

Nicht-invasive Raman Analytik von Lebensmitteln - Anwendung in der Praxis?

Dr. René Bachmann – Landeslabor Schleswig-Holstein

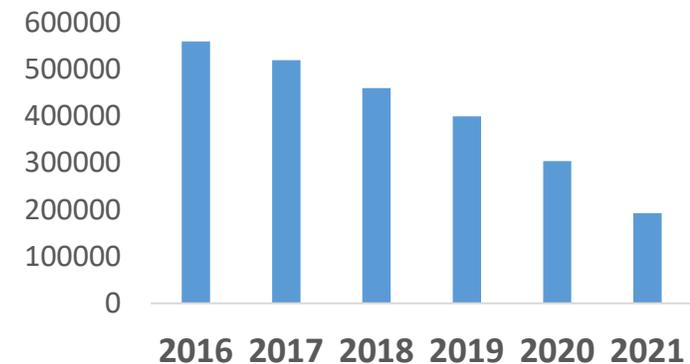
Nachhaltigere Lebensmittelanalytik

- Weltweit enorme Lebensmittelverluste
- Kann bei der Lebensmittelüberwachung optimiert werden?
- Beanstandungsquote Fleisch, Fisch, u.Ä. 22%
- Idealvorstellung: nicht invasive Analyse
 - Schnellere Ergebnisse
 - Geringere wirtschaftliche Schäden
 - Kein Verlust einwandfreier Lebensmittel



<https://www.ndr.de/nachrichten/schleswig-holstein/Schleswig-Holstein-verschenkt-rund-zwei-Millionen-Corona-Tests,coronatests198.html>

Veröffentlichungen "on-site food analysis"



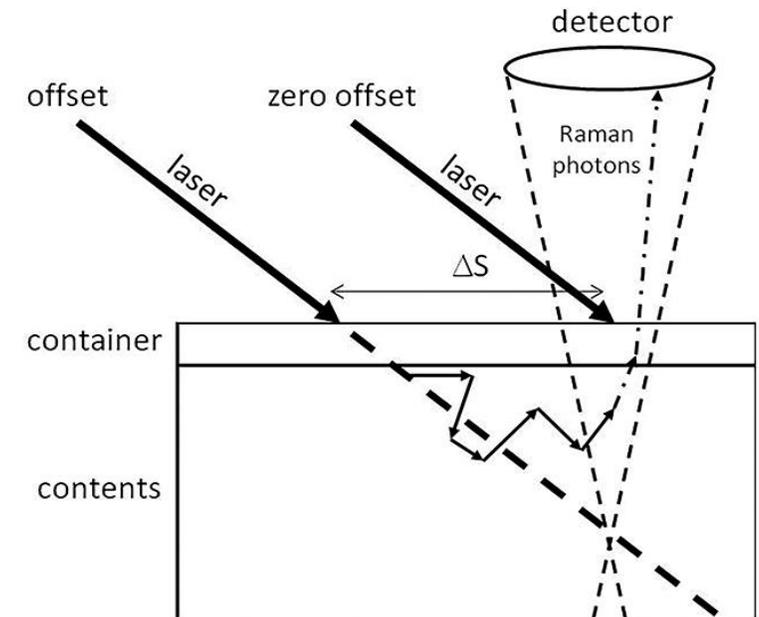
Raman-Spektroskopie vs. SORS

Raman-Spektroskopie

- Messung der inelastischen Streuung eines Lasers an Molekülen oder Festkörpern

Spatially-offset Raman-Spektroskopie

- Laser und Detektor sind räumlich getrennt
- Detektion der Streuung aus dem Inneren der Probe
- Verringerte Sensitivität
- Tragbares Gerät

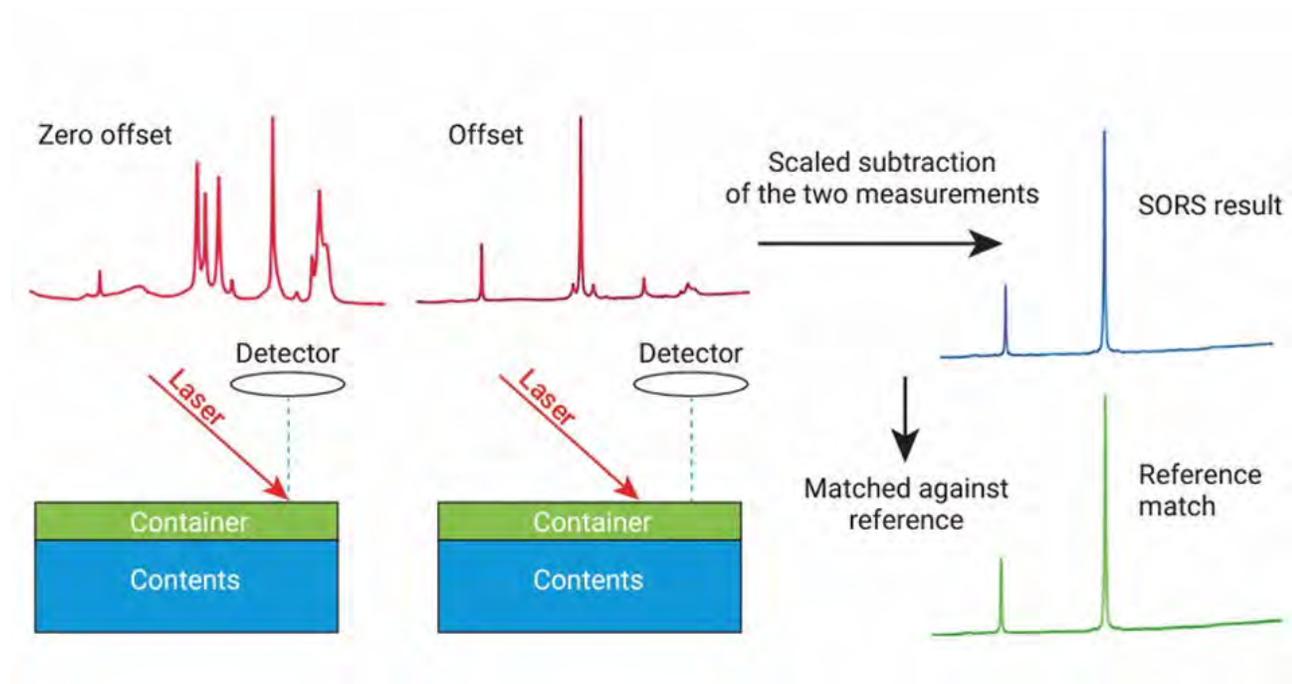


SORS: Messung der Streuung aus dem Inneren einer Probe durch räumliche Trennung von Detektor und Laser

R. McGee et al., *Spectroscopy Supplements, Special Issues-11-02-2018*, Volume 33, Issue 11, 24–30

Messmethodik SORS

- Messgerät subtrahiert automatisch (Rest-)Signal der Verpackung
- Für Identifizierung von Reinstoffen entwickelt
- Eignung für komplexe Matrices?
- Eignung für unterschiedliche Verpackungen?



