

## Authenticité: la lutte contre la fraude alimentaire



## Programme :

1. Présentation PHYTOCONTROL
2. Les enjeux sur la fraude Alimentaire
3. NGS: technologie basée sur la reconnaissance ADN
4. Authenticité: Les techniques en chimie





# 1. PRESENTATION PHYTOCONTROL



## 3 départements d'activités analytiques



*nos analyses  
agroalimentaires*



*nos analyses  
d'eau*



*nos analyses  
BPL*



## Le Groupe Phytocontrol



*Laboratoires d'analyses*



*dont Laboratoire régional de proximité*



*Agences régionales*



*Filiale espagnole*



*Filiale belge*



*Filiale marocaine*



*Centre de formation*

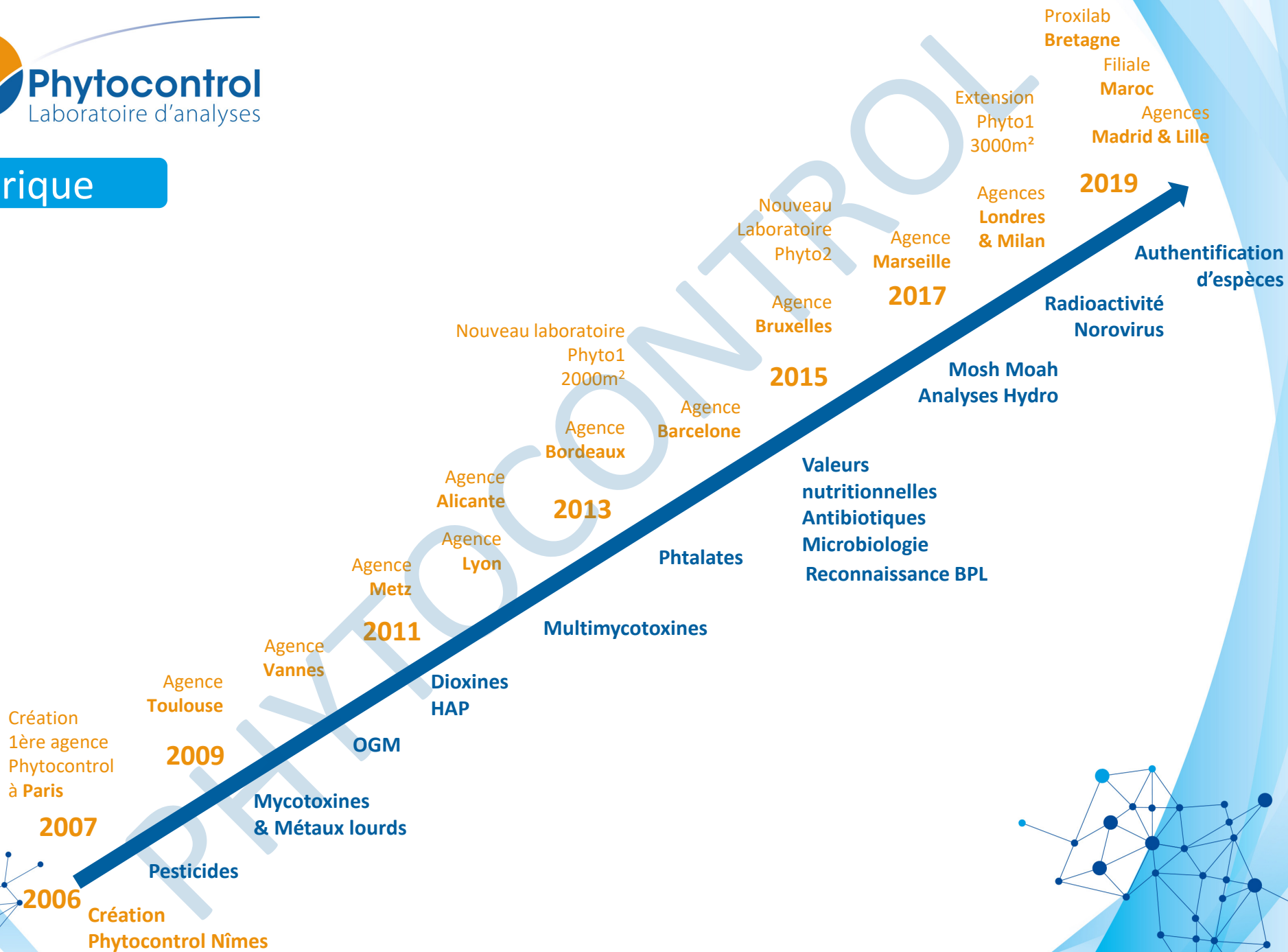


*Filiale immobilière*



*Fonds d'investissements stratégiques*

# Historique



## Nos analyses de contaminants

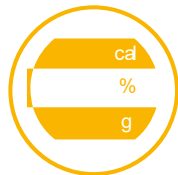


- **Pesticides**
- **Métaux lourds**
- **Mycotoxines**
- **OGM**
- **Allergènes**
- **Alcaloïdes**
- **Dioxines**
- **Résidus médicamenteux**
- **Colorants alimentaires**
- **Contaminants issus d'emballages et néoformés**
- **Authentification d'espèces**
- **Microbiologie et Norovirus**

## Nos analyses complémentaires



- **Physico-chimie alimentaire**



- **Valeurs nutritionnelles**

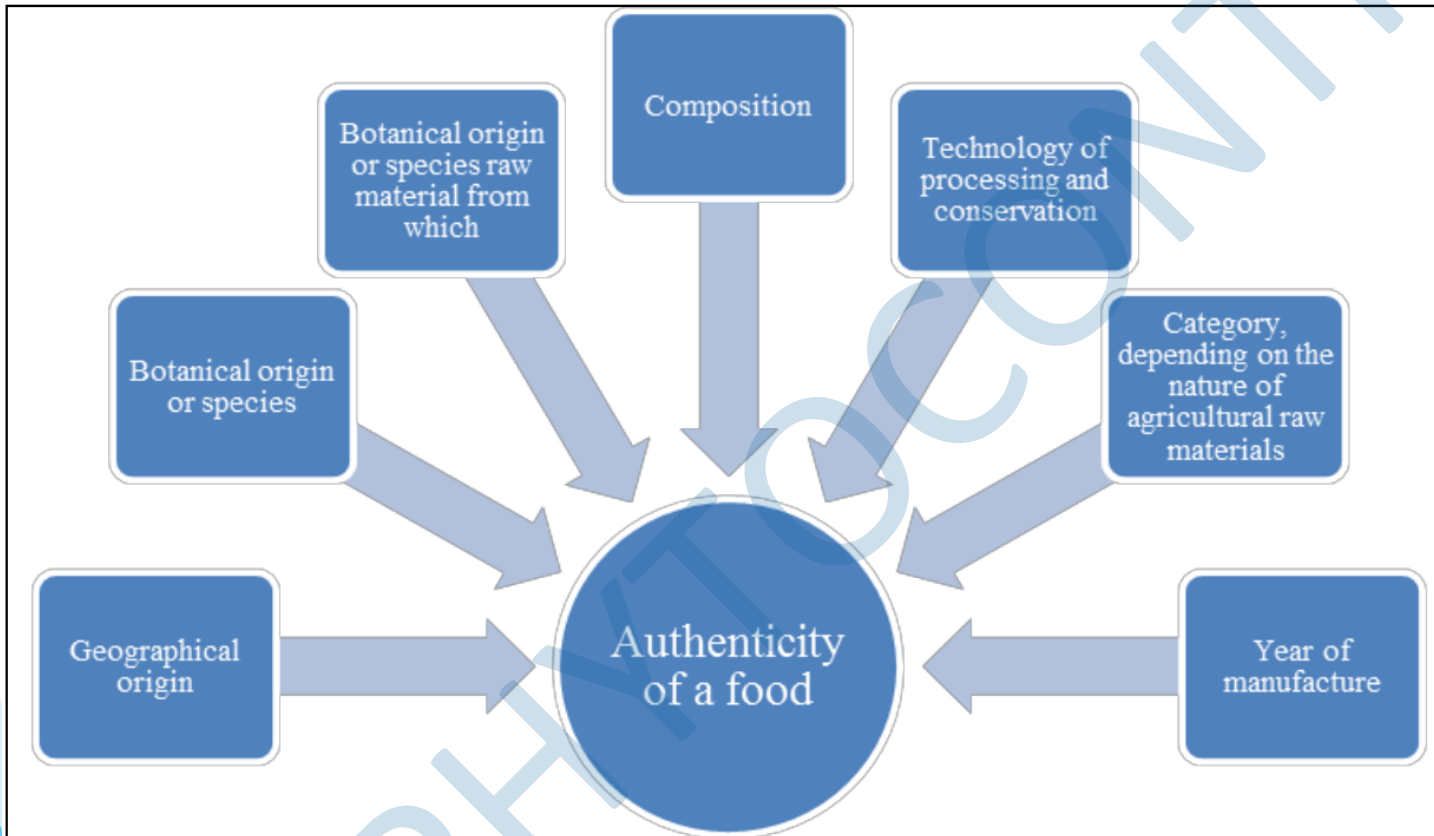


## 2. LES ENJEUX SUR LA FRAUDE ALIMENTAIRE





## Comment définir l'authenticité des aliments ?



## Authenticité: Les crises récentes en fraudes alimentaires

2013: Crise du cheval dans les lasagnes



2008: Crise de la mélamine dans le Lait



2011: Crise du porc transformé en Bœuf après traitement au borax

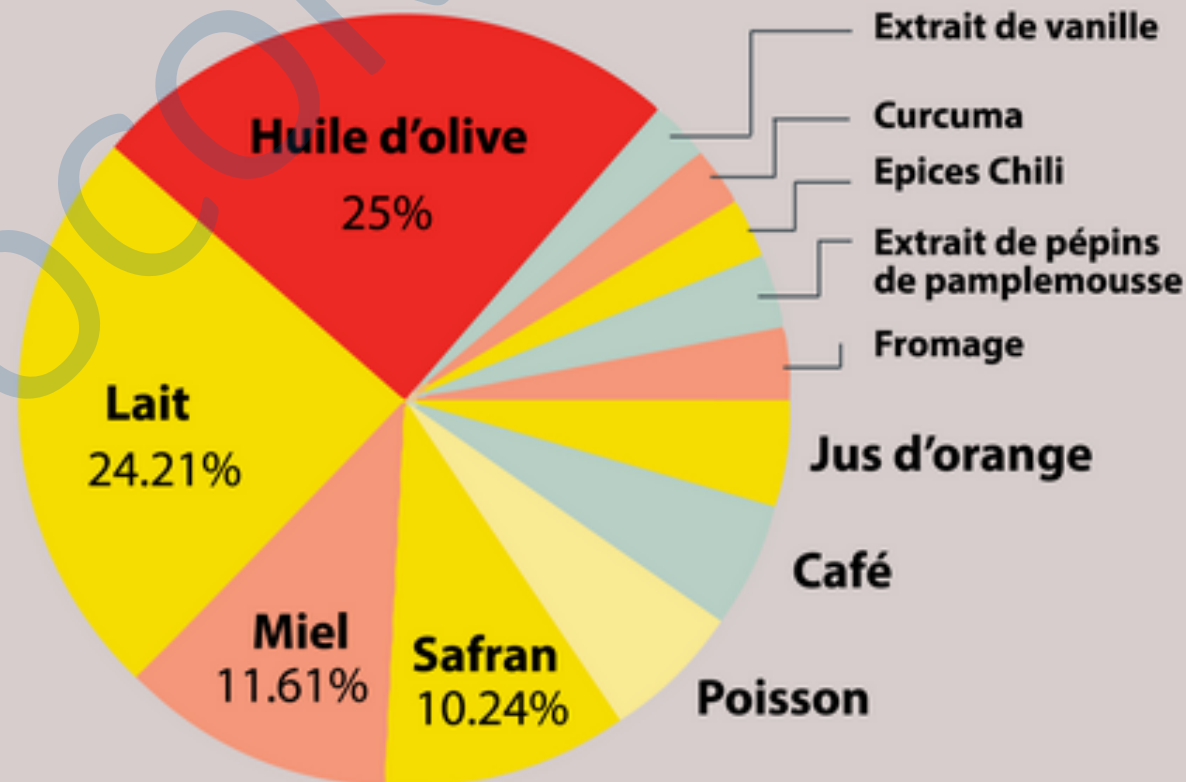


## Authenticité: état des lieux

Environ 10% de la nourriture vendue dans le commerce serait contrefaite ou frelatée. Parmi les produits les plus touchés, on compte le **lait**, **l'huile d'olive** ou encore **le poisson**.

