

SPETTROSCOPIA AD ALTA RISOLUZIONE DI ZUCCHERI

G. GIUBILEO, A. PUIU, I. CALDERARI

ENEA – Unità Sviluppo di Applicazioni delle Radiazioni
Laboratorio DIM
Centro Ricerche Frascati, Roma



AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE,
L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

SPETTROSCOPIA AD ALTA RISOLUZIONE DI ZUCCHERI

G. GIUBILEO, A. PUIU, I. CALDERARI

ENEA – Unità Sviluppo di Applicazioni delle Radiazioni

Laboratorio DIM

Centro Ricerche Frascati, Roma

I Rapporti tecnici sono scaricabili in formato pdf dal sito web ENEA alla pagina
<http://www.enea.it/it/produzione-scientifica/rapporti-tecnici>

I contenuti tecnico-scientifici dei rapporti tecnici dell'ENEA rispecchiano l'opinione degli autori e non necessariamente quella dell'Agenzia.

The technical and scientific contents of these reports express the opinion of the authors but not necessarily the opinion of ENEA.

SPETTROSCOPIA AD ALTA RISOLUZIONE DI ZUCCHERI

GIANFRANCO GIUBILEO, ADRIANA PUIU, IGOR CALDERARI

Sommario

Un sensore IR basato su spettroscopia laser fotoacustica (LPAS) realizzato al Centro ENEA di Frascati, sulla base di una sorgente laser CO₂, è stato applicato alla rivelazione ad alta risoluzione degli spettri di assorbimento di comuni sostanze dolcificanti nella regione fingerprint. Vengono descritti metodo e risultati sperimentali. A nostra conoscenza, i dati spettrali ottenuti con tecnica LPAS per il fruttosio, glucosio, maltosio e saccarosio non sono stati precedentemente riportati dalla letteratura scientifica.

Parole chiave: IR, LPAS, zuccheri, dolcificanti.

Abstract

A Infrared Laser Photo-Acoustic Spectroscopy (LPAS) sensor realised at ENEA Frascati Center, based on a CO₂ laser source, was applied for recording high resolution absorption spectra of common sugars in the fingerprint region. The methods and the experiments are described; the results are reported. The spectral data obtained by the LPAS sensor for fructose, glucose, maltose and sucrose were not previously reported in literature at our knowledge

Key words: IR, LPAS, sugar, sweeteners.

Indice

1. Introduzione	7
2. Materiali e metodi	12
3. Risultati	15
4. Discussione	19
5. Conclusioni	25
Ringraziamenti	25
Bibliografia	26

1. Introduzione

Al giorno d'oggi la sicurezza alimentare e la tutela dei consumatori richiedono di aumentare la qualità del cibo e delle bevande e di adottare metodi più veloci e più facili per la determinazione della qualità stessa. Nel caso di bevande commerciali come i succhi di frutta, le frodi più comuni sono basate su aggiunta di acqua ed edulcoranti a basso costo al prodotto. I metodi cromatografici GC e HPLC sono attualmente utilizzati come tecniche di riferimento per determinare correttamente la qualità di un succo di frutta tramite determinazione del profilo di oligosaccaridi (Pan 2002). Tali tecniche sono dispendiose, richiedono tempo e sono difficili da implementare in un ambiente on-line (Leopold 2009).

D'altra parte, l'approccio basato sulla spettroscopia IR a trasformata di Fourier (FTIR) considera l'intera composizione del campione ed è ampiamente utilizzato come attività da laboratorio per identificare e studiare sostanze chimiche attraverso la misura di frequenze vibrazionali/roto-vibrazionali delle molecole eccitate. Le bande di assorbimento nella lunghezza d'onda MIR sono caratteristiche dei legami chimici e dei gruppi funzionali di una molecola, quindi lo spettro globale agisce come un'impronta digitale per un dato composto. Ciò ha permesso di applicare la spettroscopia FTIR a temi quali autenticità e profili di composizione (Kelly 2005).

Nel campo della spettroscopia infrarossa, la spettroscopia ad alta risoluzione può competere con la spettroscopia FTIR per quantificare simultaneamente il contenuto di fruttosio, saccarosio e glucosio in un succo di frutta, essendo tale dato utilizzato come biomarker autenticità. Una tecnica spettroscopica laser è in grado di offrire una opportunità significativa nel rilevare specifiche firme spettrali di zuccheri, e composti organici in generale, a concentrazione di traccia. Tra i diversi possibili metodi di spettroscopia ad alta risoluzione, per l'identificazione degli zuccheri in fase solida è stata selezionata la spettroscopia di assorbimento laser per effetto fotoacustico (LPAS). La tecnica LPAS (Michaelian 2003) è caratterizzata da elevata sensibilità e selettività, ma anche da robustezza e semplicità, tutte qualità importanti volendo finalizzare la ricerca alla realizzazione di un apparato trasportabile.

LPAS è una tecnica di spettroscopia di assorbimento indiretta basata sull'effetto fotoacustico (PA) in matrice solida, un fenomeno scoperto da Alexander Bell nel 1880. Bell dimostrò che quando un fascio di luce solare interrotto periodicamente illumina un solido in una cella chiusa, può essere sentito un suono udibile mediante un tubo collegato alla cella. Ciò risulta possibile per il fatto che l'energia solare assorbita dal campione viene trasformata in energia cinetica nel corso di processi di scambio energetico. Questo provoca un riscaldamento locale e di conseguenza nella

cella chiusa si genera un'onda di pressione. Il suono così ottenuto rappresenta il segnale fotoacustico. Misurando il suono a diverse lunghezze d'onda, si ottiene uno spettro fotoacustico del campione. In un moderno sistema LPAS, la generazione di onde acustiche in una cella fotoacustica risonante viene ottenuta tramite la modulazione di intensità di un fascio laser. In questo contesto, stiamo lavorando per dimostrare la applicabilità della tecnica LPAS alla identificazione di diversi tipi di sostanze dolcificanti alimentari, allo scopo di mettere a punto un sistema ottico in tempo reale utile per una analisi che se non consente di effettuare una misura quantitativa di composizione, consenta quanto meno di rivelare in una miscela dolcificanti o in bibite light e succhi di frutta la presenza di sostanze indesiderate perché a costo inferiore di sostanze più pregiate o perché possono avere effetti dannosi conseguenti la loro ingestione.

Consideriamo ad esempio il Fruttosio. In Figura 1 è riportato il suo modello molecolare. La ragione principale per cui il fruttosio è utilizzato commercialmente in alimenti e bevande, oltre il suo basso costo, è un elevato potere dolcificante. Quando il fruttosio viene ingerito si possono verificare sintomi di malassorbimento. Diversi studi hanno misurato l'assorbimento intestinale di fruttosio utilizzando la tecnica del Breath Test all'idrogeno. Questi studi indicano che il fruttosio non è completamente assorbito nell'intestino tenue. Quando il fruttosio non viene assorbito nell'intestino tenue, viene trasportato nel piccolo intestino, dove viene fermentato dalla flora del colon. L'idrogeno viene prodotto durante il processo di fermentazione e dissolve nel sangue della vena porta. Questo idrogeno è trasportato ai polmoni, dove subisce un processo di scambio attraverso i polmoni ed è misurabile nel fiato espirato. Intanto la flora del colon produce anche anidride carbonica, acidi grassi a catena corta, acidi organici, e tracce di gas in presenza di fruttosio non assorbito. La presenza di gas e acidi organici nel grande intestino provoca sintomi gastrointestinali come gonfiore, diarrea, flatulenza e dolore gastrointestinale. La parte di fruttosio assorbita passa nel sangue e viene metabolizzata nel fegato. La conversione metabolica di fruttosio a glicogeno nel fegato è mostrata nella Figura 2.