<https://www.agilent.com/cs/publishingimages/spatially-offset-raman-spectroscopy-how-does-sors-work-agilent.jpg>

Klassifizierungsverfahren und Mustererkennung

- Untersuchung von mehreren Variablen zugleich
- Manuell nicht leistbar
- Unterscheidung über verschiedene Muster
- gezielte Trennung von vorgegebenen Probengruppen nach mathematischen Regeln
- Algorithmen neigen zum „Schönrechnen“, daher Validierung notwendig



orange

rund



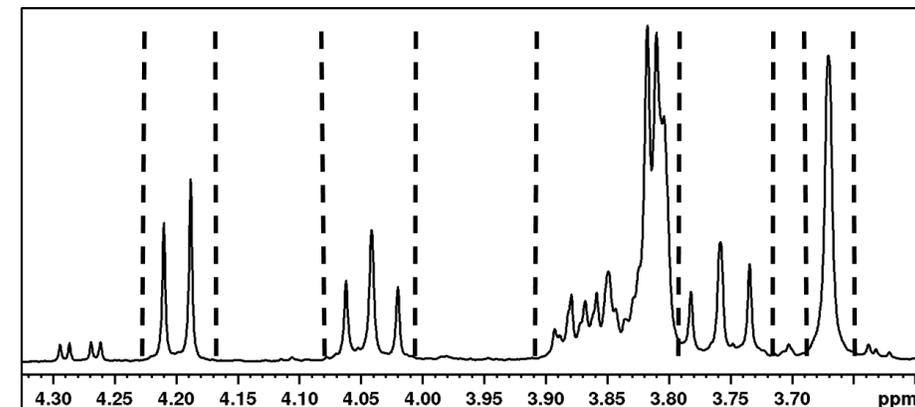
rot

rund



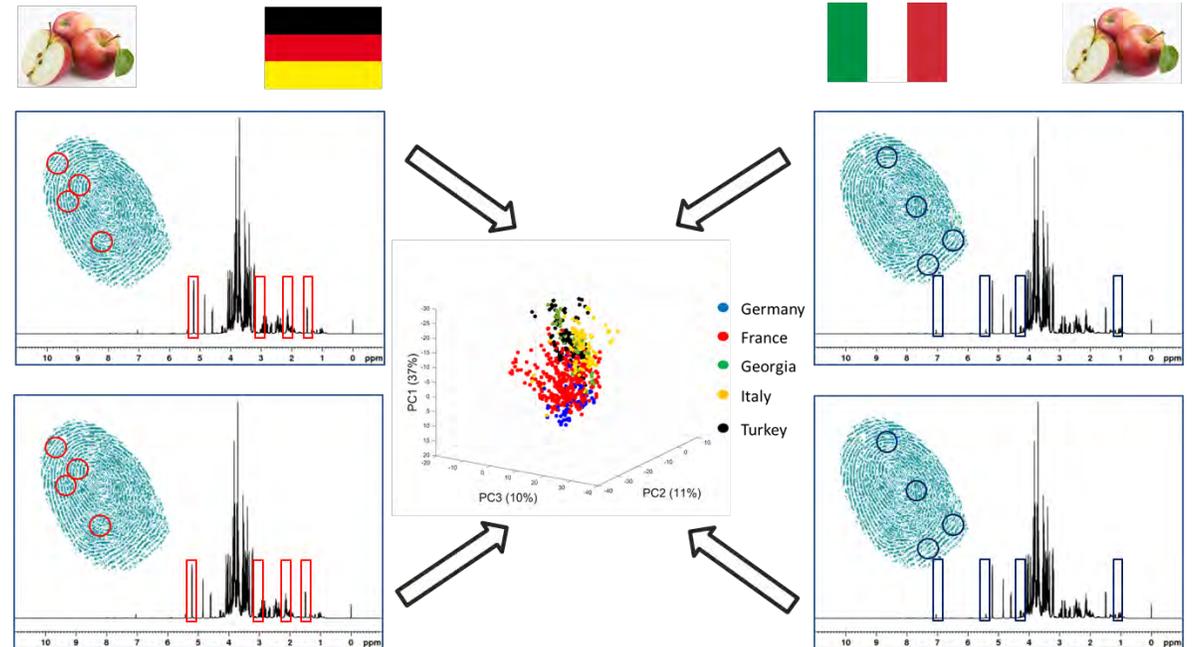
rot

birnenförmig



Klassifizierungsverfahren und Mustererkennung

- Untersuchung von mehreren Variablen zugleich
- Manuell nicht leistbar
- Unterscheidung über verschiedene Muster
- gezielte Trennung von vorgegebenen Probengruppen nach mathematischen Regeln
- Algorithmen neigen zum „Schönrechnen“, daher Validierung notwendig



Möglichkeiten und Limitationen der SORS

- Messung im Vial oder „frei Hand“ möglich
- Je nach Messung kann Umgebungslicht ein Problem sein
- Messungen durch Kunststoffe hindurch bis Verpackungsdicke von etwa 1 mm
- Messung durch Glasflaschen sehr gut möglich
- Keine Messung durch metallbeschichtete Verpackungen



Projekte für Raman-Spektroskopie

Food Safety/Verderb



(Verpackte)
Hähnchenbrust

Authentizität/ Verfälschung



Speiseöle



Fischarten

Herausforderungen bei der vor Ort Analytik

- Geeignete Lebensmittel?
- Dokumentation/rechtliche Rahmenbedingungen
- Kontaminationen?
- Unterschiedliche Umgebungen

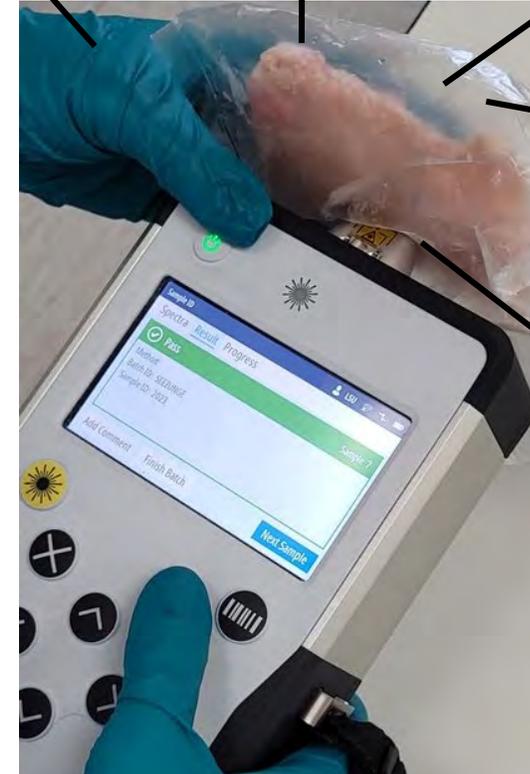
Kontamination?

Beschädigung
der Probe?

Kühlkette?