La majorité des fraudes (environ 60% des cas) est due à une **dissolution** ou à une **substitution** des produits alimentaires par d'autres.

Les produits les plus touchés par la fraude alimentaire (entre 1980 et 2013)



Source: The Atlantic

## 2013: Création du réseau européen contre la fraude alimentaire

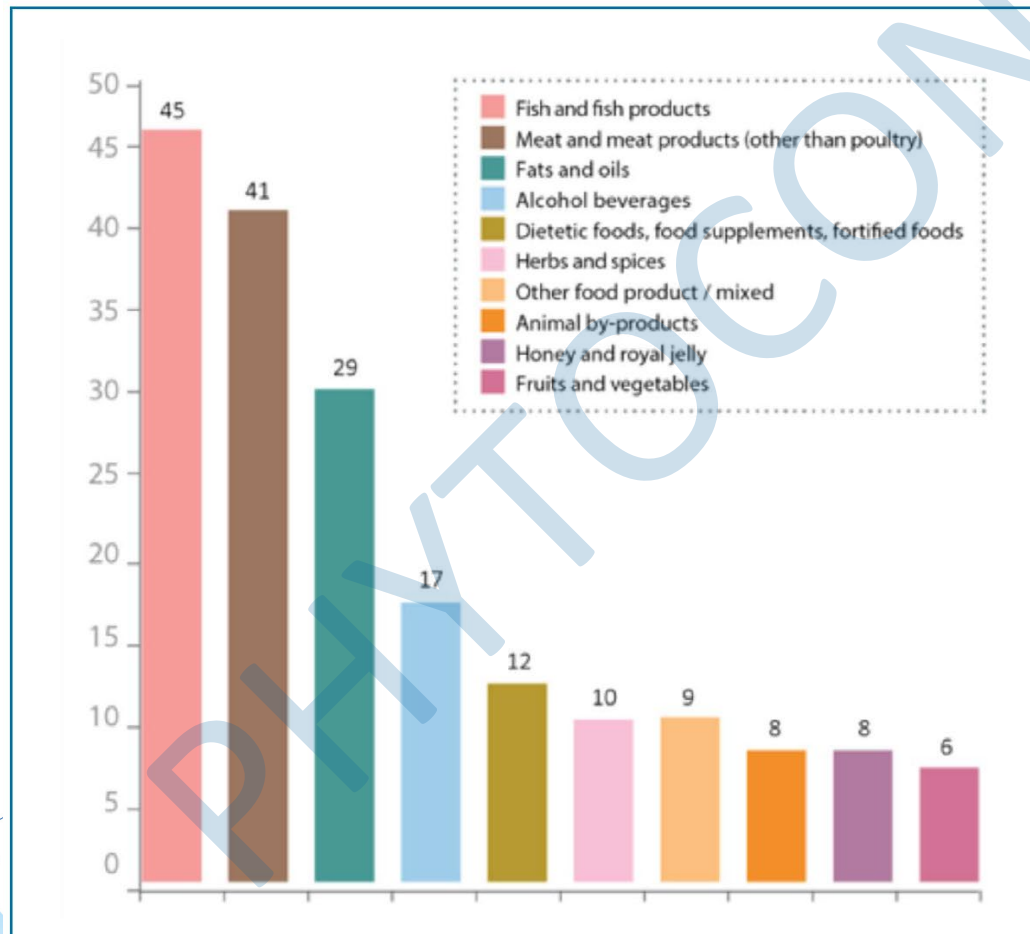
EU Food Fraud Network - 4 critères pour distinguer les suspicions de fraudes et les non conformités. :

- 1. Violation des lois UE:** codifiées par la EU agri-food chain legislation.
- 2. Intention :** peut être vérifiée quand plusieurs facteurs amènent à penser que la NC n'est pas due au hasard, comme le remplacement d'un produits de qualité par un autre de qualité inférieure.
- 3. Gain économique:** réside dans le fait qu'une fraude permet de tirer des bénéfices économiques.
- 4. Déception du consommateur:** dernier critère qui permet de faire la boucle, comme par exemple une alteration de couleur ou un faux étiquetage qui masque la réalité et peut dans certains présenter un risque de santé publique (cas d'allergens non déclarés).



## 2018: Top 10 des fraudes alimentaires

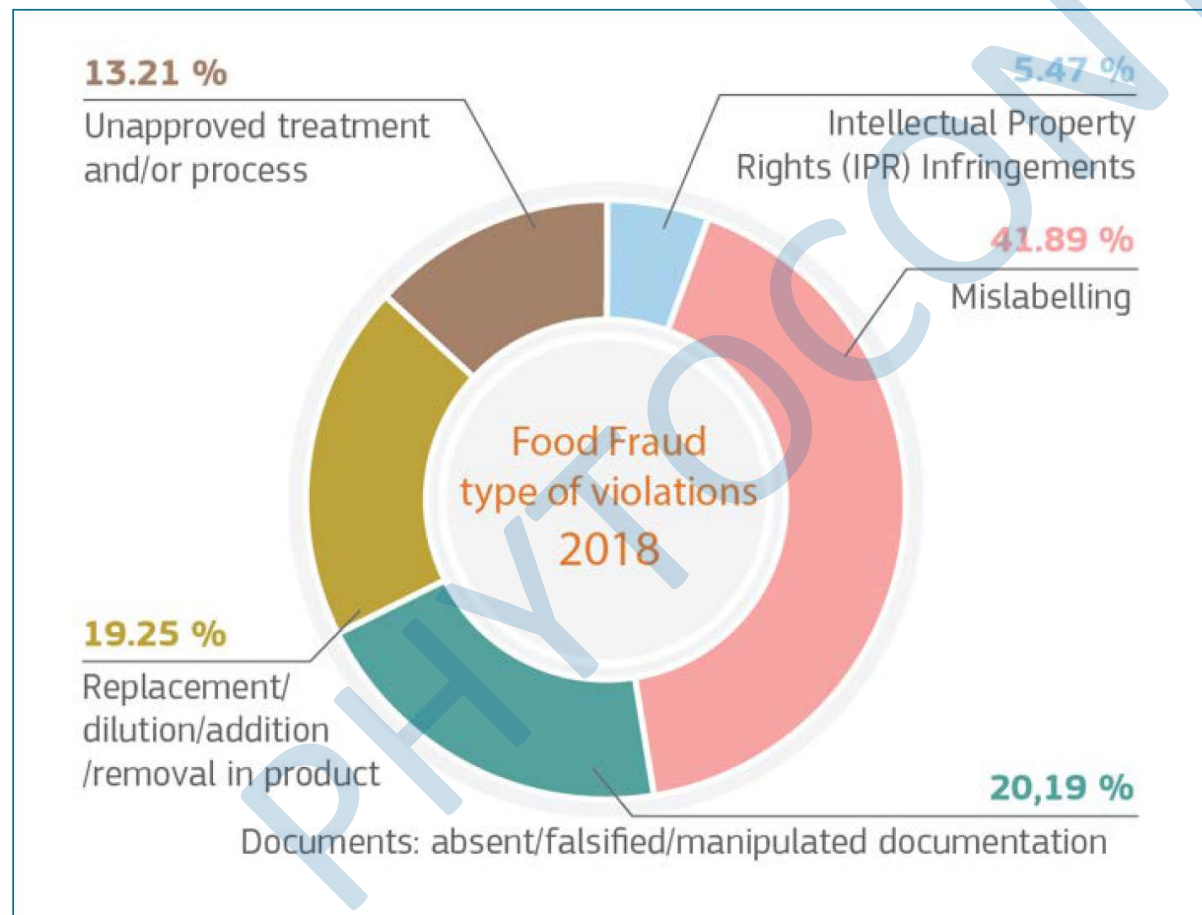
**Figure 4 - Shows the top 10 product categories (number of requests) in the AAC-FF in 2018**



**Figure 4 – Top 10 categories in the AAC-FF in 2018**

## 2018: les différents types de fraudes alimentaires

**Figure 5** - Shows the type of suspected violations reported in the AAC-FF in 2018



**Figure 5** – Type of suspected violations in the AAC-FF in 2018

# FOOD FRAUD: OLIVE OIL CASE

## The ES/UK Olive oil fraud case

Blends of **30 % of refined olive oil** and  
**70 % of extra virgin olive oil**

Sold as extra virgin instead of olive oil

> Labelling issue (wrong category)

> Quality of the oil in the bottle is lower than the quality of an extra virgin olive oil

## Exemple des huiles d'olive

### What is the difference ?

#### **OLIVE OIL**

Olive oil is made by a blend of  
**extra virgin/virgin olive oils**  
and **refined olive oil**  
This blend is intended to direct  
sale to consumers

#### EXTRA VIRGIN OLIVE OIL

- Oil obtained from the olives solely by mechanical or other physical means.
- Highest level of quality, both from a physico-chemical and from an organoleptic point of view: fruity with no defects.
- Subject to stringent parameters.



#### REFINED OLIVE OIL

- Obtained from the refining of lampante olive oil (to remove defects).
- Depending on the chemical-physical conditions, minor or relevant changes in oil composition can occur.
- Not intended to direct sale to consumers.



## Exemple des huiles d'olive

### Violation of EU Law

#### Breach of marketing standards for olive oil

1. **Mislabelling** [Reg (EC) 29/2012, Reg (EEC) 2568/91]
2. **Oil quality requirements not corresponding to extra virgin olive oil**  
[Reg (EC) 29/2012, Reg (EU) 1308/2013]
3. **Provision on food information to consumers**  
[Reg (EU) 1169/2011]
4. **General food law** [Reg (EC) 178/2002]



### Intention

24.000 liters of « olive oil » were **intentionally** mislabeled as « extra virgin olive oil »



### Economic gain

Difference between the price of extra virgin olive oil (EVOO) and the price of olive oil (OO) multiplied by **30%** (percentage of adulteration)



$$\begin{aligned} & \downarrow \\ & \text{€ EVOO} - \text{€ OO} \\ & \text{[market price]} \\ & \times 30\% \end{aligned}$$

### Deception of customer

« Olive oil » sold as « extra virgin olive oil » misleading consumers



## Cas les plus fréquents

### L'huile d'olive

4 bouteilles d'huile d'olive extra-vierge sur 5 sont coupées avec de l'huile de provenance étrangère



### Le miel

300 000 tonnes de faux miel sont écoulées chaque année en France (à base de sirop de sucre).