Consideriamo anche l'aspartame. L'aspartame è una sostanza dolcificante a basso contenuto calorico (4 kcal per grammo). Il suo potere dolcificante è circa 200 volte maggiore di quello dello zucchero (saccarosio), per cui un impiego molto ridotto assicura una dolcificazione con basso numero di calorie. Nella Figura 3 è riportata la sua composizione chimica. Esso è composto da due aminoacidi (acido aspartico, 40%, e fenilalanina, 50%) e da metanolo (10%). L'aspartame è sicuramente l'edulcorante attualmente più utilizzato al mondo perché ha un costo basso, un grande potere dolcificante e all'industria alimentare risulta di facile reperibilità e lavorazione. Questa sostanza è attualmente presente in un vasto numero di prodotti dietetici, e il suo consumo annuo viene calcolato in milioni di chilogrammi. L'aspartame fu scoperto nel 1965 da un chimico (J. M.

Schlatter) che lavorava per la Searle, azienda farmaceutica acquistata poi dalla Monsanto che vendette il prodotto fino alla liberalizzazione del brevetto con il nome di Nutrasweet, ma il suo uso per l'utilizzo negli alimenti non è stato consentito fino al 1981, quando fu approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) dopo che per oltre otto anni aveva rifiutato di approvare l'uso dell'aspartame a causa delle convulsioni e dei tumori al cervello che questa sostanza ha provocato negli animali da laboratorio. Da allora si alternano ricerche che sostanzialmente ritengono l'aspartame sicuro e altre che invece mettono in guardia su pericolosi effetti collaterali. L'originaria dose giornaliera ammissibile fissata dalla FDA (Food and Drug Administration) a 50 mg/kg di peso corporeo è attualmente fissata in Europa a 40 mg/kg di peso corporeo. La tossicità dell'aspartame è dovuta soprattutto alla presenza del metanolo nella sua composizione; in pratica ogni 10 g di aspartame che assumiamo, il 10%, cioè 1 g, è metanolo. Il metanolo viene liberato gradualmente nel piccolo intestino quando il gruppo metilico dell'aspartame incontra l'enzima chimotripsina. L'assorbimento di metanolo nel corpo è accelerato considerevolmente quando viene ingerito metanolo libero. Il metanolo libero si forma nell'aspartame quando viene riscaldato oltre i 30° C. Questo avviene ad esempio quando un prodotto contenente aspartame viene immagazzinato e conservato impropriamente o quando viene riscaldato (come componente di un qualsiasi prodotto alimentare). Un litro di bevanda dolcificata con aspartame contiene circa 56 mg di metanolo. Poiché il metabolismo di aspartame libera metanolo, l'assunzione regolare di aspartame può causare danni "lenti e silenziosi" in tutte quelle persone che sono così sfortunate da non avere reazioni immediate (allergia) e che non hanno quindi un motivo per evitarlo. Il metanolo è un veleno, che ha causato la morte e la cecità di molti consumatori di vino qualche anno fa.

A valle delle considerazioni su esposte, emerge l'esigenza di conoscere la composizione delle sostanze dolcificanti che utilizziamo o che sono presenti in alimenti e bevande, composizione non sempre dichiarata sulla confezione o mistificata a scopo truffaldino. Sarebbe utile avere a disposizione un metodo di facile utilizzo che consenta in tempo reale di sapere se un dato dolcificante è presente in una data sostanza alimentare. La spettroscopia laser si presta in linea di principio a colmare questa lacuna.

Le considerazioni che precedono hanno motivato l'inizio delle ricerche spettroscopiche ad alta risoluzione sui dolcificanti nell'ambito delle attività finanziate dal Progetto MI01_00182-SAL@CQO. Sono stati pertanto analizzati tramite LPAS i campioni standard commerciali di varie sostanze dolcificanti alimentari (fruttosio, maltosio, saccarosio, glucosio, aspartame). Nelle pagine seguenti vengono riportati i risultati sperimentali. Il presente documento costituisce il passo preliminare verso lo sviluppo di una tecnica ottica non distruttiva per il rilevamento in tempo reale della frode su menzionata.

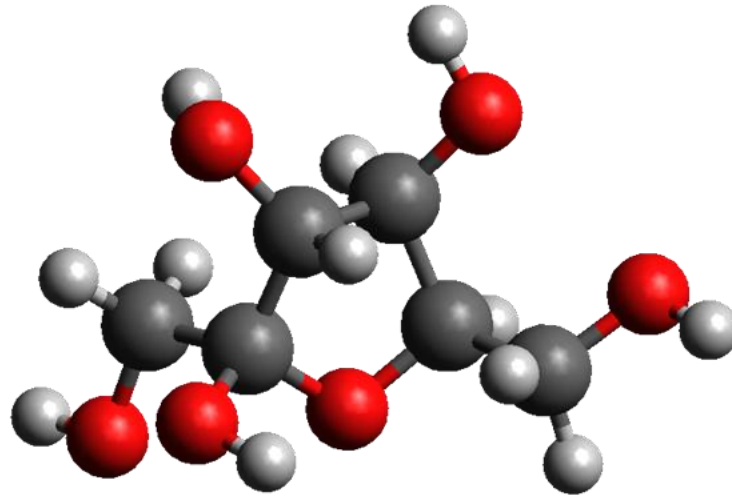


Fig. 1: Modello molecolare del Fruttosio.

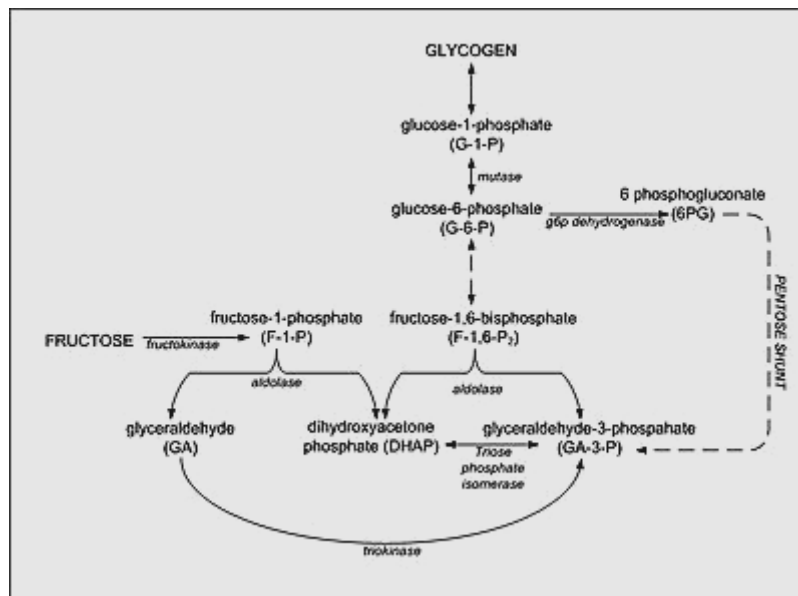


Fig. 2: Conversione metabolica di Fruttosio in glicogeno nel fegato .