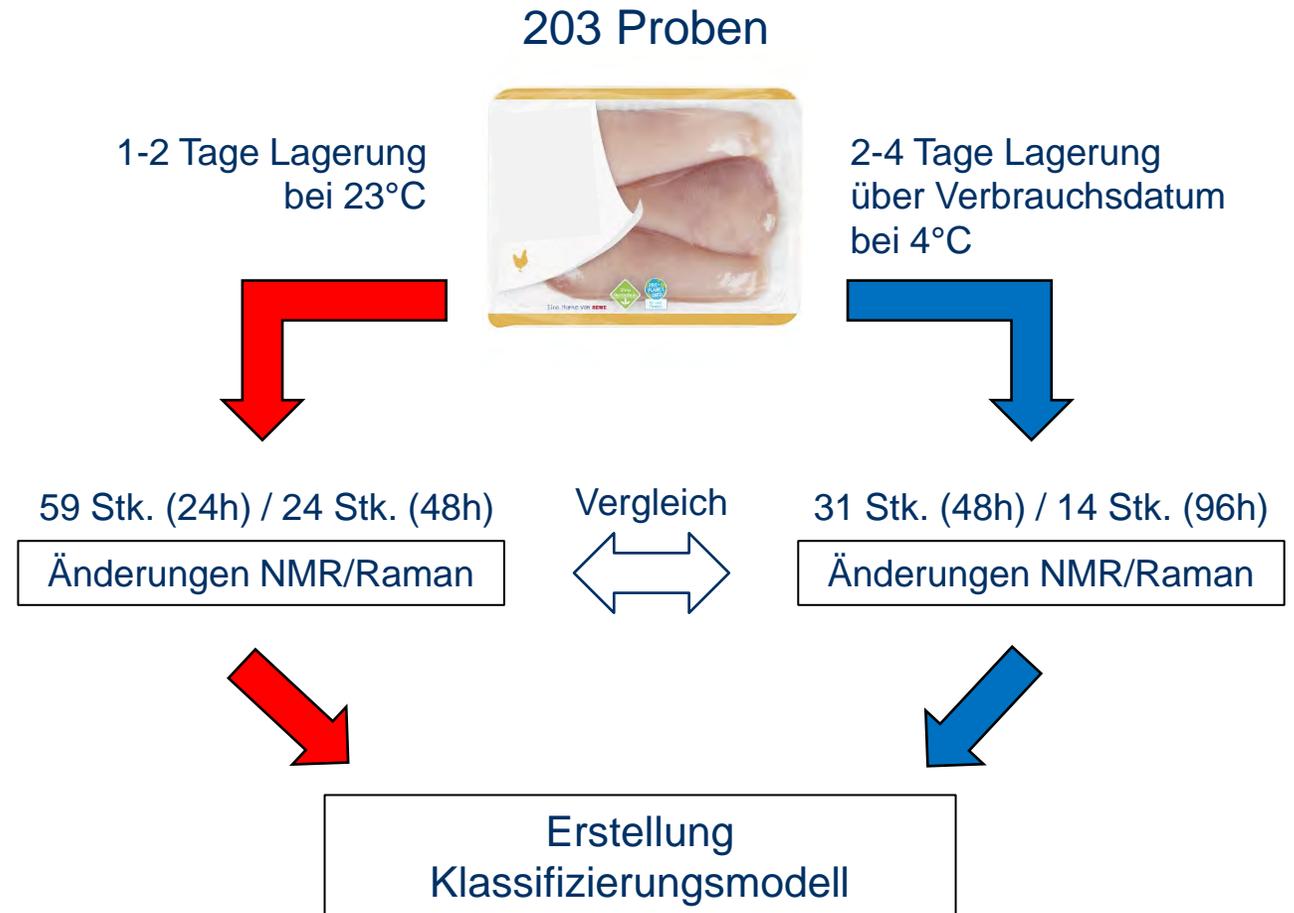
Lebensmittel-
echtheit Material?

Carry-Over der
Probe?



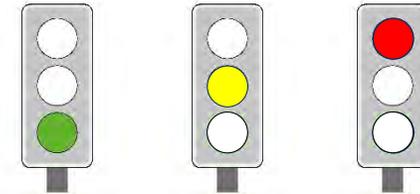
Versuchsaufbau Fleischverderb

- Messung von frischer, verpackter Hähnchenbrust (Kontrolle) mittels Raman
- Lagerung der Proben unter zwei verschiedenen Bedingungen
- Monitoring der Veränderungen mittels NMR
- Bestimmung der Gesamtkeimzahl



Ergebnisse verpacktes Fleisch

- Mehrfachmessung nötig
- Verderb lässt sich tendenziell erkennen
- Zu hohe falsch-positiv Rate
- Messung bei Licht schwierig
- Problem: verschiedene Verpackungen, zu viel Abstand von der Probe zur Verpackung



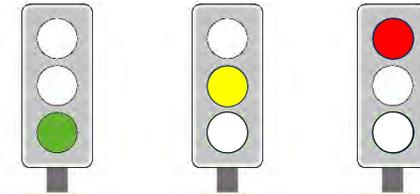
Verpacktes Fleisch

Vorhergesagt

		Tatsächlich		
		frisch	Nicht eindeutig	verdorben
Tatsächlich	frisch	59% (13)	9% (2)	32% (7)
	Verdorben Bei 23 °C	23% (5)	5% (1)	73% (16)
	Verdorben Bei 4 °C	5% (1)	5% (1)	90% (17)

Ergebnisse unverpacktes Fleisch

- Fleisch wurde mit Frischhaltefolie abgedeckt
- Messung „frei Hand“ fast immer möglich
- Deutlich höhere Erkennungsraten
- Überhaupt notwendig?
- Rückmeldung vom LMKs: hilfreich 😊



Unverpacktes Fleisch

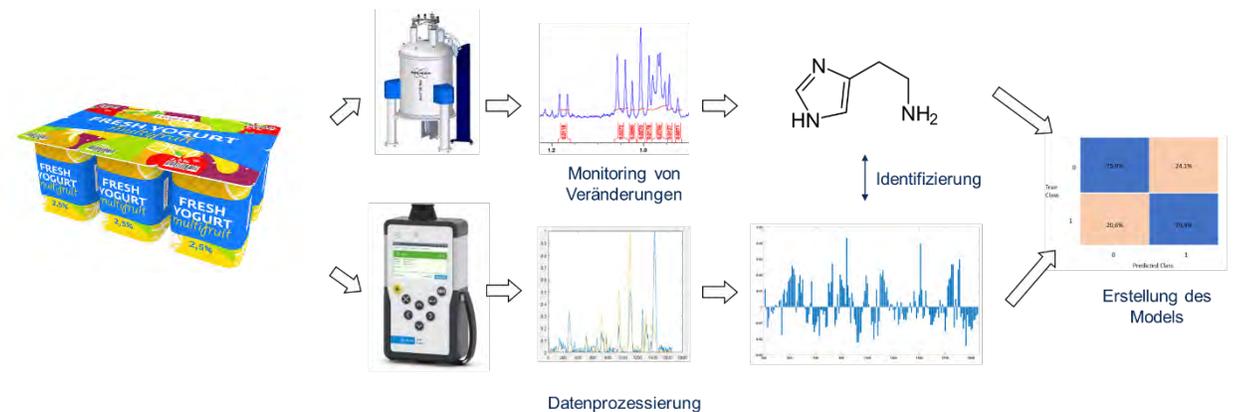
Vorhergesagt

	frisch	Nicht eindeutig	verdorben
frisch	86% (6)	0% (0)	14% (1)
Verdorben Bei 23 °C	0% (0)	50% (2)	50% (2)
Verdorben Bei 4 °C	0% (0)	0% (0)	100% (4)

Tatsächlich

Projektidee: Haltbarkeitsbestimmung von Lebensmitteln

- Untersuchung Haltbarkeit bei homogenen Matrices
- Milchprodukte?
- Über Veränderungen im Raman-Spektrum erkennbar, ob LM verdorben?
- Leider kein Interesse des Lebensmitteleinzelhandels