### Le lait

« mouillage de lait » par incorporation d'eau dans le lait

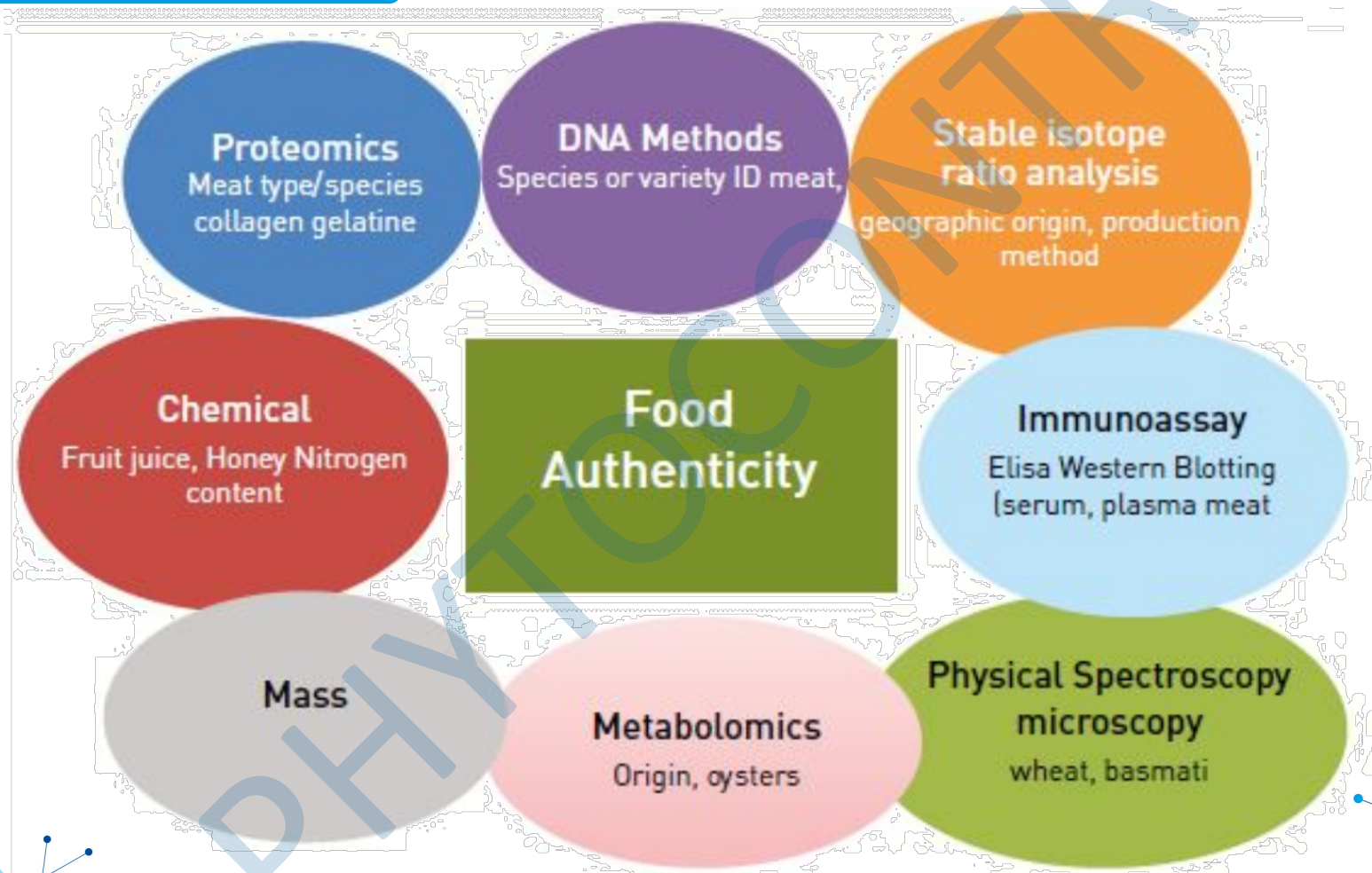
### Le safran

Une des épices les plus falsifiées, par incorporation de filaments composés de pétales séchés de carthame.

### Le poisson

Problèmes d'étiquetage des produits de mer et d'eau douce, provenances faussées et allégations mensongères comme les noms d'espèces qui ne sont pas les bons ou la méthode d'élevage.

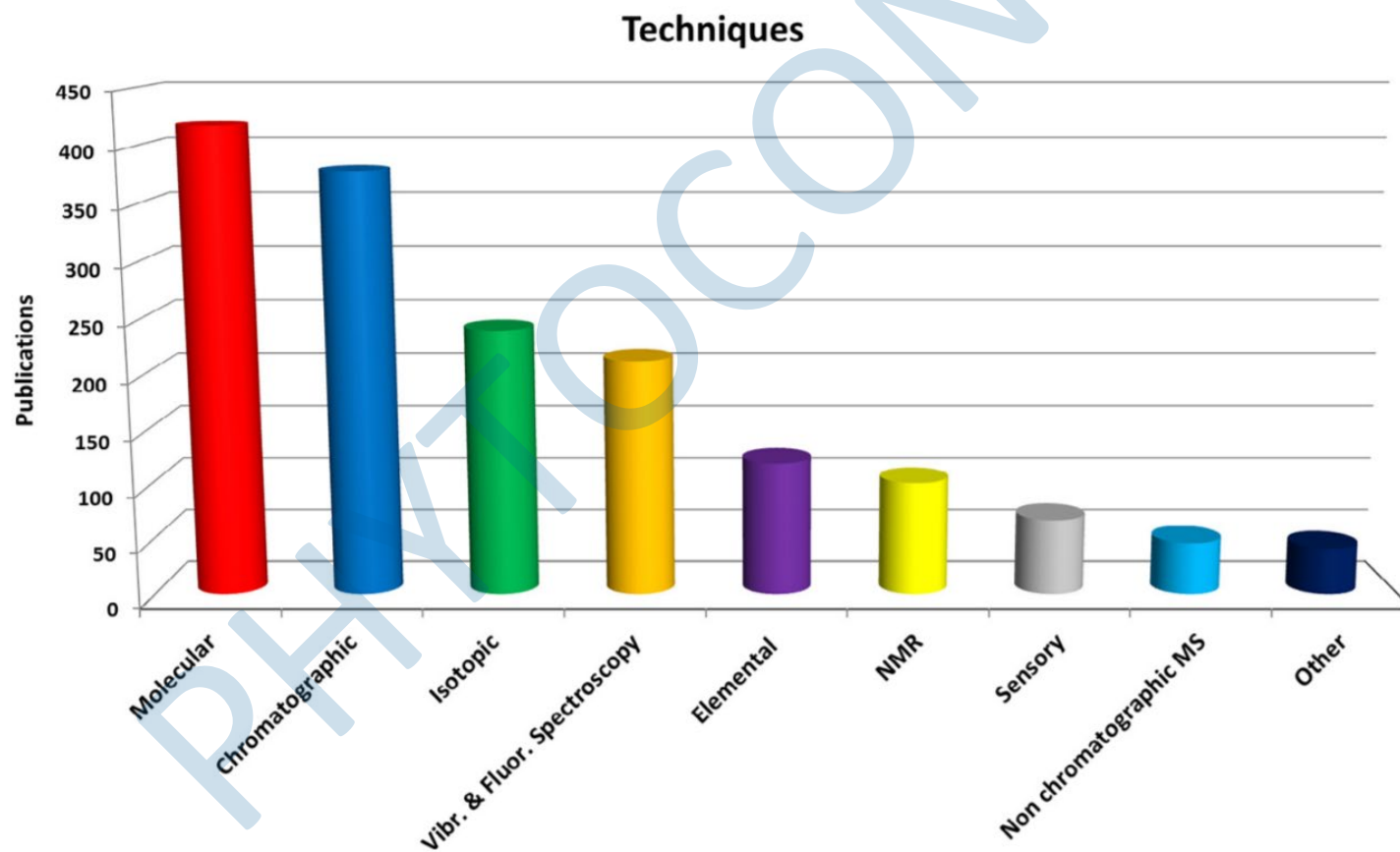
## Quelles techniques?



## Quelles techniques?

ARTICLE IN PRESS

G.P. Danezis et al./Trends in Analytical Chemistry ■■ (2016) ■■-■■

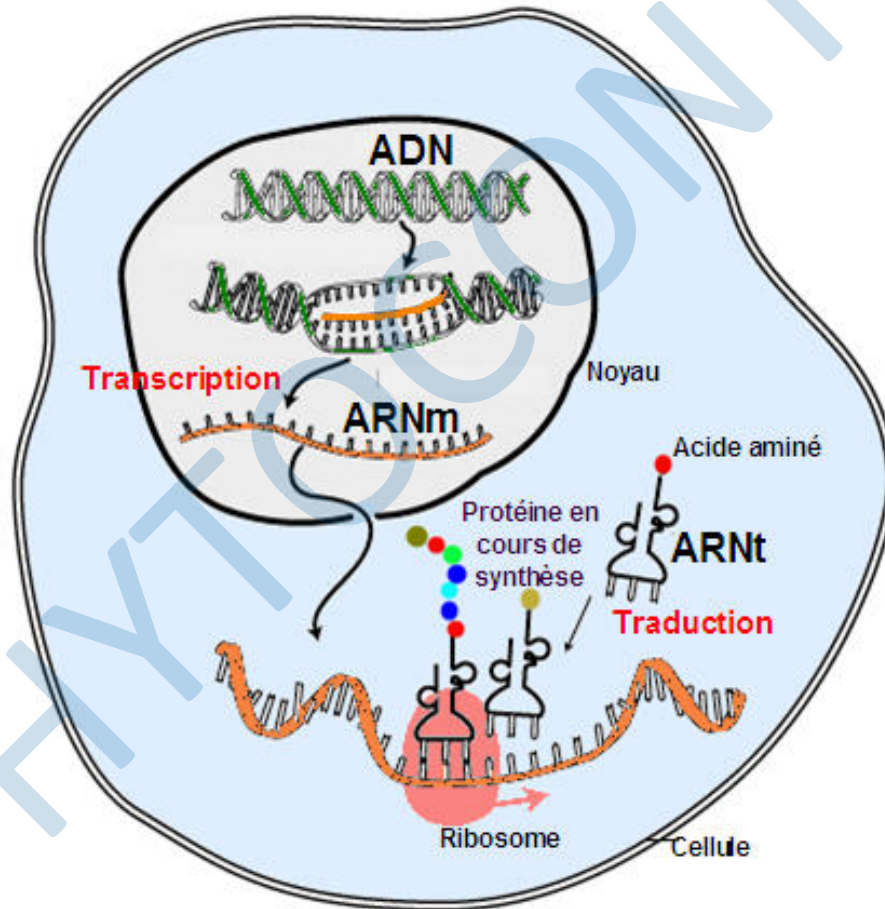




### 3. NGS: technologie basée sur l'ADN



## Authentification par l'ADN



# Introduction

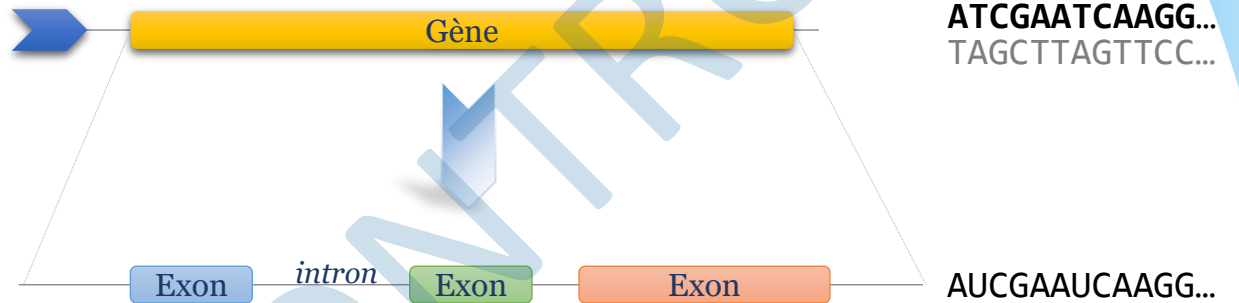
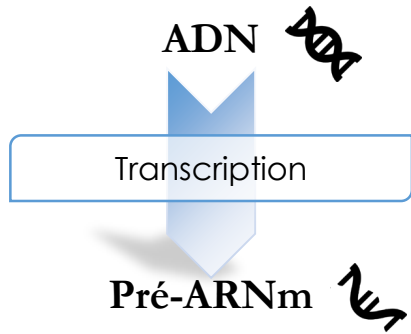
ADN 