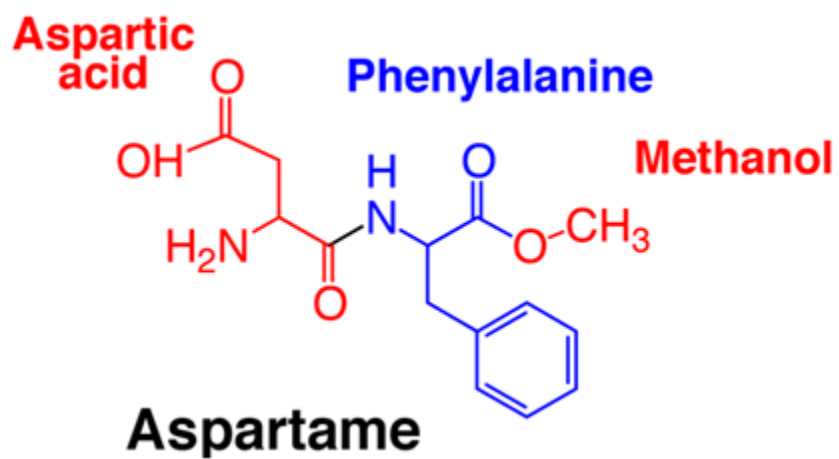


Fig. 3: Struttura chimica di aspartame.

2. Materiali e metodi

Per registrare gli spettri di assorbimento ad alta risoluzione dei campioni di dolcificante con tecnica LPAS abbiamo adottato un apparato ottico realizzato nel Laboratorio SPEMOL di UTAPRAD-DIM, Centro Ricerche ENEA di Frascati. Lo schema di principio dell'apparato LPAS è riportato nella Figura 4. L'apparato ottico LPAS è dotato di una sorgente laser a CO₂ (ACCESS LASER) con potenza di emissione massima pari a 2 Watt sintonizzabile su 60 righe di emissione nel range spettrale compreso tra 9,2 e 10,8 μm, un misuratore di potenza a due canali (Rk-5720 Laser Probe), una cella fotoacustica progettata da noi (volume interno circa 3 cc), ed un amplificatore lock-in (SR 830 Stanford Research Systems). L'emissione dal laser CO₂ viene modulata a onda quadra con duty cycle del 50% da un generatore di segnale digitale (SFG 830 INSTEK) alla frequenza di risonanza (40 Hz) della cella fotoacustica. Il segnale PA generato all'interno della cella PA viene rivelato da un microfono sensibile miniaturizzato (dimensioni in mm 5,6 x 4,1 x 2,2) e inviato all'amplificatore lock-in, che comunica con il PC tramite interfaccia GPIB. I dati sono acquisiti tramite un software specifico di controllo e acquisizione sviluppato in ambiente Labview. Una immagine della schermata del programma di controllo è mostrato in Figura 5. Maggiori informazioni sul sistema LPAS impiegato nel presente lavoro sono stati riportati in precedenti pubblicazioni (Giubileo et al. 2012, Puiu et al. 2014).

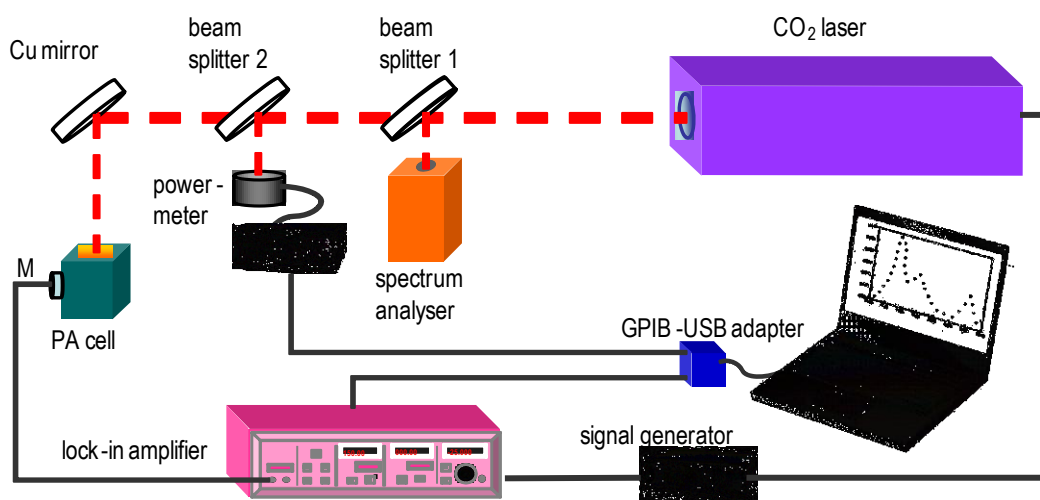


Fig. 4: Schema a blocchi del sistema LPAS.



Fig. 5: Schema del software di controllo durante l'analisi di un campione.

Le sostanze dolcificanti (fruttosio, maltosio, saccarosio, glucosio, aspartame) utilizzate nello studio sperimentale riportato in oggetto sono state acquistate come preparazione commerciale standard dai fornitori riportati nella Tabella 1. Nella Figura 6 è stata riportata la struttura chimica delle sostanze analizzate. Il campione di dolcificante da analizzare è stato posto all'interno della cella PA a temperatura ambiente, senza essere sottoposto ad alcun trattamento preliminare. Segnali PA misurabili sono stati ottenuti da pochi milligrammi di campione puro. Le misurazioni sono state ripetute 10 volte per ciascuna delle 60 diverse linee laser emesse dalla sorgente a lunghezze d'onda che rientrano nell'intervallo spettrale pari a 9,2-10,8 micron. Per ciascun tipo di sostanza, sono stati analizzati quattro campioni. La potenza del fascio laser interagente con il campione è stata regolata tra 50 mW e 500 mW al fine di mantenere la temperatura del campione inferiore al punto di fusione.

Tabella 1. Lista degli zuccheri analizzati in questo lavoro.

