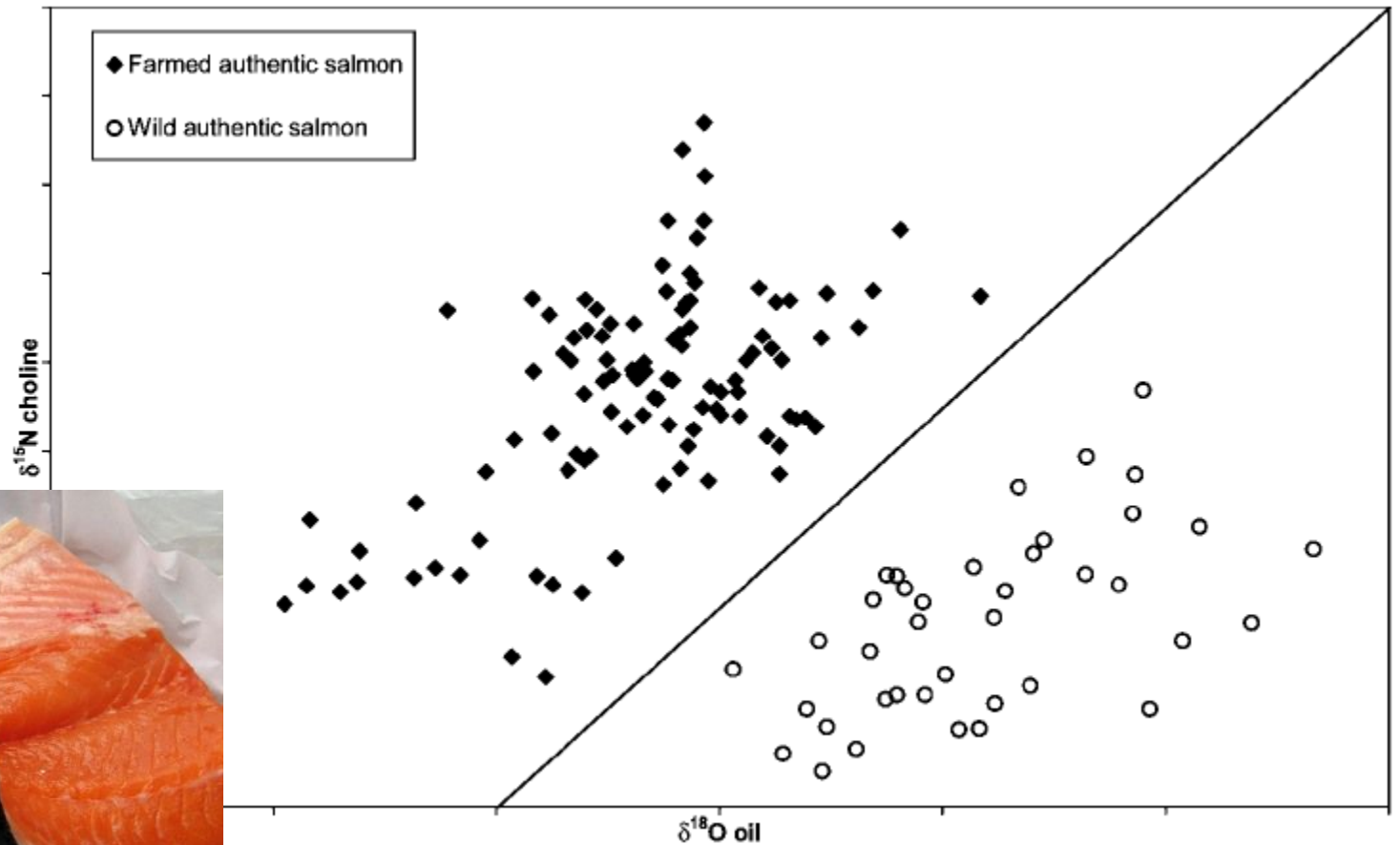
# Autentifikace živočišných produktů

Vežce slepic chovaných v klecích, v halách ve volném výběhu a tzv. organický vajec (analýza vaječné membrány)