PHYTOCONTROL



# Introduction

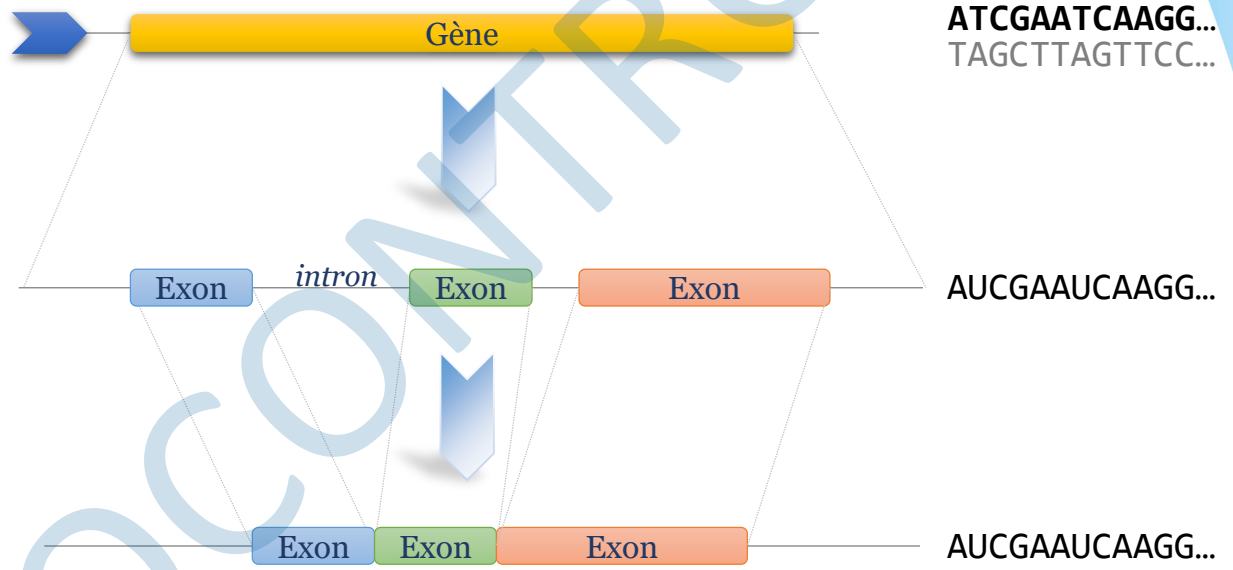
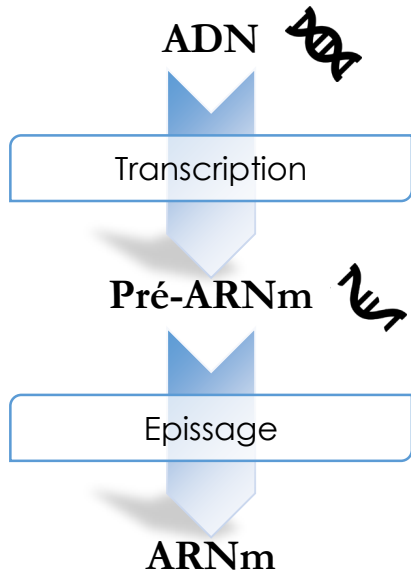


PHYTOCONTROL





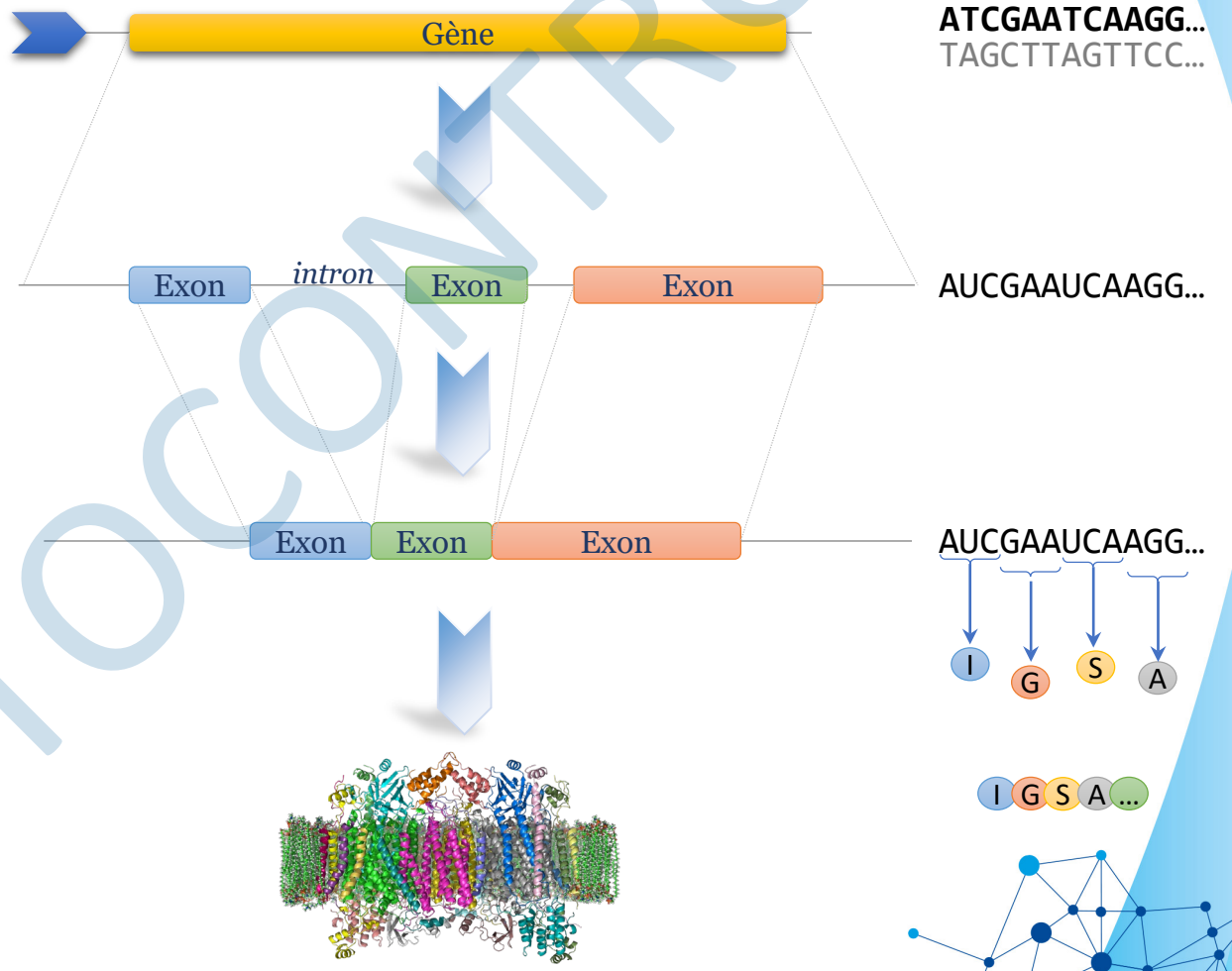
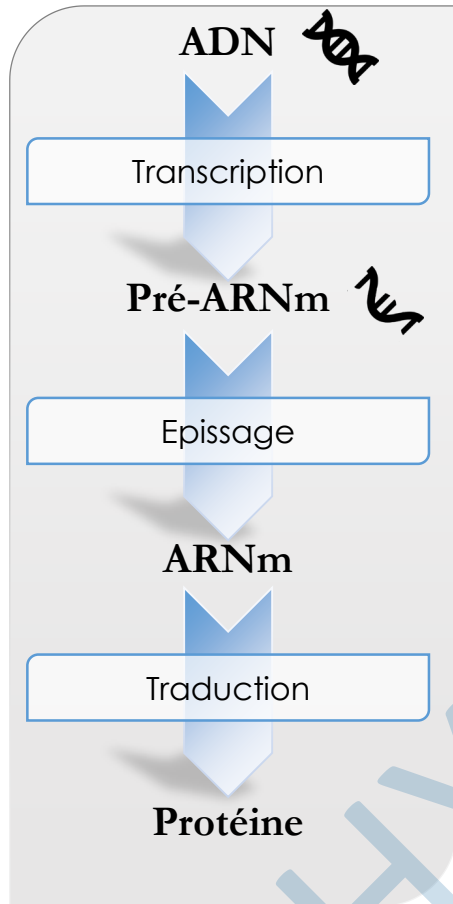
# Introduction



PHYTOCONTROL



# Introduction



**ADN de saumon**

(gène *cox1* de saumon)

**ADN de thon albacore**

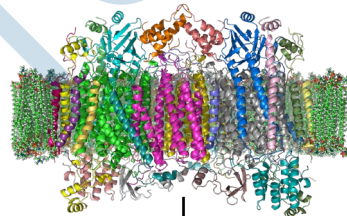
(gène *cox1* de)

**ADN de thon obèse**

(gène *cox1* de)

**Protéine**

(Cytochrome C oxydase)



**Fonction**

(Réduction du ferrocyanochrome C en ferricytochrome C)