Sweetener	Chemical formula	m.p. (°C)	Supplier
Fructose	$C_6H_{12}O_6$	100	Merk
Glucose	$C_6H_{12}O_6$	146	Merk
Maltose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	360	Sigma
Sucrose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	186	Baker
Aspartame	$C_{14}H_{18}N_2O_5$	249	Fluka

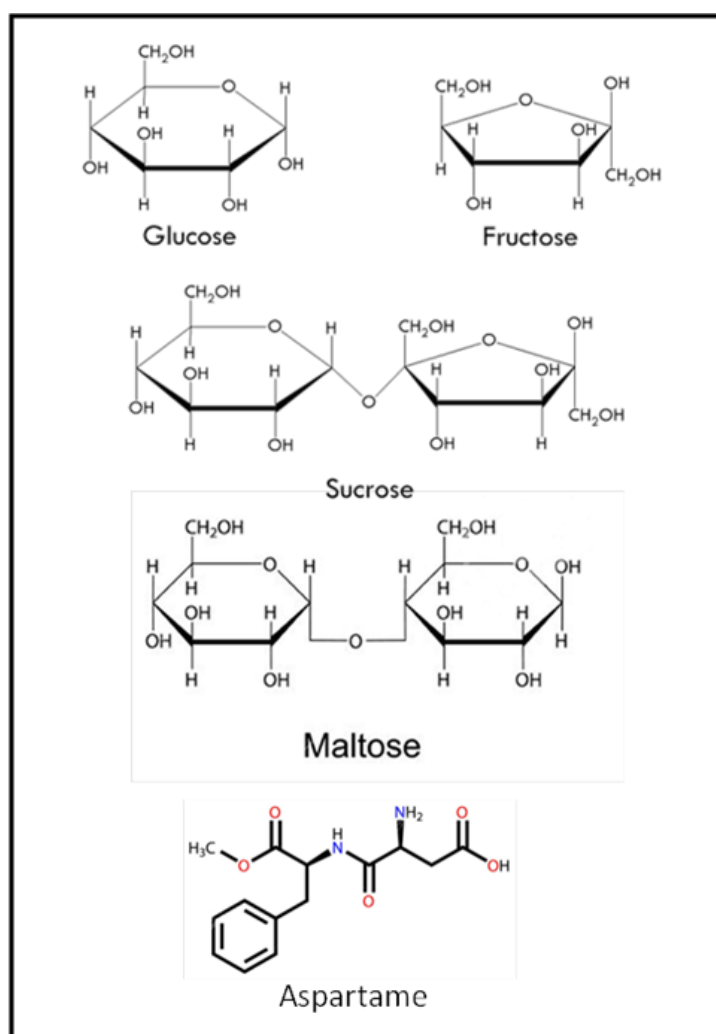


Fig. 6: Struttura chimica delle sostanze analizzate.

3. Risultati

Nelle condizioni di misura su specificate, segnali fotoacustici misurabili sono stati rivelati da tutti i campioni nell'intero intervallo spettrale accessibile 9,2-10,8 μm . Il segnale di background è risultato trascurabile rispetto al segnale del campione analizzato. I profili spettrali delle sostanze dolcificanti analizzate (fruttosio, maltosio, saccarosio, glucosio, aspartame), ottenuti tramite la tecnica LPAS, sono riportati nelle Figure da 7 a 11.

Ciascuno spettro riportato nelle figure seguenti rappresenta la media di quattro spettri differenti dello stesso tipo di sostanza. L'errore di misura sperimentale è stato valutato come deviazione standard di 10 acquisizioni su ogni riga di emissione laser. La deviazione standard è risultata inferiore al 3% del valore misurato, il che significa una buona riproducibilità dei dati e una elevata stabilità del sistema di misura.

I dati di assorbimento sono stati elaborati allo scopo di rendere i dati sperimentali non dipendenti dalle impostazioni di misura locali, né dalla quantità di campione adottato. Nella fattispecie, i dati di assorbimento sono stati normalizzati rispetto alla potenza del fascio laser. Una registrazione indipendente dello spettro in potenza della radiazione emessa dalla sorgente laser viene mostrato nella Figura 12.

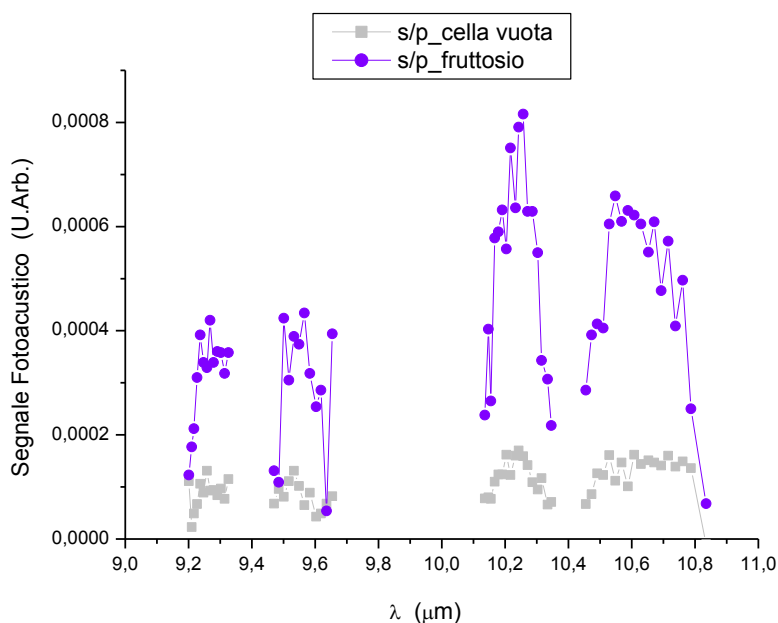


Fig. 7: Spettro LPAS del Fruttosio.