Struktur Lebensmittelüberwachung

- 16 Bundesländer sind verantwortlich für ihre Lebensmittelüberwachung
- Schleswig-Holstein hat 15 eigenständige LMÜs
- Landeslabor ist Serviceeinrichtung für die LMÜ (Lebensmittel, Futtermittel, Umweltproben, Zoonoseproben, Kosumcannabis)
- Spezialisierung einiger Überwachungslabore auf spezifische Warengruppen
- SH: z.B. Fisch, Fleisch, Säfte, NEM
~12000 Lebensmittelproben/Jahr

Landwirtschaftsministerium Schleswig-Holstein (MLLEV)



Ministerium für Inneres, ländliche Räume und Integration des Landes Schleswig-Holstein, Landesplanung
© GeoBasis-DE/LVermGeo SH (www.LVermGeoSH.schleswig-holstein.de)

Verfälschung von Speiseölen

- All-time Favourite: Olivenöl
- Sonnenblumenöl ist zusätzlich im Fokus
- 5 Typen von Speiseölen wurden untersucht
(Lein-, Raps-, Sonnenblumen-, Soja- und Olivenöl)
- Homogene Matrix!
- Messung durch verschiedenste Verpackung
(Original Glas- und Kunststoffflaschen, Kunststoff- und Braunglasflaschen aus dem Labor)



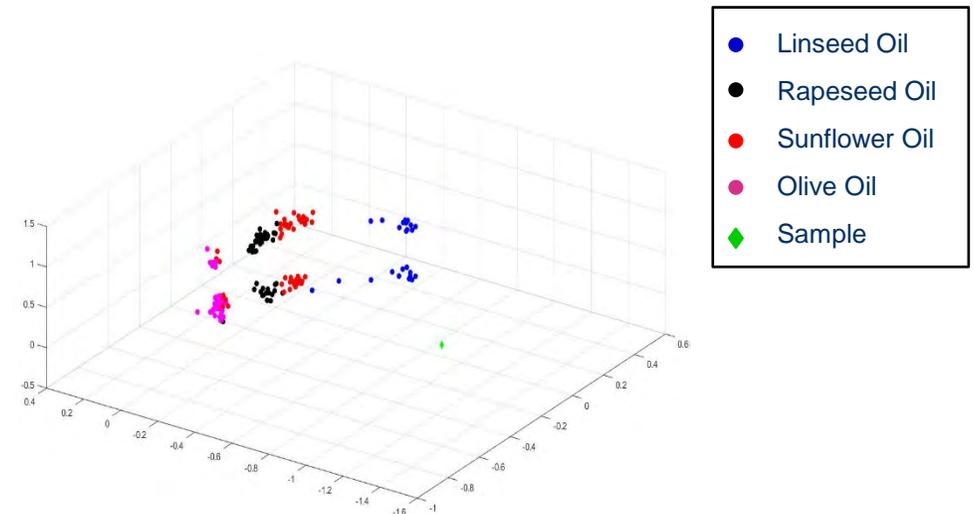
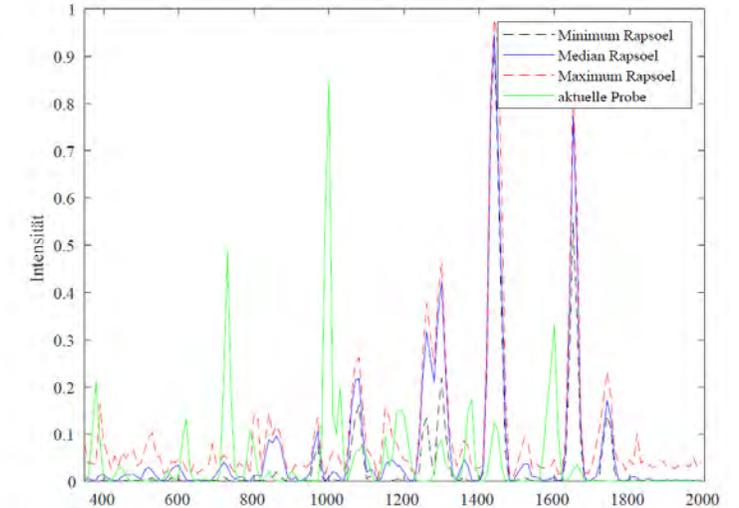
Investigation into alleged virgin olive oil scam in Spain widens

Food · People in possession olive oil from the thirteen affected brands are advised to refrain from consuming it and to contact the place of purchase to return it



Verfälschung von Speiseölen

- Kooperation mit dem Landeslabor Berlin-Brandenburg, LAVES und BfR
- Aufbau einer “Datenbank” aus 88 im Labor verifizierten und 107 Handelsproben (Kreuz- und Trainings/Testset-validiert)
- Auswertung der Proben anhand von 4 Methoden:
 - Plotten des Spektrum
 - PCA
 - Klassifizierung (“Hard” classification and score output)
 - Regression



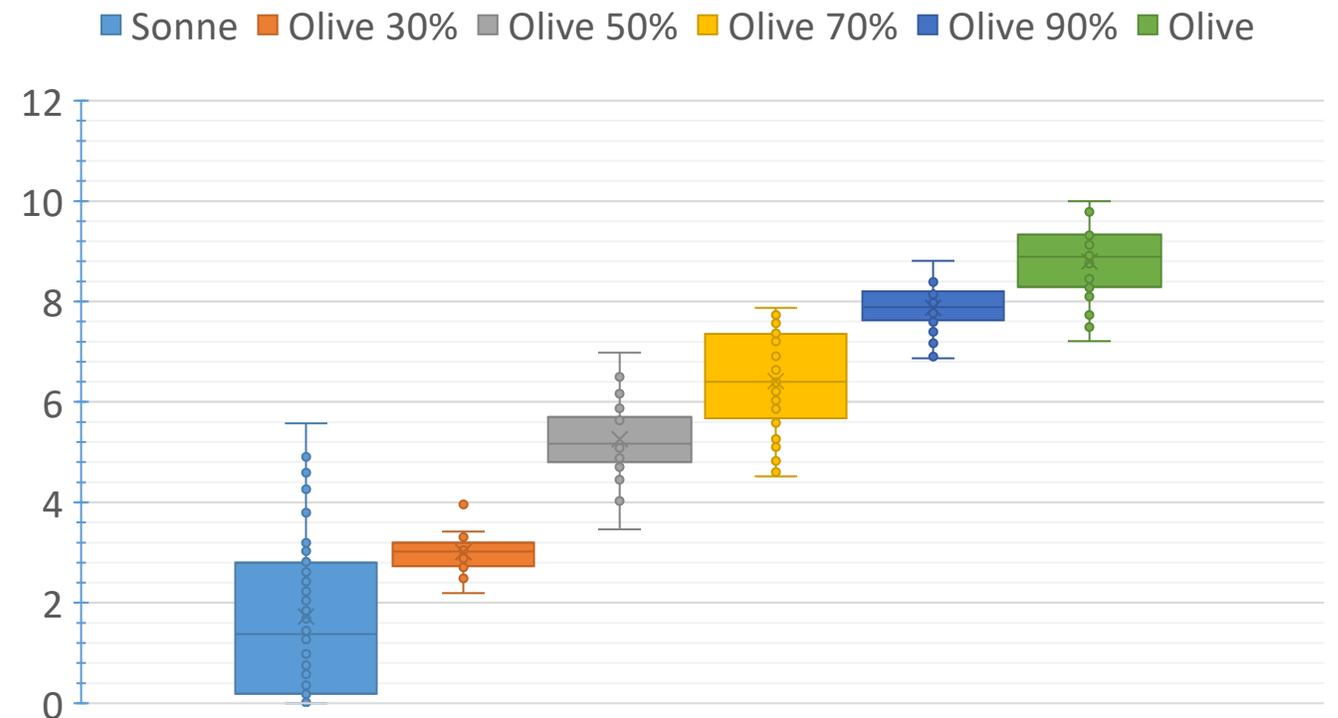
Verfälschung von Speiseölen

- Auswertung der Proben anhand von 4 Methoden:

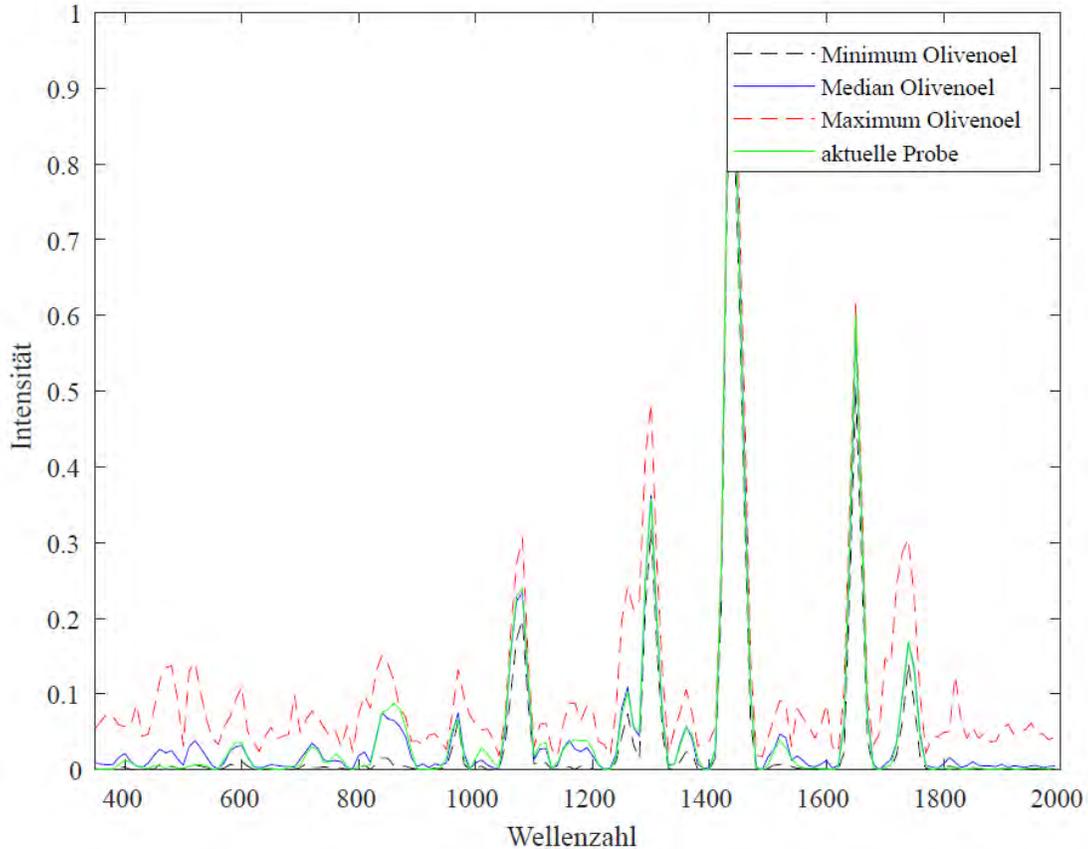
- Plotten des Spektrum
- PCA
- Klassifizierung
- Regression

- Klassifizierung von 150 Ölmischungen (Sonnenblumen/Olivenöl)

Klassifizierung	Score Leinöl	Score Rapsöl	Score Sonnenblumenöl	Score Olivenöl	Wert Regression
Olivenöl	-0.531	-0.167	-0.235	-0.150	7.24



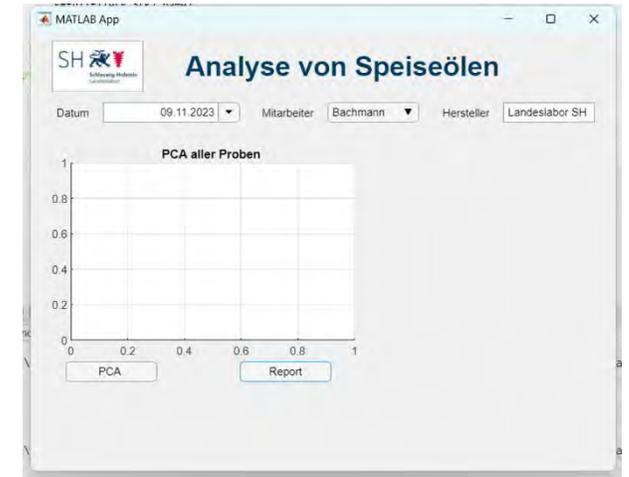
Warum so kompliziert?



Klassifizierung	Score Leinöl	Score Rapsöl	Score Sonnen- blumenöl	Score Olivenöl
Sonnen- blumenöl	-1.226	-2.247	0	-0.204

Klassifizierung	Score Leinöl	Score Rapsöl	Score Sonnen- blumenöl	Score Olivenöl
Olivenöl	-0.492	-0.147	-0.237	-0.144

Workflow



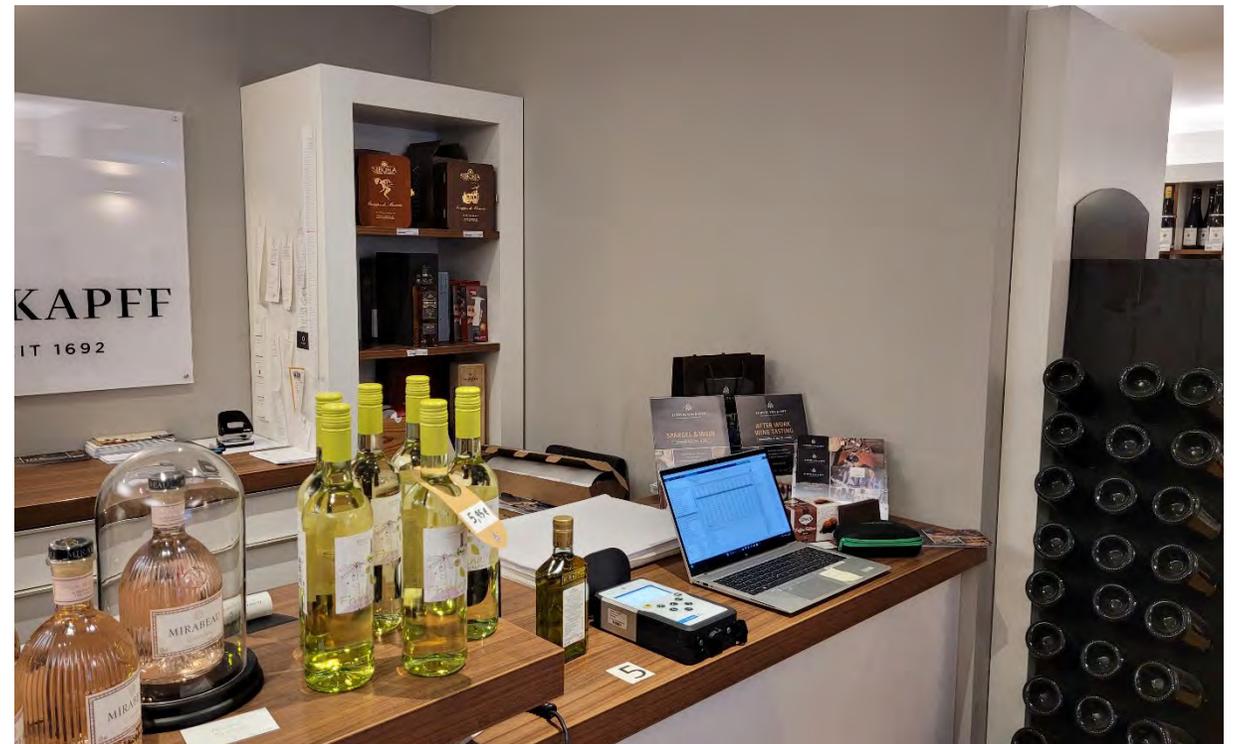
Aus der Praxis: Herausforderungen bei der vor Ort Analytik