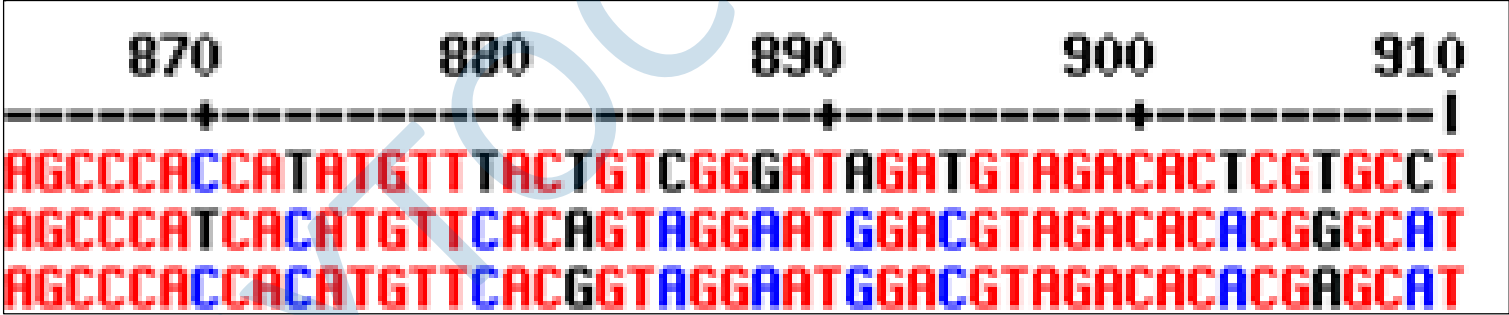
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130
cox1_saumon_at.lantiq	GTGGCAATCACACGATGATTTTCTCACCACCCACCAAGACATGGCCACCTTATCTAGTATTTGGTGCATGACCGGAATAGTCGGCCCGCCCTAGGTCCTGATTCGAGCCGAACCTACGCCACG													
cox1_thon_albacore	GTGGCAATCACACGATGATTTTCTCACCACCCACCAAGACATGGCCACCTTATCTAGTATTTGGTGCATGACCGGAATAGTCGGCCCGCCCTAGGTCCTGATTCGAGCCGAACCTACGCCACG													
cox1_thon_obese	GTGGCAATCACACGATGATTTTCTCACCACCCACCAAGACATGGCCACCTTATCTAGTATTTGGTGCATGACCGGAATAGTCGGCCCGCCCTAGGTCCTGATTCGAGCCGAACCTACGCCACG													
Consensus	GTGGCAATCACACGATGATTTTCTCACCACCCACCAAGACATGGCCACCTTATCTAGTATTTGGTGCATGACCGGAATAGTCGGCCCGCCCTAGGTCCTGATTCGAGCCGAACCTACGCCACG													
	131	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250	260
cox1_saumon_at.lantiq	CTGGCGCCCTTCTGGGAGATGACCAATTTATACGTATTTGATACGCCCAGCCTGCTCATATTTTCTTATAGTCATACCGATTATGATGGCGGCTTGGAAACTGATTATTCCTCTTATAT													
cox1_thon_albacore	CTGGCGCCCTTCTGGGAGAGCCAGATCTACAGTATATCTGACGGCCATGCCCTGATGATTTCTTATAGTATACCAATTATGATGGAGGATTTGGAAACTGACTTATCTCTCTATATG													
cox1_thon_obese	CTGGCGCCCTTCTGGGAGAGCCAGATCTACAGTATATCTGACGGCCATGCCCTGATGATTTCTTATAGTATACCAATTATGATGGAGGATTTGGAAACTGACTTATCTCTCTATATG													
Consensus	CTGGCGCCCTTCTGGGAGATGACCAATTTATACGTATTTGATACGCCCAGCCTGCTCATATTTTCTTATAGTCATACCGATTATGATGGCGGCTTGGAAACTGATTATTCCTCTTATAT													
	261	270	280	290	300	310	320	330	340	350	360	370	380	390
cox1_saumon_at.lantiq	CGGGGCCCCGACATGGCATTCCCCGATGATACACATAGGTTTGGATCTCCCTCCCTCTTCTCTCCCTGCGCCTCATCTGGAGTGGAGCCCGGCTGGACCCGATGACACAGCTACCCG													
cox1_thon_albacore	CGGGGCCCCGACATGGCATTCCCGATGATACACATAGGTTTGGATCTCCCTCCCTCTTCTCTCCCTGCGCCTCATCTGGAGTGGAGCCCGGCTGGACCCGATGACACAGCTACCCG													
cox1_thon_obese	CGGGGCCCCGACATGGCATTCCCGATGATACACATAGGTTTGGATCTCCCTCCCTCTTCTCTCCCTGCGCCTCATCTGGAGTGGAGCCCGGCTGGACCCGATGACACAGCTACCCG													
Consensus	CGGGGCCCCGACATGGCATTCCCGATGATACACATAGGTTTGGATCTCCCTCCCTCTTCTCTCCCTGCGCCTCATCTGGAGTGGAGCCCGGCTGGACCCGATGACACAGCTACCCG													
	391	400	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	510	520
cox1_saumon_at.lantiq	CCTTACGAGGTATTCTGCCCGCCGAGGCTTCGTTGACCTTACCATTTTTCCCTCCATTTGGCTGGATTTCTTCAATTCTTGGGGCCATTAATTTATCACACACATTATATATGAAACCC													
cox1_thon_albacore	CCTTACGAGGTATTCTGCCCGCCGAGGCTTCGTTGACCTTACCATTTTTCCCTCCATTTGGCTGGATTTCTTCAATTCTTGGGGCCATTAATTTATCACACACATTATATATGAAACCC													
cox1_thon_obese	CCTTACGAGGTATTCTGCCCGCCGAGGCTTCGTTGACCTTACCATTTTTCCCTCCATTTGGCTGGATTTCTTCAATTCTTGGGGCCATTAATTTATCACACACATTATATATGAAACCC													
Consensus	CCTTACGAGGTATTCTGCCCGCCGAGGCTTCGTTGACCTTACCATTTTTCCCTCCATTTGGCTGGATTTCTTCAATTCTTGGGGCCATTAATTTATCACACACATTATATATGAAACCC													
	521	530	540	550	560	570	580	590	600	610	620	630	640	650
cox1_saumon_at.lantiq	CAGCTATCTCAGTATCAACCCCACTTTTGTGATGAGCTGTACTGATGACGCTGCTTCTTACTCTCCCTCCCTGTTCTAGCAGCGGCATACCACTACTTACGACCGAATCTAAATAC													
cox1_thon_albacore	CAGCTATCTCAGTATCAACCCCACTTTTGTGATGAGCTGTACTGATGACGCTGCTTCTTACTCTCCCTCCCTGTTCTAGCAGCGGCATACCACTACTTACGACCGAATCTAAATAC													
cox1_thon_obese	CAGCTATCTCAGTATCAACCCCACTTTTGTGATGAGCTGTACTGATGACGCTGCTTCTTACTCTCCCTCCCTGTTCTAGCAGCGGCATACCACTACTTACGACCGAATCTAAATAC													
Consensus	CAGCTATCTCAGTATCAACCCCACTTTTGTGATGAGCTGTACTGATGACGCTGCTTCTTACTCTCCCTCCCTGTTCTAGCAGCGGCATACCACTACTTACGACCGAATCTAAATAC													
	651	660	670	680	690	700	710	720	730	740	750	760	770	780
cox1_saumon_at.lantiq	CACCTTCTTGCACCGGCGAGGGGGGACCCAACTCTGACACCACTCTCTTGGTTGCTTGGCCATCCAGAGCTCTATCTCCTATTCTCCAGCCCTTGGTATATTTCCACACATCGTTGCATAC													
cox1_thon_albacore	CACCTTCTTGCACCGGCGAGGGGGGACCCAACTCTGACACCACTCTCTTGGTTGCTTGGCCATCCAGAGCTCTATCTCCTATTCTCCAGCCCTTGGTATATTTCCACACATCGTTGCATAC													
cox1_thon_obese	CACCTTCTTGCACCGGCGAGGGGGGACCCAACTCTGACACCACTCTCTTGGTTGCTTGGCCATCCAGAGCTCTATCTCCTATTCTCCAGCCCTTGGTATATTTCCACACATCGTTGCATAC													
Consensus	CACCTTCTTGCACCGGCGAGGGGGGACCCAACTCTGACACCACTCTCTTGGTTGCTTGGCCATCCAGAGCTCTATCTCCTATTCTCCAGCCCTTGGTATATTTCCACACATCGTTGCATAC													
	781	790	800	810	820	830	840	850	860	870	880	890	900	910
cox1_saumon_at.lantiq	TACTTGCAAAAAGAACCTTCGGGTATATGGAATAGTCTGACCTATGATAGCCTGGATCTAGGTTTATCTGTTGAGCCACCATATGTTACTGCGGGATGATGAGACCTCTGCCT													
cox1_thon_albacore	TACTTGCAAAAAGAACCTTCGGGTATATGGAATAGTCTGACCTATGATAGCCTGGATCTAGGTTTATCTGTTGAGCCACCATATGTTACTGCGGGATGATGAGACCTCTGCCT													
cox1_thon_obese	TACTTGCAAAAAGAACCTTCGGGTATATGGAATAGTCTGACCTATGATAGCCTGGATCTAGGTTTATCTGTTGAGCCACCATATGTTACTGCGGGATGATGAGACCTCTGCCT													
Consensus	TACTTGCAAAAAGAACCTTCGGGTATATGGAATAGTCTGACCTATGATAGCCTGGATCTAGGTTTATCTGTTGAGCCACCATATGTTACTGCGGGATGATGAGACCTCTGCCT													
	911	920	930	940	950	960	970	980	990	1000	1010	1020	1030	1040
cox1_saumon_at.lantiq	ACTTTACATCGCACATATCATCGCAATCCCACTGGGATTAAGATTAGTTGACTGACCACTGCACGCGGCTCAATCAATGAGAAAGCCACTTCTTGGCCCTGGGGTTATTTTTCT													
cox1_thon_albacore	ACTTTACATCGCACATATCATCGCAATCCCACTGGGATTAAGATTAGTTGACTGACCACTGCACGCGGCTCAATCAATGAGAAAGCCACTTCTTGGCCCTGGGGTTATTTTTCT													
cox1_thon_obese	ACTTTACATCGCACATATCATCGCAATCCCACTGGGATTAAGATTAGTTGACTGACCACTGCACGCGGCTCAATCAATGAGAAAGCCACTTCTTGGCCCTGGGGTTATTTTTCT													
Consensus	ACTTTACATCGCACATATCATCGCAATCCCACTGGGATTAAGATTAGTTGACTGACCACTGCACGCGGCTCAATCAATGAGAAAGCCACTTCTTGGCCCTGGGGTTATTTTTCT													
	1041	1050	1060	1070	1080	1090	1100	1110	1120	1130	1140	1150	1160	1170
cox1_saumon_at.lantiq	CTTACAGTTGGAGGGCTTACAGGATTTGCTTACGCAATCTCTTACACATCGTCTACACAGCTGTCCAGGACCTACTACTGATGAGTGCAGCCATTCACATATGTTATCTATGGAGGCTGTTGCTATATA													
cox1_thon_albacore	CTTACAGTTGGAGGGCTTACAGGATTTGCTTACGCAATCTCTTACACATCGTCTACACAGCTGTCCAGGACCTACTACTGATGAGTGCAGCCATTCACATATGTTATCTATGGAGGCTGTTGCTATATA													
cox1_thon_obese	CTTACAGTTGGAGGGCTTACAGGATTTGCTTACGCAATCTCTTACACATCGTCTACACAGCTGTCCAGGACCTACTACTGATGAGTGCAGCCATTCACATATGTTATCTATGGAGGCTGTTGCTATATA													
Consensus	CTTACAGTTGGAGGGCTTACAGGATTTGCTTACGCAATCTCTTACACATCGTCTACACAGCTGTCCAGGACCTACTACTGATGAGTGCAGCCATTCACATATGTTATCTATGGAGGCTGTTGCTATATA													
	1171	1180	1190	1200	1210	1220	1230	1240	1250	1260	1270	1280	1290	1300
cox1_saumon_at.lantiq	GGCGCTTTGTACATGATTCCCGCTATTCACGGGATATACCTCCACAGTACATGACCAAAATCCATTTCCGGATATATTTATCGGCTAATTTACCTTTTTTCCCGCACCTCTACGGCTTG													
cox1_thon_albacore	GGCGCTTTGTACATGATTCCCGCTATTCACGGGATATACCTCCACAGTACATGACCAAAATCCATTTCCGGATATATTTATCGGCTAATTTACCTTTTTTCCCGCACCTCTACGGCTTG													
cox1_thon_obese	GGCGCTTTGTACATGATTCCCGCTATTCACGGGATATACCTCCACAGTACATGACCAAAATCCATTTCCGGATATATTTATCGGCTAATTTACCTTTTTTCCCGCACCTCTACGGCTTG													
Consensus	GGCGCTTTGTACATGATTCCCGCTATTCACGGGATATACCTCCACAGTACATGACCAAAATCCATTTCCGGATATATTTATCGGCTAATTTACCTTTTTTCCCGCACCTCTACGGCTTG													
	1301	1310	1320	1330	1340	1350	1370	1380	1390	1400	1410	1420	1430	
cox1_saumon_at.lantiq	CGGGGATCTCGACGGTACTCCGACTACCAAGCAGCTACACCTTGAAACCACTTCTTCTAATCGGATCTTCTTCTCTTAGTCTGCTGATATGTTGCTTATTTATTTGAGAGGCTTTGC													
cox1_thon_albacore	CGGGGATCTCGACGGTACTCCGACTACCAAGCAGCTACACCTTGAAACCACTTCTTCTAATCGGATCTTCTTCTCTTAGTCTGCTGATATGTTGCTTATTTATTTGAGAGGCTTTGC													
cox1_thon_obese	CGGGGATCTCGACGGTACTCCGACTACCAAGCAGCTACACCTTGAAACCACTTCTTCTAATCGGATCTTCTTCTCTTAGTCTGCTGATATGTTGCTTATTTATTTGAGAGGCTTTGC													
Consensus	CGGGGATCTCGACGGTACTCCGACTACCAAGCAGCTACACCTTGAAACCACTTCTTCTAATCGGATCTTCTTCTCTTAGTCTGCTGATATGTTGCTTATTTATTTGAGAGGCTTTGC													
	1431	1440	1450	1460	1470	1480	1490	1500	1510	1520	1530	1540	1551	
cox1_saumon_at.lantiq	TGTAAACGAGGATGACTCAATGGAAATGATCTCAACAAACGTTGATGACTACACGGGTCGCCCTTCCACATCTTACGACCAATTTGAGAACCCAGGATTTGCTCAGTACAGCAAGGTAA													
cox1_thon_albacore	TGTAAACGAGGATGACTCAATGGAAATGATCTCAACAAACGTTGATGACTACACGGGTCGCCCTTCCACATCTTACGACCAATTTGAGAACCCAGGATTTGCTCAGTACAGCAAGGTAA													
cox1_thon_obese	TGTAAACGAGGATGACTCAATGGAAATGATCTCAACAAACGTTGATGACTACACGGGTCGCCCTTCCACATCTTACGACCAATTTGAGAACCCAGGATTTGCTCAGTACAGCAAGGTAA													
Consensus	TGTAAACGAGGATGACTCAATGGAAATGATCTCAACAAACGTTGATGACTACACGGGTCGCCCTTCCACATCTTACGACCAATTTGAGAACCCAGGATTTGCTCAGTACAGCAAGGTAA													



```

1      10     20     30     40     50     60     70     80     90     100    110    120    130
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
131    140    150    160    170    180    190    200    210    220    230    240    250    260
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
261    270    280    290    300    310    320    330    340    350    360    370    380    390
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
391    400    410    420    430    440    450    460    470    480    490    500    510    520
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
521    530    540    550    560    570    580    590    600    610    620    630    640    650
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
651    660    670    680    690    700    710    720    730    740    750    760    770    780
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
781    790    800    810    820    830    840    850    860    870    880    890    900    910
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
911    920    930    940    950    960    970    980    990    1000   1010   1020   1030   1040
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
1041  1050  1060  1070  1080  1090  1100  1110  1120  1130  1140  1150  1160  1170
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
1171  1180  1190  1200  1210  1220  1230  1240  1250  1260  1270  1280  1290  1300
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
1301  1310  1320  1330  1340  1350  1360  1370  1380  1390  1400  1410  1420  1430
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
1431  1440  1450  1460  1470  1480  1490  1500  1510  1520  1530  1540  1550
cox1_sau..._at_lan...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._albaco...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...
cox1_sau..._obese...  TTTGACACCAATATGTTTACTGTCGGGATAGATGTTAGACACTCGTGCC...