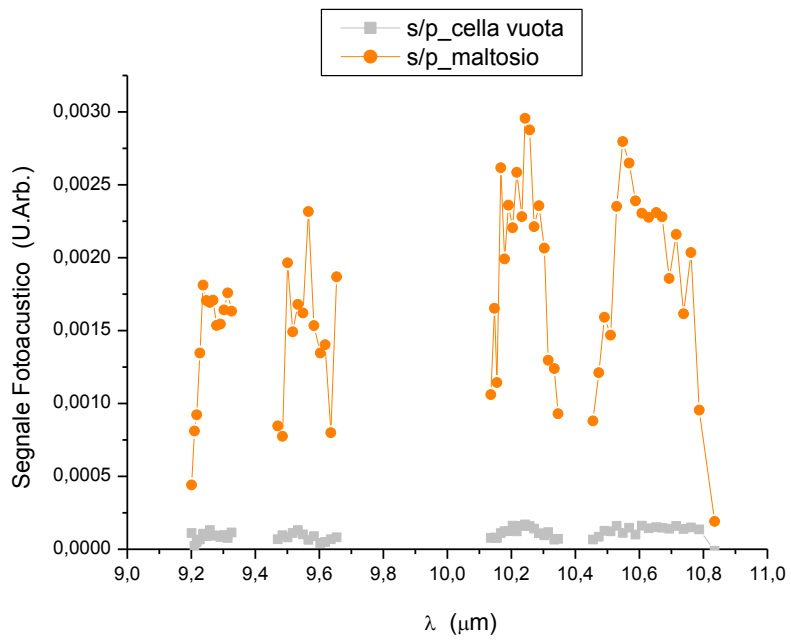


Fig. 8: *Spettro LPAS del Maltosio.*

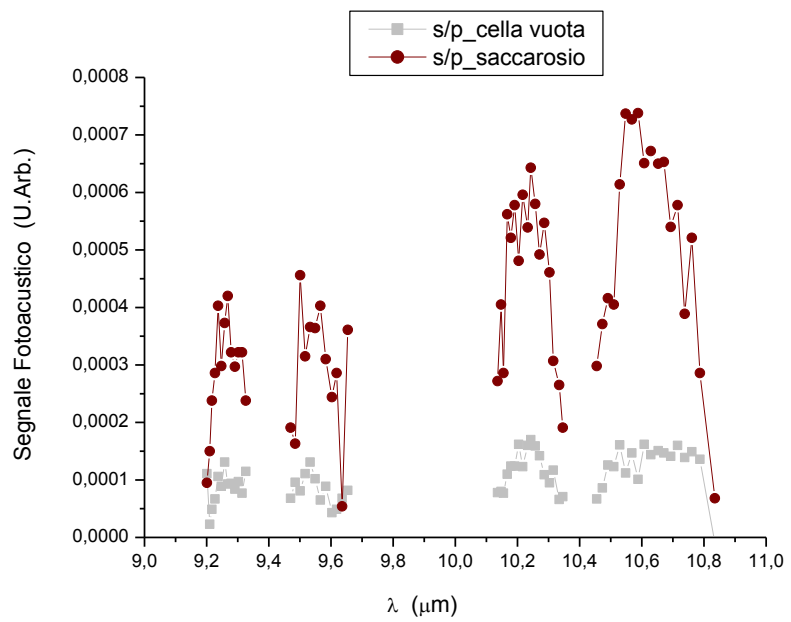


Fig. 9: *Spettro LPAS del Saccarosio.*

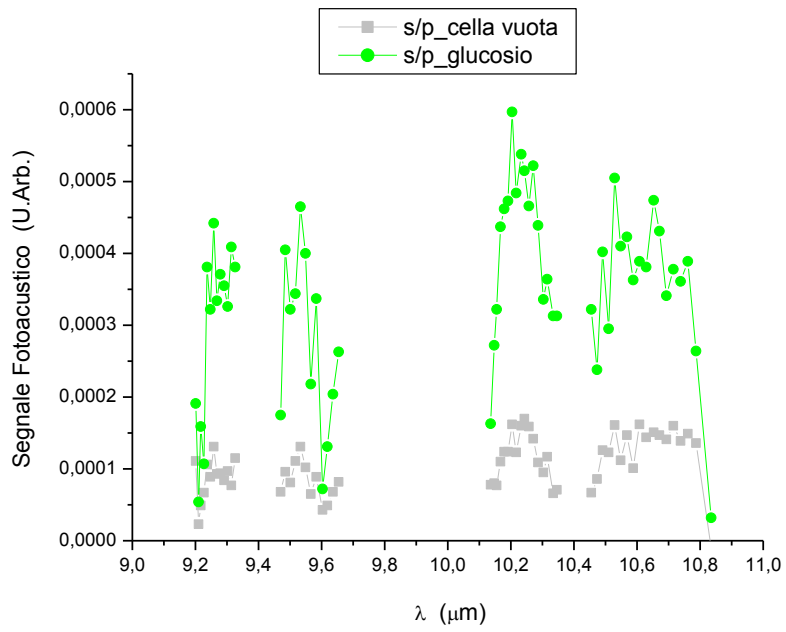


Fig. 10: Spettro LPAS del Glucosio.

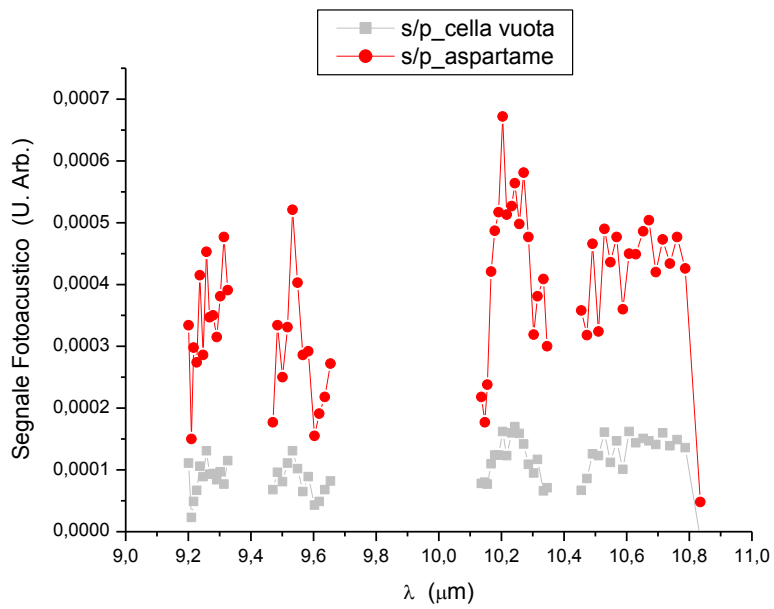


Fig. 11: Spettro LPAS dell'Aspartame.

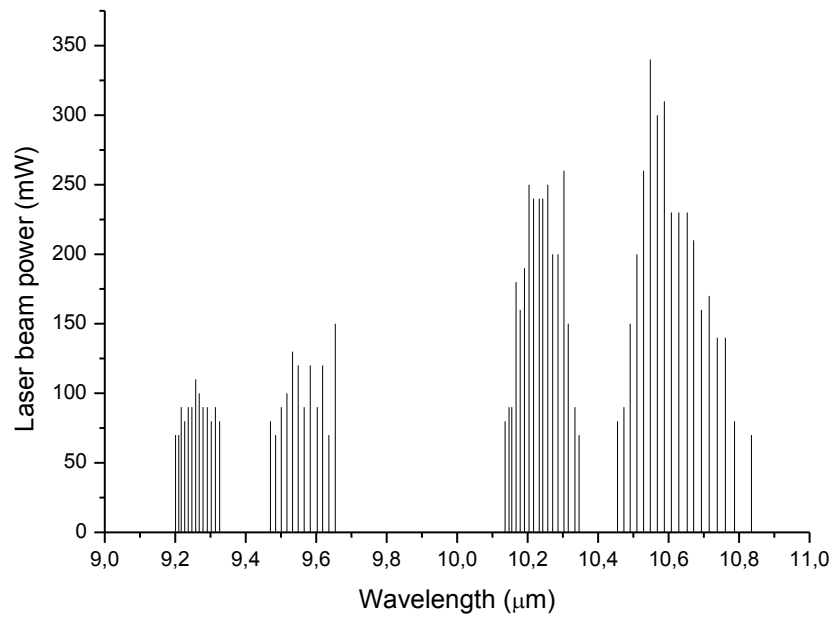


Fig. 12: Spettro della potenza di emissione del laser.

4. Discussione

Per quanto riguarda l'assegnazione delle bande, l'impegno attribuito al presente lavoro non include lo studio spettroscopico delle transizioni roto-vibrazionali elementari che si traducono nella assegnazione spettrale delle righe, pur tuttavia riportiamo alcuni dati tratti dalla letteratura scientifica specializzata inerente l'argomento trattato.

Una analisi delle strutture e degli spettri vibrazionali di glucosio e fruttosio è stata riportata in un lavoro del 2006 (Ibrahim 2006). Nell'articolo sono riportati gli spettri continui di assorbimento IR ottenuti tramite tecnica FTIR per il glucosio e fruttosio. Da tali spettri, riportati nella Figura 13 (tratta dall'articolo), si può osservare la ricchezza di transizioni dei modi vibrazionali presenti tra 1500 e 600 cm^{-1} (6,6 - 10,6 μm), regione in cui i carboidrati mostrano generalmente le loro bande caratteristiche (regione di fingerprint).