- Dokumentation/rechtliche Rahmenbedingungen
- Unterschiedliche Umgebungen
- Umgebungslicht
- Positionierung des Gerätes
- Dauer für Probenserie: 1h/ 20 Proben (Aufbau, Messung, Datenexport)



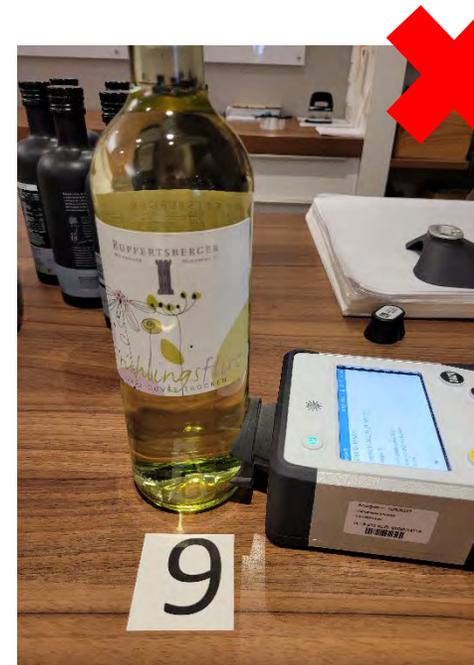
Aus der Praxis: Herausforderungen bei der vor Ort Analytik

- Dokumentation/rechtliche Rahmenbedingungen
- Unterschiedliche Umgebungen
- Umgebungslicht
- Positionierung des Gerätes
- Dauer für Probenserie: 1h/ 20 Proben (Aufbau, Messung, Datenexport)



Aus der Praxis: Herausforderungen bei der vor Ort Analytik

- Dokumentation/rechtliche Rahmenbedingungen
- Unterschiedliche Umgebungen
- Umgebungslicht
- Positionierung des Gerätes
- Dauer für Probenserie: 1h/ 20 Proben (Aufbau, Messung, Datenexport)



Aus der Praxis: Herausforderungen bei der vor Ort Analytik

- Dokumentation/rechtliche Rahmenbedingungen
- Unterschiedliche Umgebungen
- Umgebungslicht
- Positionierung des Gerätes
- Dauer für Probenserie: 1h/ 20 Proben (Aufbau, Messung, Datenexport)



Aus der Praxis: Herausforderungen bei der vor Ort Analytik

- Dokumentation/rechtliche Rahmenbedingungen
- Unterschiedliche Umgebungen
- Umgebungslicht
- Positionierung des Gerätes
- Dauer für Probenserie: 1h/ 20 Proben (Aufbau, Messung, Datenexport)

Labor



Weinhandel



Erfahrungen aus der vor Ort Analytik

Restaurants



Produzenten



- Häufig 5-10 Proben pro Betrieb
- Viele Verpackungen möglich
- Workflow funktioniert
- Fachpersonal für Messung und Auswertung notwendig
- Spektrum muss gelesen werden
- **Mit Störungen rechnen!**

Einzelhandel

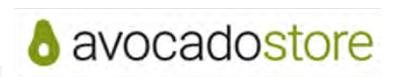
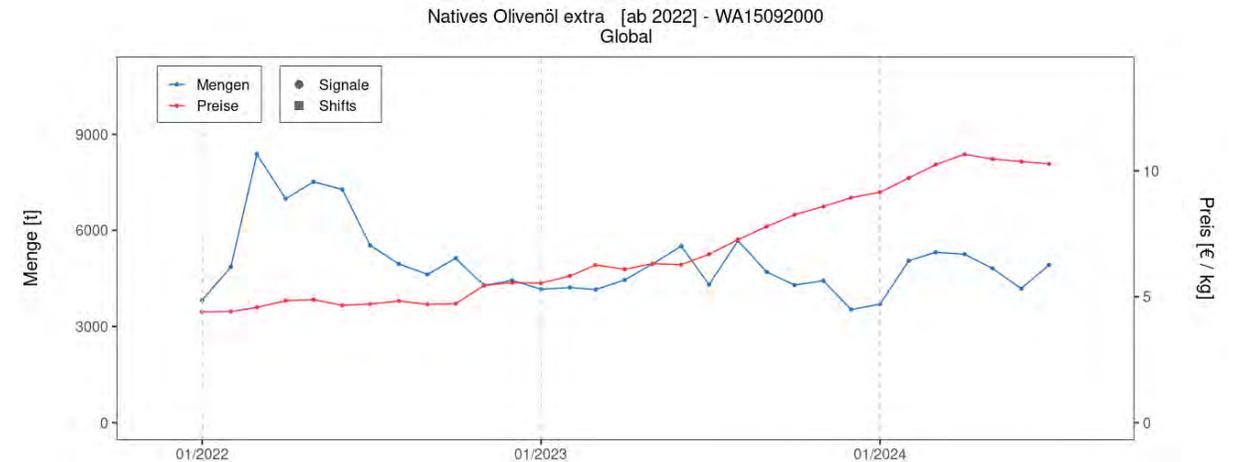


Großhandel



Erfahrungen aus der vor Ort Analytik

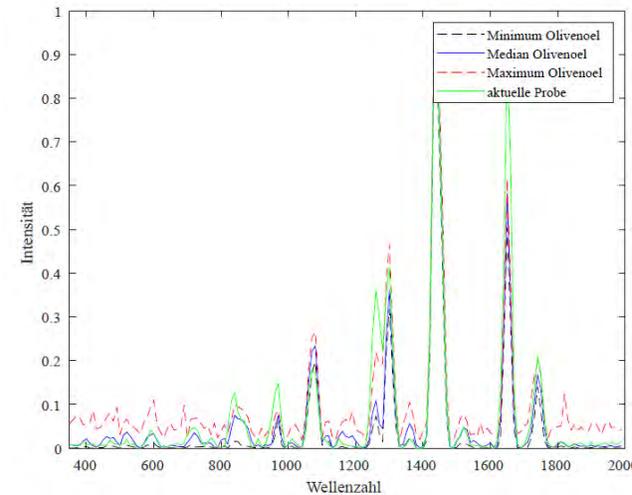
- Vor Ort Analyse bei 7 Betrieben in SH durchgeführt
→ Keine Auffälligkeiten
- Vertriebswege?
- 30 Proben von 17 Händlern beschafft
(5 Ausland, 5 Deutschland, 7 SH)
- Davon 1 bestätigt „auffällig“