```



```

1      10     20     30     40     50     60     70     80     90     100    110    120    130
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

131  140  150  160  170  180  190  200  210  220  230  240  250  260
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

261  270  280  290  300  310  320  330  340  350  360  370  380  390
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

391  400  410  420  430  440  450  460  470  480  490  500  510  520
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

521  530  540  550  560  570  580  590  600  610  620  630  640  650
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

651  660  670  680  690  700  710  720  730  740  750  760  770  780
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

781  790  800  810  820  830  840  850  860  870  880  890  900  910
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

911  920  930  940  950  960  970  980  990  1000 1010 1020 1030 1040
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

1041 1050 1060 1070 1080 1090 1100 1110 1120 1130 1140 1150 1160 1170
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

1171 1180 1190 1200 1210 1220 1230 1240 1250 1260 1270 1280 1290 1300
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

1301 1310 1320 1330 1340 1350 1360 1370 1380 1390 1400 1410 1420 1430
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

1431 1440 1450 1460 1470 1480 1490 1500 1510 1520 1530 1540 1550
coi1_saumon_atlantiq
coi1_thon_albacore
coi1_thon_obese
Commeison

```

870	880	890	900	910
+-----+-----+-----+-----+-----				
AGCCCA <b>C</b> ATATGTTTAC <b>G</b> TCGGGATAGATGTAGACACTCGTGCCT				
AGCCCA <b>T</b> CATATGTTCA <b>G</b> GTAGGATGGACGTAGACACACGGGCAT				
AGCCCA <b>C</b> ATATGTTTCA <b>G</b> GTAGGATGGACGTAGACACAC <b>A</b> GCAT				

coi1\_saumon\_atlantiq  
coi1\_thon\_albacore  
coi1\_thon\_obese



## En résumé

- **Une même protéine** peut être codée par des gènes dont la séquence d'ADN est légèrement **différente** sans que la fonction de la protéine ne soit affectée: c'est le **polymorphisme génétique**
- Certaines de ces différences dans la séquence d'ADN sont **spécifiques à une espèce**, d'autres à une **variété**.
- Le séquençage vise à obtenir la séquence d'ADN d'un (ou plusieurs) gène(s) donné(s) afin de déterminer l'organisme (espèce/variété)



## Et la PCR dans tout ça ?

### PCR temps réel

#### Approche ciblée:

- nombre de cibles **limité** par analyse
- On ne détecte **que** ce que l'on cherche

#### Résultat = signal fluorescent:

possibilité de faux positifs impossibles à identifier

#### Temps d'analyse total:

- 4 à 6h

#### Quantitatif

#### Prix dépend du nombre de cibles recherchées

### NGS

#### Approche « non » ciblée:

- nombre de cibles **illimité** par analyse
- On détecte **tout** ce qui est présent dans l'échantillon (à condition que la séquence soit dans la BDD)

#### Résultat = séquence spécifique:

Pas de faux positifs

#### Temps d'analyse total:

- 24 à 36h

#### Qualitatif

#### Prix:

indépendant du nombre de **cibles\*** recherchées  
décroissant avec le nombre d'échantillons





## PCR



Y-a-t-il du bœuf dans mes lasagnes ?



Y-a-t-il du cheval dans mes lasagnes ?



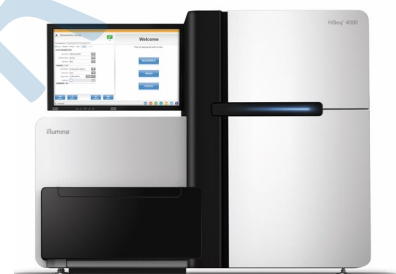
Y-a-t-il du porc dans mes lasagnes ?



Recherche ciblée



## NGS



Qu'y a-t-il dans mes lasagnes ?



Recherche « non » ciblée



## Risque lié à la technique NGS



- « Qu'y a-t-il dans mon échantillon ? »
  - **Techniquement possible** mais:
  - **Risque pour le client:**
    - **Grand risque de trouver des résultats « indésirables », potentiellement au détriment du client: mouche, du cafard, souris, rat, etc...**





4. Authenticité: quelles techniques en chimie ?



## Quelles sont les principales techniques en chimie ?

<b>Technique</b>	<b>Parameters measured</b>
<b>Infrared spectroscopy (NIR, MIR)</b>	<b>Spectral profile, characteristic frequencies</b>
<b>Raman spectroscopy</b>	<b>Spectral profile, characteristic frequencies</b>
<b>Nuclear Magnetic Resonance</b>	<b>Spectral profile, characteristic frequencies</b>
<b>Atomic absorption and emission spectroscopy, ICP/MS</b>	<b>Elemental composition</b>
<b>Mass spectrometry (GC/MS, LC/MS)</b>	<b>Volatile components, phenolic compounds</b>
<b>Chromatography (HPLC/RID)</b>	<b>Amino acids, carbohydrates, phenolic compounds</b>
<b>IRMS</b>	<b>Stable Isotope Ratios</b>