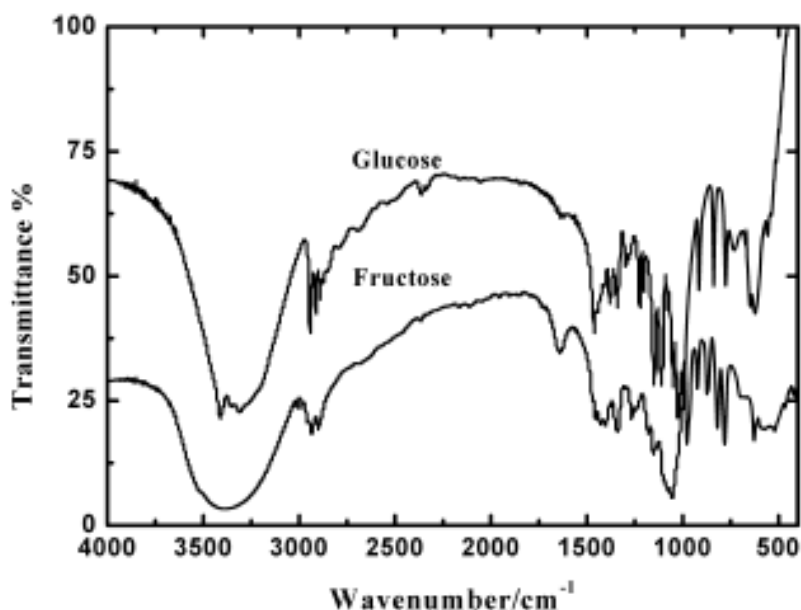


Fig. 13: Spettri FTIR di glucosio e fruttosio (tratto da Ibrahim, 2006).

Ibrahim et al. hanno riportato i risultati di calcoli di strutture con modelli molecolari basati su metodi semiempirici e calcoli spettrali con metodo Density Functional Theory BLYP/DZVP. In generale i risultati indicano che ci sono somiglianze nelle lunghezze di legame e negli spettri vibrazionali di entrambe le molecole. Le frequenze di transizione calcolate sono state messe a confronto con quelle sperimentali. Detto confronto è riportato nella Tabella 2 tratta dall'articolo in

questione. Nella Tabella 2, oltre al buon accordo tra dati teorici e sperimentali, osserviamo che gli assorbimenti di radiazione IR che generano gli spettri LPAS delle due molecole nella banda 9-10 μm ($1100\text{-}900\text{ cm}^{-1}$) sono sostanzialmente ascrivibili a transizioni tra modi vibrazionali dei legami C-O e C-C. I due riquadri nella Tabella 2 evidenziano le frequenze delle transizioni nell'intervallo di interesse 9-11 μm ($1111\text{ - }909\text{ cm}^{-1}$).

Tabella 2. Frequenze delle transizioni IR sperimentali e calcolate messe a confronto per Glucosio e Fruttosio (tratto da Ibrahim, 2006). Nei due riquadri cadono le frequenze delle transizioni nell'intervallo di interesse 9-11 μm ($1111\text{ - }909\text{ cm}^{-1}$).

D-Glucose				D-Fructose			
IR	α -D	β -D-M	Assignment	IR	α -D	β -D-M	Assignment
3410	3418	3146	ν OH	3393	3428	3513	ν OH
3393	3408	3123	ν OH	2933	2975	2957	ν_s CH of C2
2944	2963	3099	ν_s CH of C2	2899	2923	2925	ν_{as} CH of C1
2913	2939	3085	ν_{as} CH of C1				
1460	1441	1465	$\delta\text{CH}_2 + \delta\text{OCH} + \delta\text{CCH}$	1637	1634	1665	δOH
1382	1352	1390	$\delta\text{OCH} + \delta\text{COH} + \delta\text{CCH}$	1402	1392	1417	$\delta\text{OCH} + \delta\text{COH} + \delta\text{CCH}$
1340	1333	1320	$\delta\text{CCH} + \delta\text{OCH}$	1340	1320	1338	$\Delta\text{CCH} + \delta\text{OCH}$
1224	1218	1278	$\delta\text{CH} + \delta\text{OH}$ in plane	1265	1276	1292	δOH in plane, δCCO
1203	1220	1232	$\delta\text{CH} + \delta\text{OH}$ in plane				
1149	1137	1205	$\nu\text{CO} + \nu\text{CC}$	1149	1148	1166	$\nu\text{CO} + \nu\text{CC} + \delta\text{CCC}$
1111	1116	1162	νCO	1057	1082	1059	νCO
1050	1058	1088	$\nu\text{CO} + \nu\text{CC}$	977	990	990	$\nu\text{CO} + \delta\text{CCO}$
1025	1026	1066	νCO	923	943	951	$\nu\text{CO} + \nu\text{CCH} + \nu_{as}$ ring of pyranose
995	944	1032	$\nu\text{CO} + \nu\text{CC}$	873	856	908	$\delta\text{CH} + \nu\text{CC} + \delta\text{CCH}$
915	900	993	$\nu\text{CO} + \nu\text{CCH} + \nu_{as}$ ring of pyranose	818	816	884	δCH
837	834	909	δCH	780	784	828	$\delta\text{CCO} + \delta\text{CCH}$
776	762	815	$\delta\text{CCO} + \delta\text{CCH}$	627	644	658	$\text{CH}_2 + \text{CH}$
622	619	694	CH_2				

In un lavoro più recente (Wang 2010) l'analisi multivariata è stata applicata alla spettroscopia FTIR per determinare le quantità relative di glucosio, fruttosio, saccarosio e maltosio in campioni di miele. Nella Figura 14 (tratta dall'articolo) vengono riportati gli spettri FTIR di

singoli campioni standard individuali dei quattro zuccheri trattati, ottenuti tramite spettrometro Nicolet 6700 (Thermo Electron Corp.) munito di un rivelatore DTGS. Gli autori fanno notare che nella regione spettrale compresa tra 1500 e 800 cm^{-1} cadono le bande di assorbimento caratteristico rilevanti per gli zuccheri principali e pertanto tale regione è stata selezionata per il modello di calibrazione nella loro indagine. L'insieme degli spettri acquisiti con FTIR è stato analizzato tramite Partial Least Square Regression (PLS) e Principal Component Regression (PCR). I risultati del trattamento sono riportati nella Figura 15 (tratta dall'articolo) che mostra una rappresentazione bidimensionale tramite variabili canoniche (CV) basata su compressione dei dati FTIR con tecnica PLS. I quattro zuccheri appaiono ben separati e senza aree di sovrapposizione.