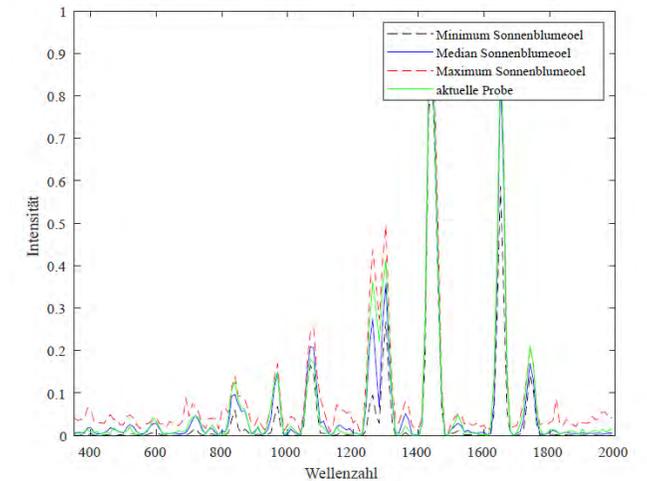
Aktuelle Proben

- Aktuell 3 Proben in SH durch das Institut für Hygiene und Umwelt untersucht und auffällig
- Raman Spektrum der Proben zeigt ganz deutlich eine Verfälschung an
- Übereinstimmung mit Laborergebnissen

Ableich Olivenöl



Ableich Sonnenblumenöl



- Methodik funktioniert!

Klassifizierung	Score Leinöl	Score Rapsöl	Score Sonnenblumenöl	Score Olivenöl	Wert Regression
Sonnenblumenöl	-0.374	-0.197	-0.001	-0.642	1.656

Weitere Anwendungsgebiete: Gewürze

- Schwerpunktuntersuchung fand 6% verfälschte Paprika-/Chiliprogen
- Verfälschungen von Gewürzen
bspw. durch Zusatz von Farbstoffen
- Typische Funde 1mg/kg- 5g/kg
- Beimengungen gut erkennbar

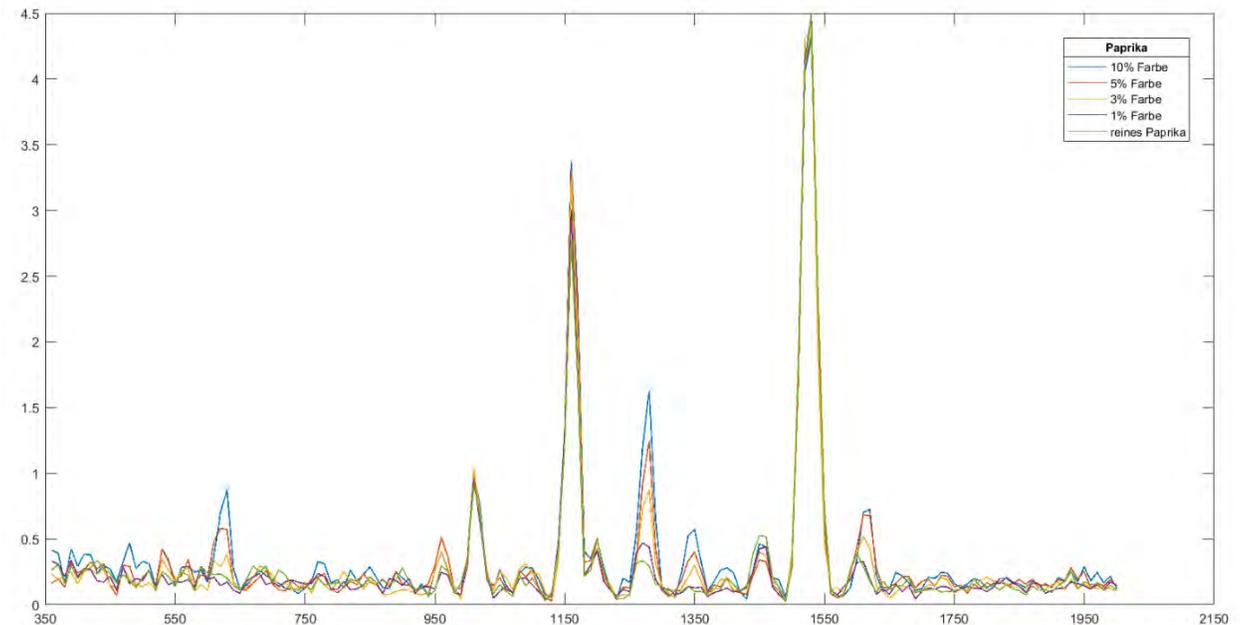
Erythrosin



Paprikapulver



Mischungen Paprikapulver mit Erythrosin (1-10%)



<https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC126785>

Weitere Anwendungsgebiete: Gewürze

- Schwerpunktuntersuchung fand 6% verfälschte Paprika-/Chiliprogenen
- Verfälschungen von Gewürzen
bspw. durch Zusatz von Farbstoffen
- Typische Funde 1mg/kg- 5g/kg
- Beimengungen gut erkennbar
- Je nach Mahlgrad starke Zunahme des SNR

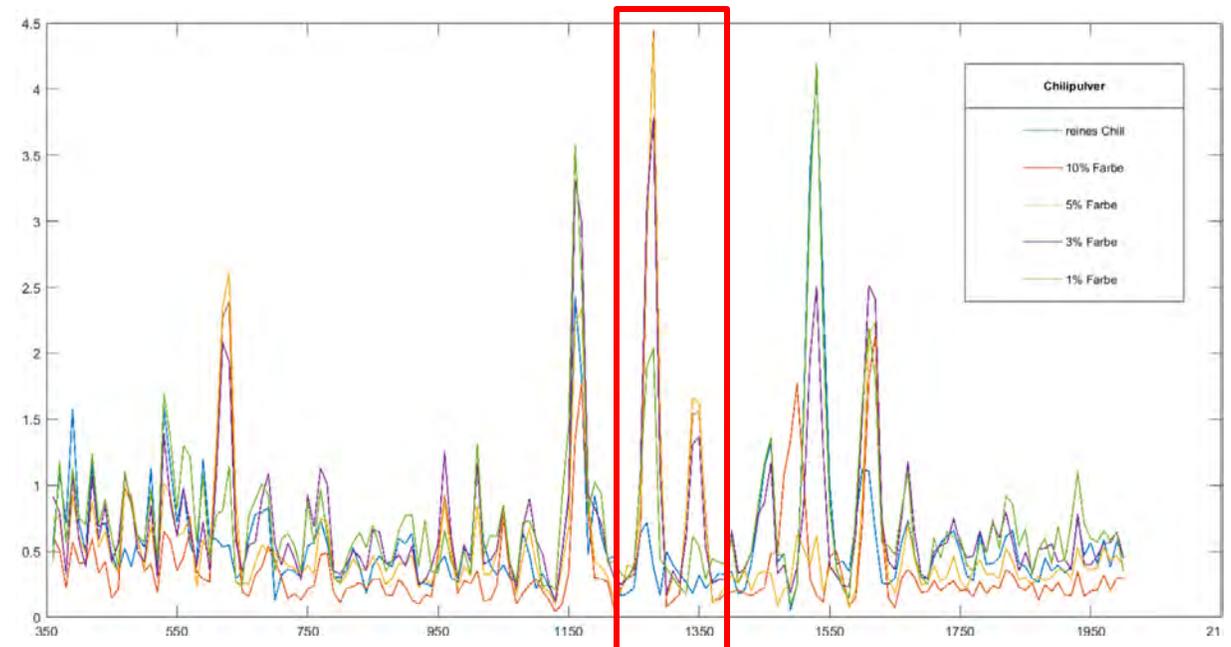
Erythrosin



Chilipulver



Mischungen Chilipulver mit Erythrosin (1-10%)