## Ratios isotopiques moyens

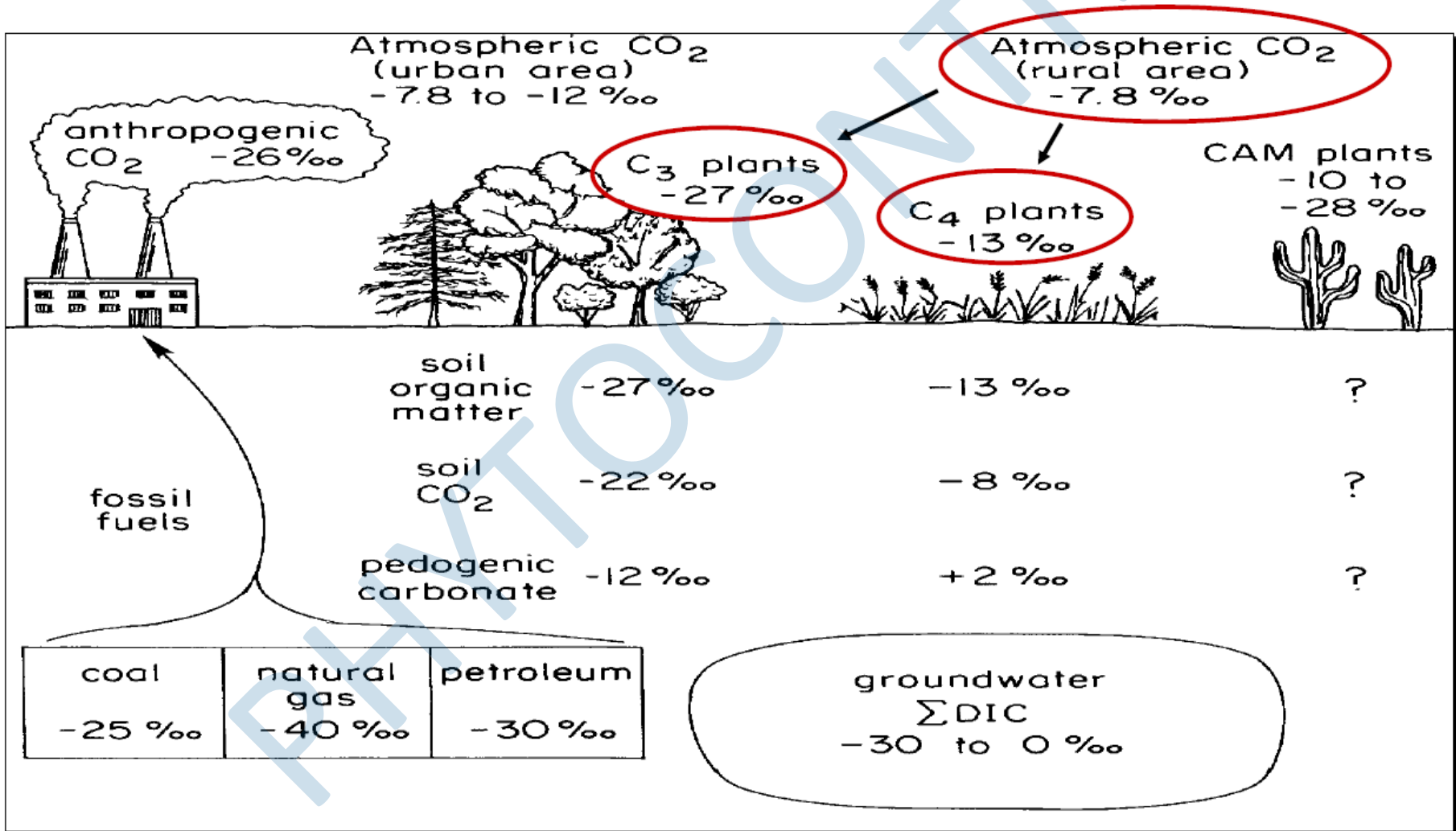
### IRMS – Information Delivered

---

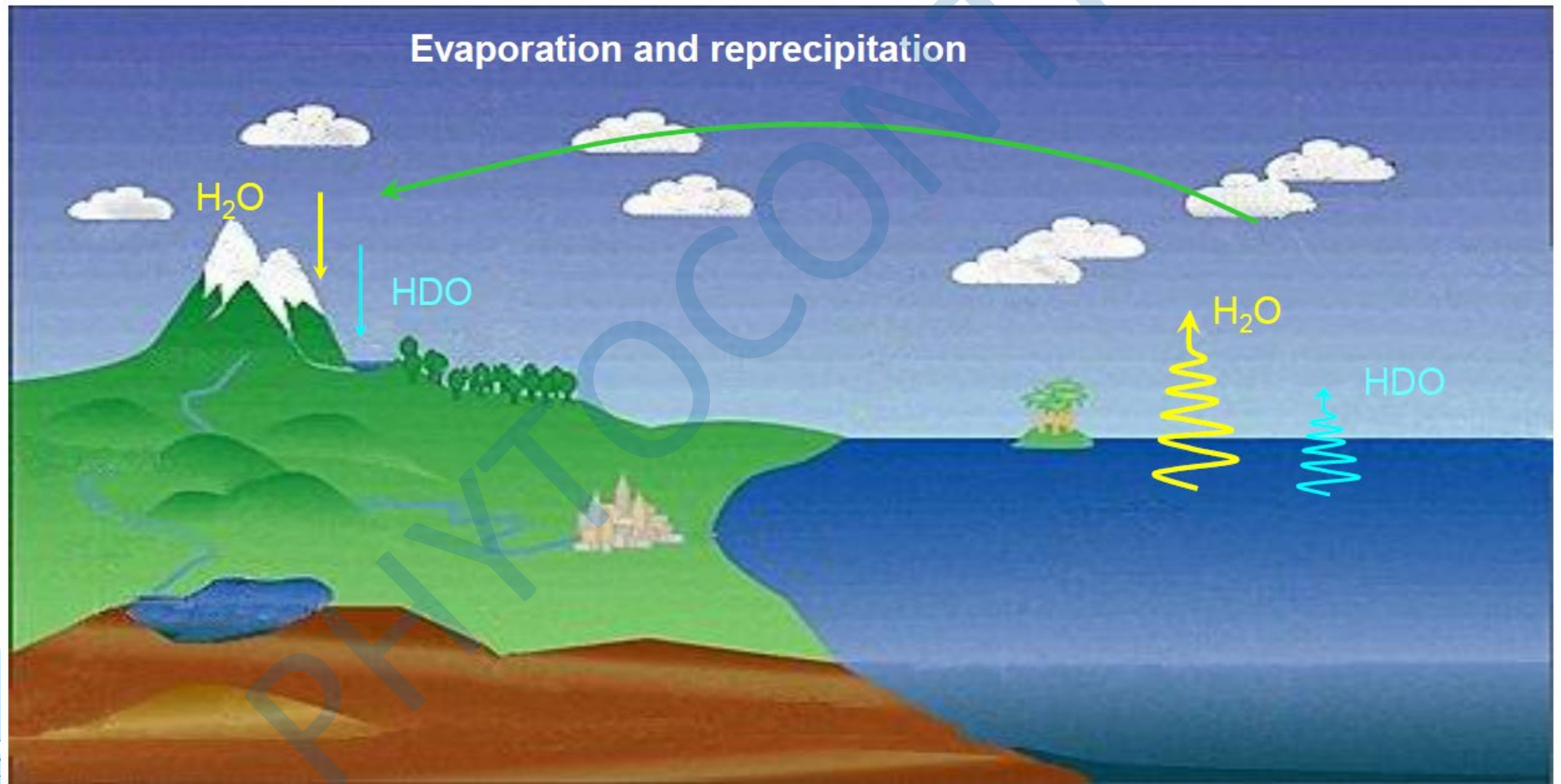
- Precise Isotope Ratios

Element	minor Isotope	natural abundance [%]
Hydrogen	$^2\text{H}$ (D)	0.015 <b>57</b>
Carbon	$^{13}\text{C}$	1.111 <b>40</b>
Nitrogen	$^{15}\text{N}$	0.366 <b>30</b>
Oxygen	$^{18}\text{O}$	0.200 <b>04</b>
Sulfur	$^{34}\text{S}$	4.215 <b>00</b>
others		