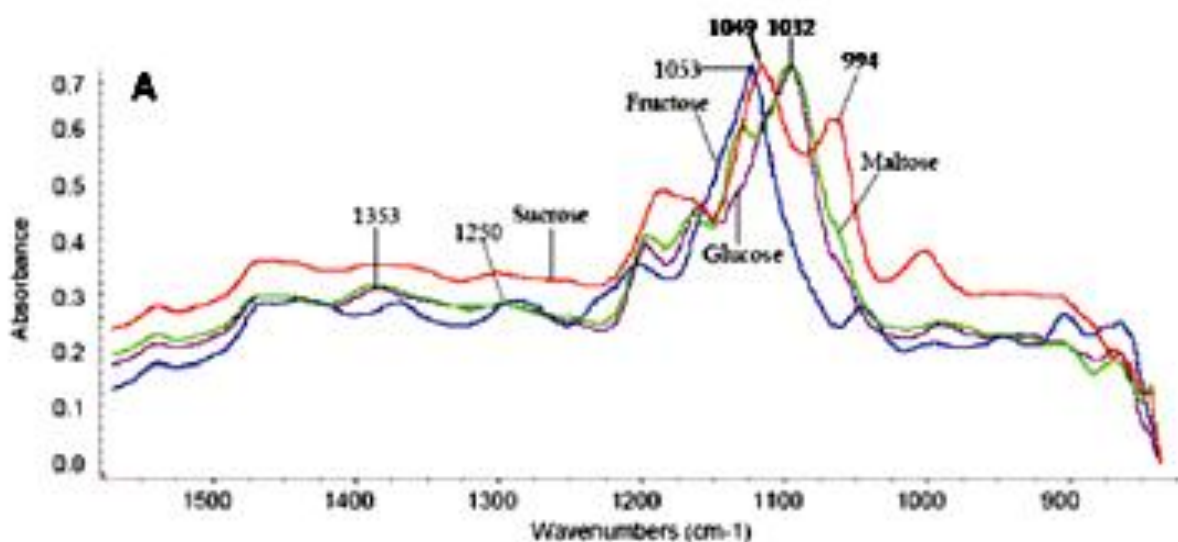


Fig. 14: Spettri FTIR di glucosio, fruttosio, saccarosio e maltosio (tratto da Wang 2010).

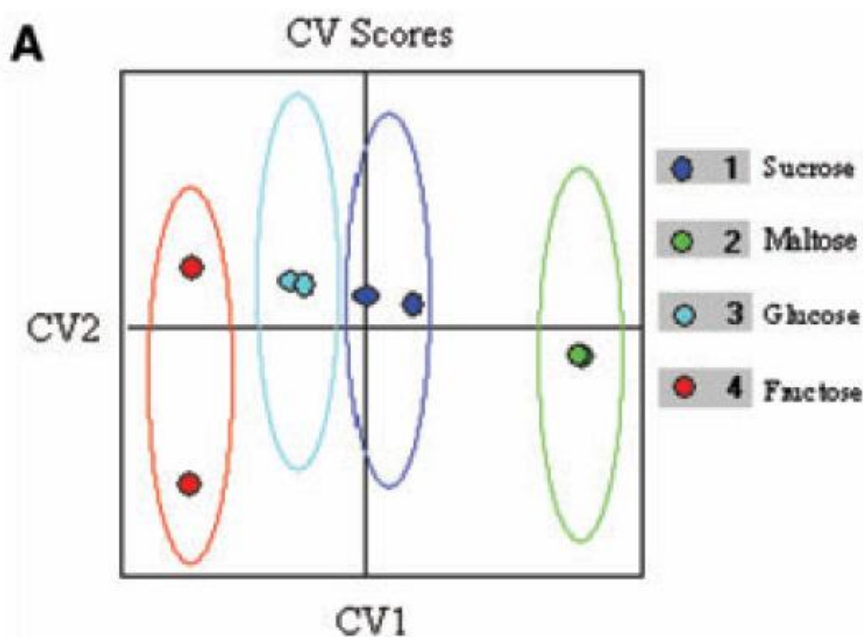


Fig. 15: Rappresentazione 2D del trattamento PLS (tratto da Wang 2010).

Sottolineiamo che dalla ricerca bibliografica non sono comunque emersi lavori riportanti studi spettroscopici ad alta risoluzione degli zuccheri, in particolare non sono emersi studi riguardanti l'applicazione della tecnica LPAS agli zuccheri.

Al di là delle interpretazioni teoriche dei dati spettroscopici, dai grafici riportati nelle Figure da 7 a 11 risulta che ogni sostanza mostra un pattern spettrale caratteristico, apprezzabile anche da una valutazione visiva soggettiva che consideri l'andamento globale dei grafici. Ciò nondimeno un confronto diretto tra i singoli spettri è difficile da quantificare. Per questo motivo, un trattamento statistico basato sulla tecnica nota come Principal Component Analysis (PCA) è stato applicato al complesso dei dati spettrali, al fine di dimostrare in modo incontrovertibile la capacità del sistema di distinguere tra diversi dolcificanti standard presi singolarmente.

La PCA, potente strumento statistico descritto per la prima volta nel 1901 (Pearson 1901), è un algoritmo di calcolo che permette di ridurre le dimensioni di un insieme di dati e rendere evidenti le differenze statistiche eventualmente presenti tra i campioni analizzati. L'algoritmo trova un certo numero di variabili ipotetiche (chiamate Componenti Principali, PC) che rappresentano il più possibile la variabilità nei dati multivariati (Davis 1986, Harper 1999); le nuove variabili sono il risultato di una combinazione lineare delle variabili originali, dove ogni descrittore ha un proprio "peso". Generalmente, secondo un ordine di peso decrescente, le prime nuove variabili sono in grado di rappresentare la maggior parte della variazione nelle variabili originali.

L'algorithmo PCA applicato ai dati spettrali risultati dalle analisi LPAS ha prodotto la distribuzione dei campioni mostrata come grafico 2D (Figura 16). In tale grafico, su ciascun asse è riportato rispettivamente il valore di una delle due componenti principali rappresentate: PC1 e PC2 che spiegano rispettivamente il 56.98% e il 18.63% della variabilità globale dei dati analizzati. Tenendo conto del contributo rispettivo di ciascuna componente principale alla classificazione delle sostanze (riportato nella Figura 17), risulta che le prime tre PC possono spiegare 88.25% delle differenze spettrali complessive. Inoltre, visto che la somma delle prime due PC supera il 60% della variabilità complessiva, abbiamo trascurato la PC3 (12.64%) e limitato la rappresentazione PCA alla classificazione 2D riportata nella Figura 16 che mette in evidenza i cinque diversi gruppi corrispondenti ai cinque tipi di edulcoranti analizzati. Prima di applicare l'algorithmo di calcolo, i dati di assorbimento infrarossi sono stati normalizzati al loro valore massimo di picco, allo scopo di renderli direttamente confrontabili reciprocamente.

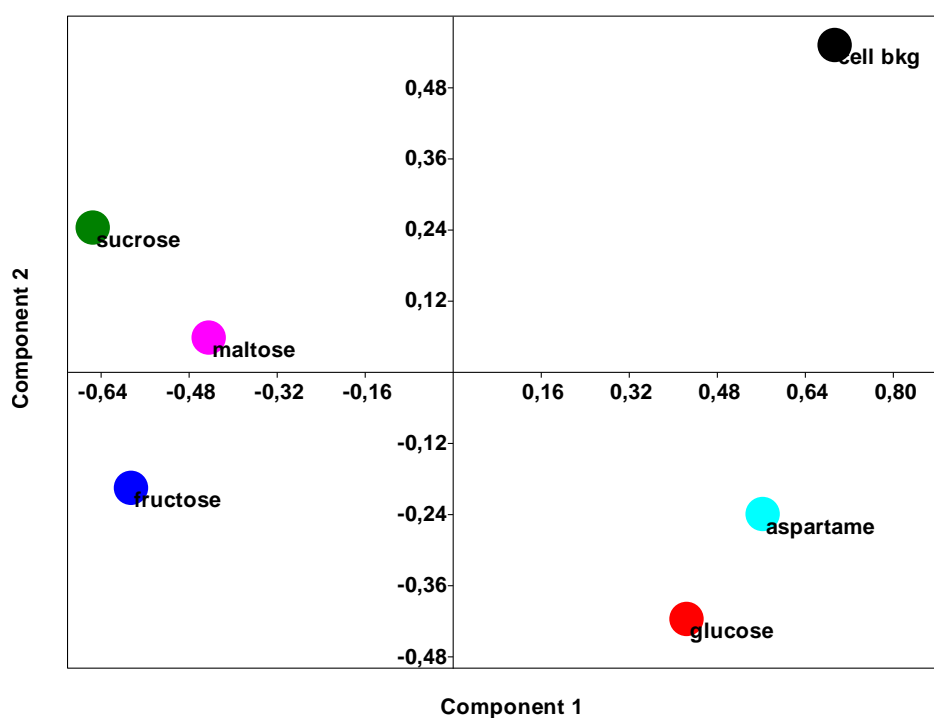


Fig. 16: Rappresentazione 2D dei risultati della PCA.