<https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC126785>

Weitere Anwendungsgebiete: Honig

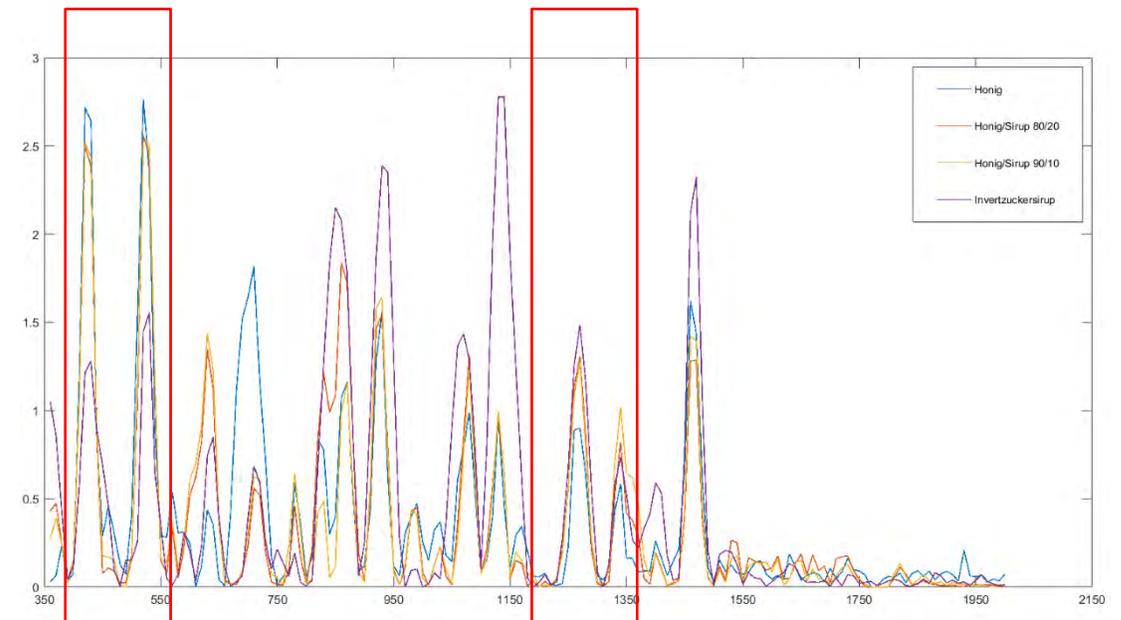
- Saccharose, Fructose und Glucose zeigen deutlich unterscheidbare Raman-Spektren
- Grobe Verfälschungen mit Invertzuckersirup möglicherweise detektierbar
- Eignung für weitere Fragestellungen werden mit Projektpartnern überprüft (NRZ Authent, LAVES)



Chilipulver

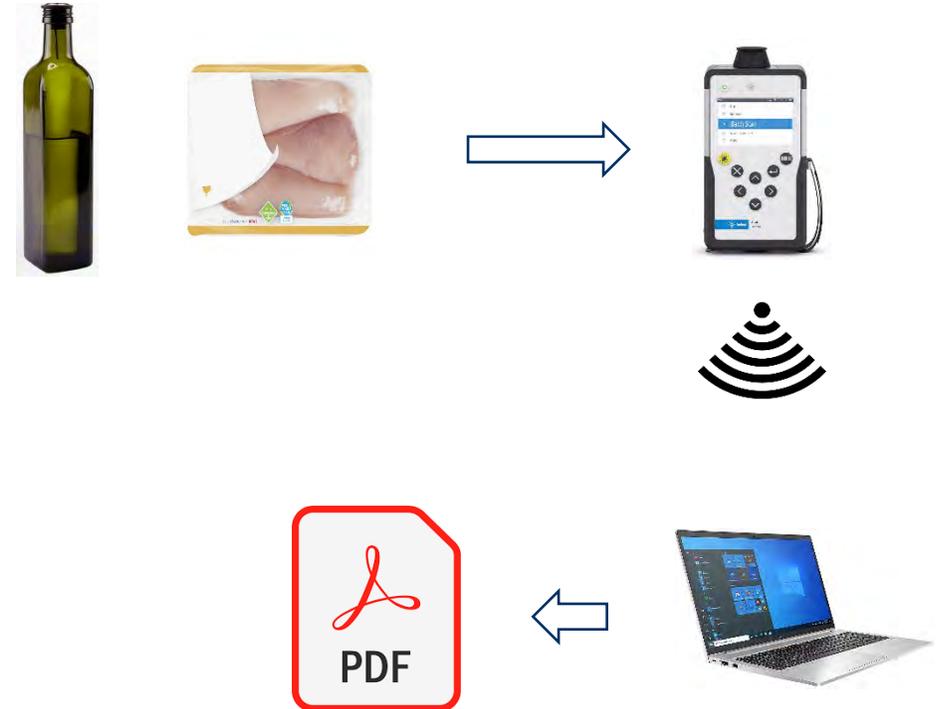


Mischungen Honig und Invertzuckersirup



Zusammenfassung: Einsatz in der Routine

- Laserabschirmung
- Viele verschiedene Verpackungen können durchdrungen werden
- Für homogene Matrices sehr gut geeignet
- Für Nachweis von Verfälschungen oder Haltbarkeit denkbar
- Gemeinsame Nutzung mehrerer BL sinnvoll



Danksagung

Lyn Christiansen

Melike Kaya

Nele Paasch

Anna Lena Horns

Sarah-Marie Barmbold

Lara Cordsen

Ole Sindt

Hubert Wonnemann

Markus Weidner

Rico Rieper

Christine Bothmann

Katrin Lütjen

Gesche Hadenfeldt

Eliska Kruse

Laura Tedsen

Anna Zahn

Tamina Schmidt

Prof. Markus Fischer

Prof. Gerald Rimbach

LMÜ Kreis Schleswig-Flensburg

LMÜ Kreis Stormarn

LMÜ Kreis Pinneberg



Schleswig-Holstein
Ministerium für Landwirtschaft,
ländliche Räume, Europa
und Verbraucherschutz

Michael Wilpsbäumer

Ingeborg Schaible Sonja

Bolloff

Jessica Hattesen

Jacqueline Holm

Jana Kellner

Christian Sandau

Tanja Timm

Wiebke Rohwer



Chemisches und Veterinär-
untersuchungsamt Karlsruhe

Thomas Kuballa



Martin Kaufmann

Michael Kresse



Jana Paulsen



Felix Wustrack

Michael Pfister