# Autentifikace živočišných produktů

Losos divoký vs. chovaný



Thomas, F.: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56, 989-997

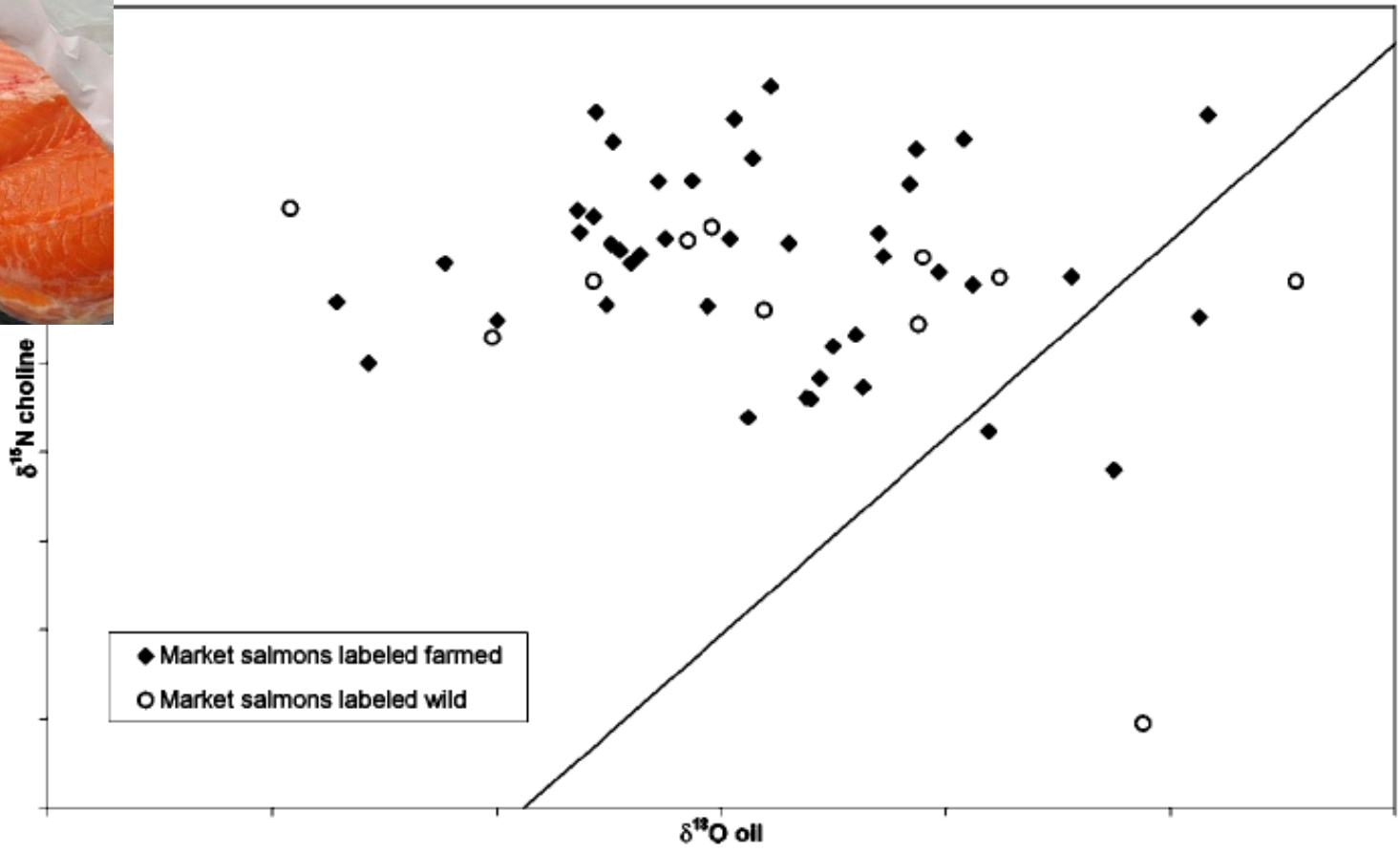
CC Boca Dorada

© SZPI



# Autentifikace živočišných produktů

Losos divoký vs. chovaný





Izotopová analýza čím dál více využívá  
co nejvíce proměnných vč. prvkové  
analýzy a statistického vyhodnocení

Budování drahých databank autentických  
produktů zdá se bude nahrazeno tzv.  
„izomapami“

Separáčnické techniky spojené s IRMS  
umožňují využití izotopového interního  
standardu

Děkuji za pozornost!