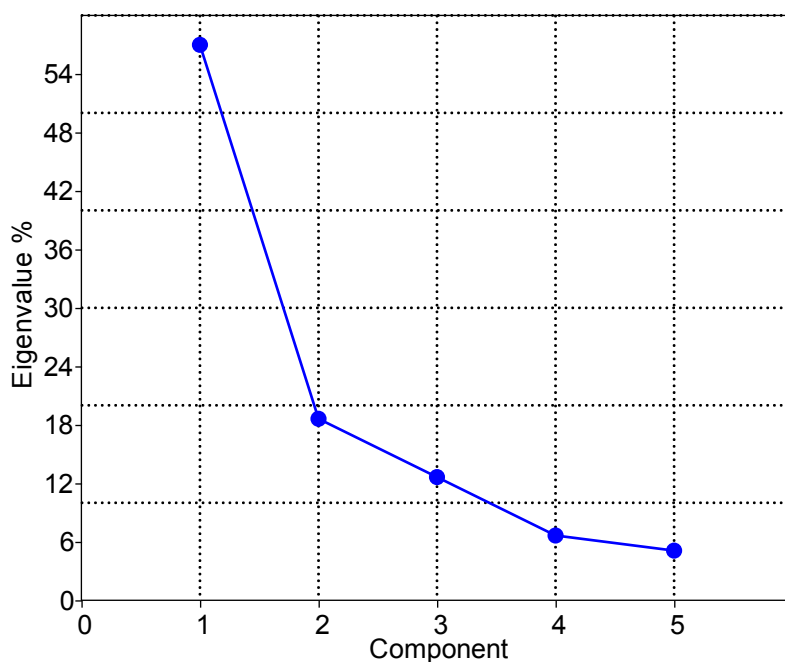


Fig. 17: Peso relativo delle singole PC.

L'uso della PCA appare estremamente adatto per l'analisi spettroscopica oggetto del presente lavoro. Esso consente di chiarire il grado di somiglianze e/o differenze tra spettri, esclude eventuali sovrapposizioni di dati, e mette in evidenza le linee di emissione più coinvolte in ciascuna PC (loadings). Per i calcoli PCA, abbiamo preso in considerazione anche il segnale fotoacustico della cella vuota. Come si vede, ne risulta una classificazione non ambigua delle sostanze analizzate.

5. Conclusioni

Nel presente lavoro sono stati riportati i profili spettrali di assorbimento IR delle sostanze dolcificanti fruttosio, maltosio, saccarosio, glucosio e aspartame, ottenuti tramite la tecnica LPAS nel range spettrale 9.2-10.0 μm . A nostra conoscenza, i dati spettrali ottenuti con tecnica LPAS per il fruttosio, glucosio, maltosio e saccarosio non sono stati precedentemente riportati dalla letteratura scientifica.

Inoltre abbiamo mostrato come l'applicazione congiunta di LPAS e PCA possa essere utilizzata per classificare in modo univoco le sostanze dolcificanti analizzate singolarmente. Questo risultato rende la tecnica promettente in una sua applicazione alla caratterizzazione ottica di alimenti e bevande e alla identificazione di frodi in prodotti alimentari commerciali.

Il lavoro riportato è da intendersi come primo passo di un percorso teso a mettere a punto una nuova metodologia da applicare in situ per il rilevamento in tempo reale di adulteranti e frodi in alimenti e bevande.

Infine, la capacità del sistema di distinguere tra diversi dolcificanti standard presi singolarmente sarà il punto di partenza di un prossimo lavoro orientato alla analisi di miscele di dolcificanti e rispettivo contenuto percentuale in bevande commerciali.

Ringraziamenti

Questo lavoro ha ricevuto un supporto finanziario dal Ministero Italiano dello Sviluppo Economico nel quadro del Progetto Nazionale MI01_00182 - SAL@CQO.

Bibliografia

- Davis, J.C., 1986, *Statistics and Data Analysis in Geology*, John Wiley and Sons, USA.
- Giubileo, G., Colao, F., and Puiu, A., 2012, *Identification of standard explosive traces by infrared laser spectroscopy: PCA on LPAS data*, *Laser Physics* 22, 1033-1037.
- Harper, D.A.T., 1999, *Numerical Palaeobiology*, John Wiley and Sons, USA.
- Ibrahim, M., Alaam, M., El-Haes, H., Jalbout, A.F., de Leon, A., 2006, *Analysis of the structure and vibrational spectra of glucose and fructose*, *Ecletica Quimica* 31(3), 15-21.
- Kelly, J.F.D., Downey, G., 2005, *Detection of sugar adulterants in apple juice using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometrics*, *J. Agric. Food Chem.* 53, 3281-3288.
- Leopold, L., Diehl, H., Socaciu, C., 2009, *Quantification of Glucose, Fructose and Sucrose in Apple Juices using ATR-MIR Spectroscopy coupled with Chemometrics*, *Bulletin UASVM Agriculture* 66, 350-357.
- Michaelian, K.H., 2003, *Photoacoustic Infrared Spectroscopy*, John Wiley and Sons, USA.
- Puiu, A., Giubileo, G., Lai, A., 2014, *Investigation of Plant-Pathogen Interaction by Laser-based Photoacoustic Spectroscopy*, *International Journal of Thermophysics* 35, 2237-2245.
- Pan, G.G., Kilmartin, P.A., Smith, B.G., Melton, L.D., 2002, *Detection of orange juice adulteration by tangelo juice using multivariate analysis of polymethoxylated flavones and carotenoids*, *J. Sci. Food Agric.* 82, 421-427.
- Pearson, K., 1901, *On lines and planes of closest fit to systems of points in space*, *Philos. Mag.* 2, 559-572.
- Wang, J., Kliks, M.M., Jun, S., Jackson, M., Li, Q.X., 2010, *Rapid analysis of glucose, fructose, sucrose, and maltose in honey from different geographic regions using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and multivariate analysis*, *Journal of Food Science* 75(2), C208-C214.

Edito dall' **ENEA**
Servizio Comunicazione

Lungotevere Thaon di Revel, 76 - 00196 Roma

www.enea.it

Stampa: Tecnografico ENEA - CR Frascati
Pervenuto il 18.2.2015

Finito di stampare nel mese di marzo 2015