## Sources de variation des isotopes

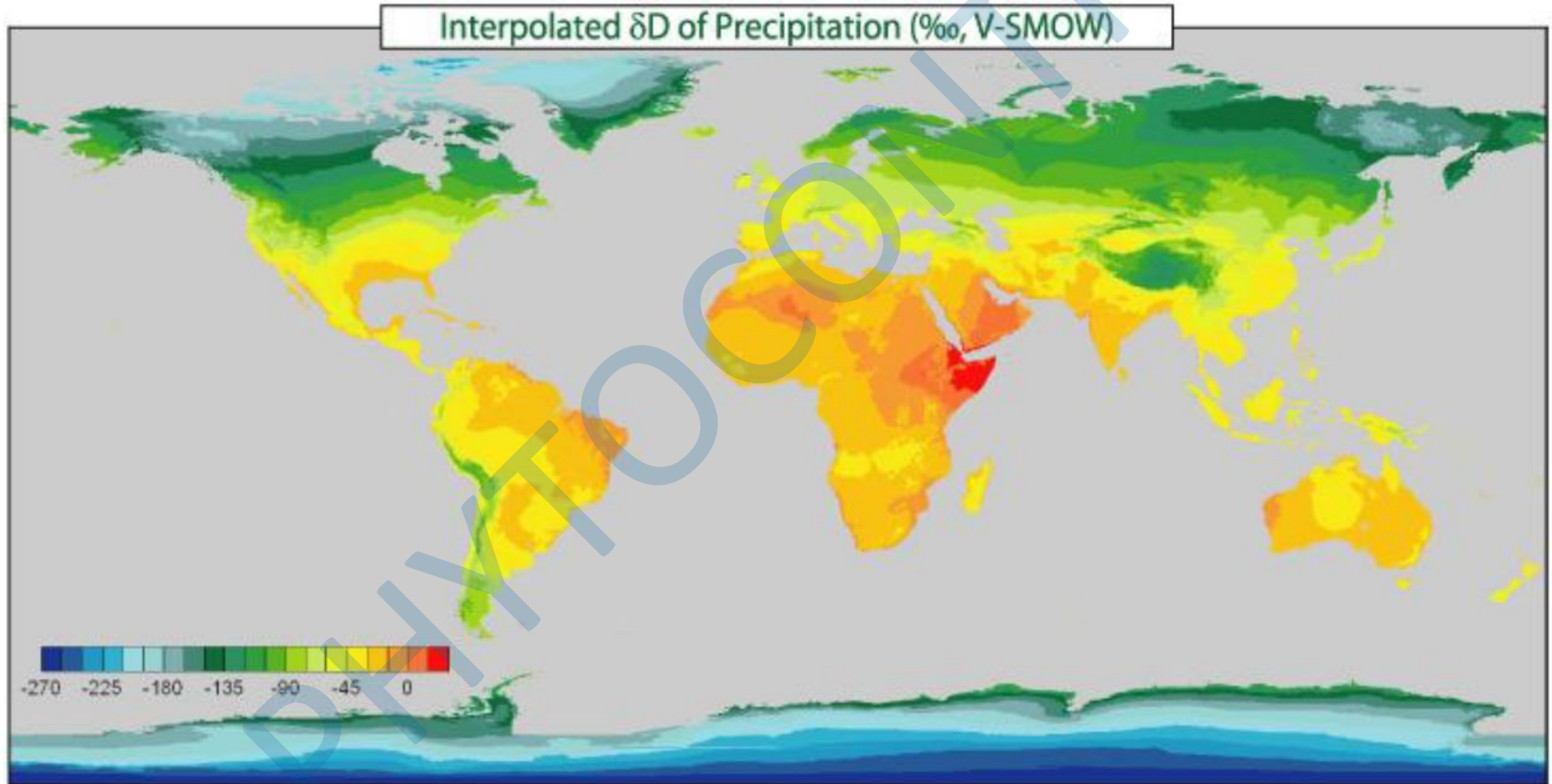


## Influence des facteurs climatiques



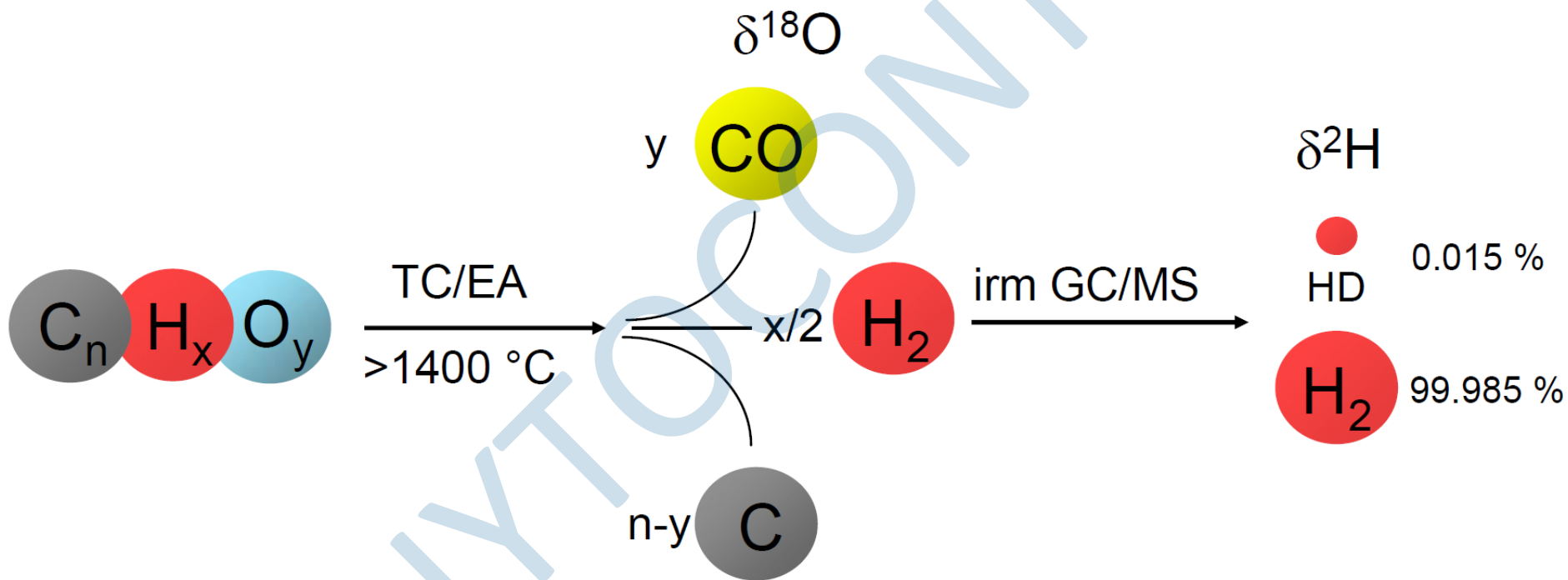


## Influence des facteurs climatiques



*Produced by James Elhringer (University of Utah)*

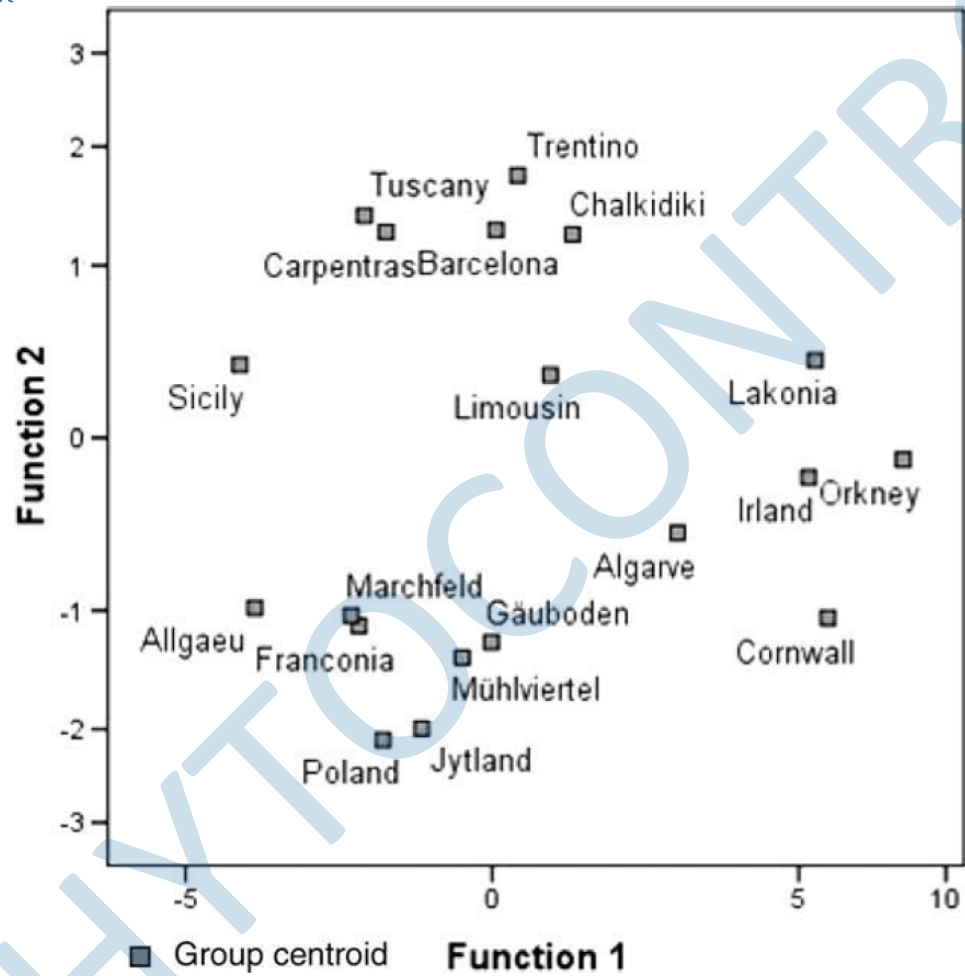
## Focus IRMS: analyse élémentaire



Stable Isotope	What is the biogeochemical interpretation?	What is an example of food fraud interpretation?	What products can be affected?
Carbon	Photosynthesis (C3, C4 and CAM pathways)	Adulteration (e.g. sweetening with cheap sugar)	Honey; Liquor; Wine; Olive oil; Butter
Nitrogen	Fertilizer assimilation by plants	Mislabeling (Differentiate organic and non-organic)	Vegetables; Animal meat
Sulfur	Local soil conditions, Proximity to shoreline	Origin of product	Vegetables; Animal meat; Honey
Oxygen	Principally related to local-regional rainfall and hence geographical area	Watering of beverages; place of origin of product	Coffee; Wine; Liquor; Water; Sugar; Animal meat
Hydrogen	Related to local-regional rainfall and hence geographical area	Watering of beverages; Origin of product	Coffee; Wine; Liquor; Water; Sugar; Animal meat



# IRMS: origine géographique du miel



Honey origin:

function 1:  $-d_{34}\text{S}$ ,  $d_2\text{H}$

function 2:  $-d_{13}\text{C}$  and  $d_{34}\text{S}$ .



# IRMS: origine géographique du café

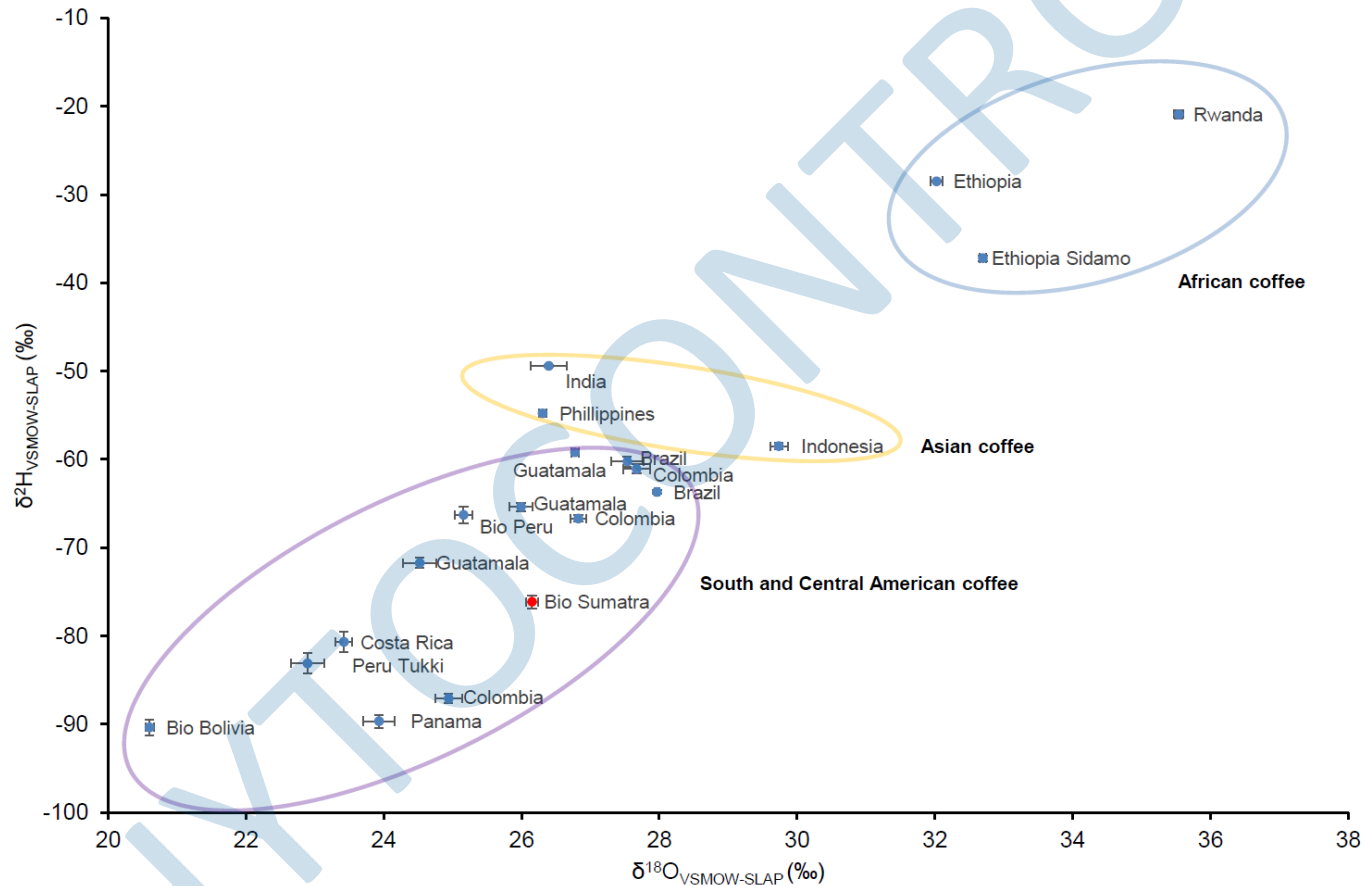


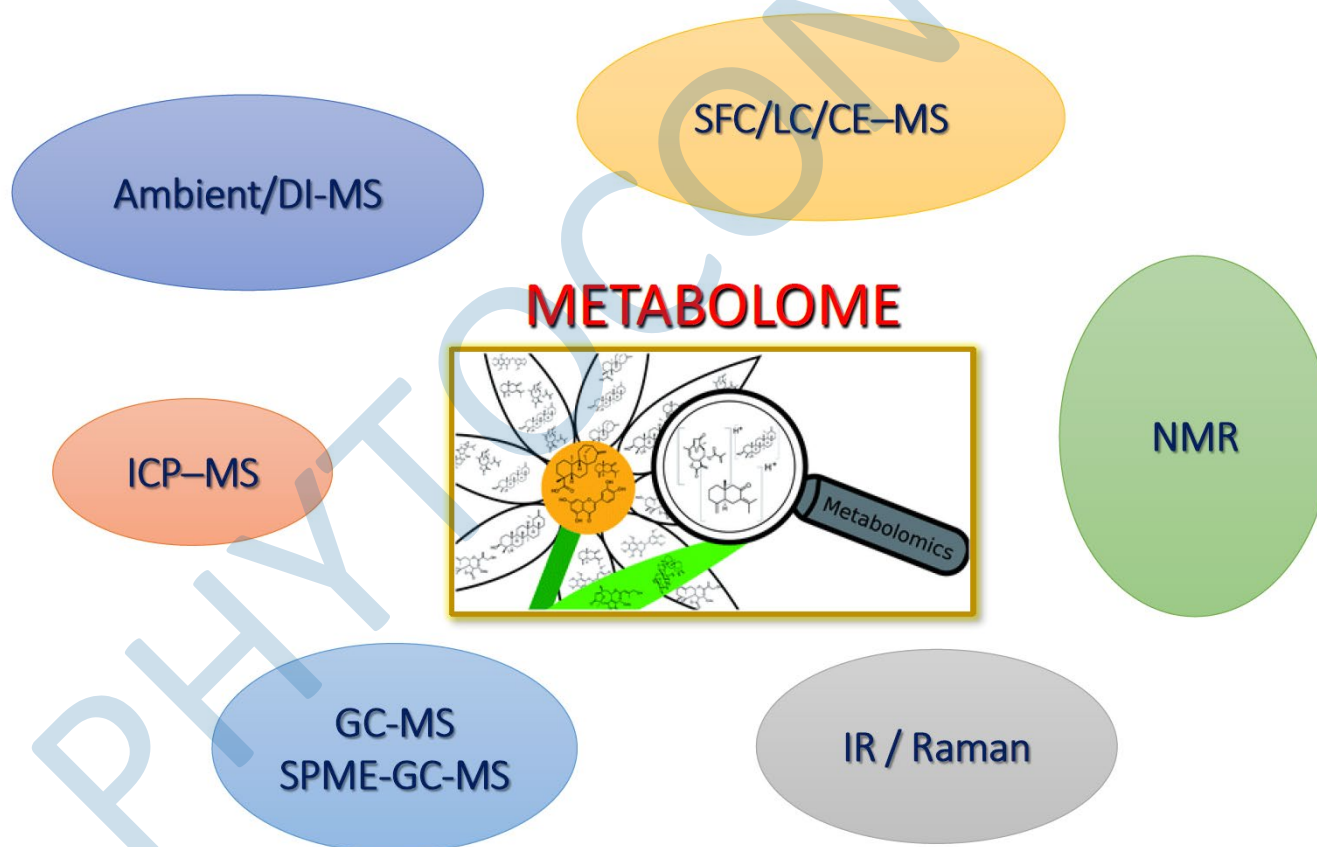
Figure 1. Hydrogen and oxygen isotope fingerprints of roasted coffee beans from Africa (blue), Asia (brown) and central and South America (purple).

Coffee origin:  
**function 1:** –  $d_{18}\text{O}$   
**function 2:** –  $d_2\text{H}$ .

## Avantages et inconvénients

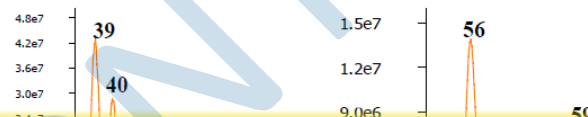
Methods	Sample preparation costs	Speed	Investment and operating costs	Probability of success
NMR	Green	Green	Red	Green
IRMS	Yellow	Green	Red	Green
Chromatography GC/MS, LC/MS	Red	Red	Yellow	Yellow
Infrared Spectroscopy (NIR, IR, Raman)	Green	Green	Green	Red
Elemental analysis (ICP/MS, AAS, ICP)	Yellow	Green	Yellow	Yellow

## Instrumental platforms for metabolomic fingerprinting



# Metabolomics fingerprint (snapshot)

**SPME-GS-MS fingerprint**



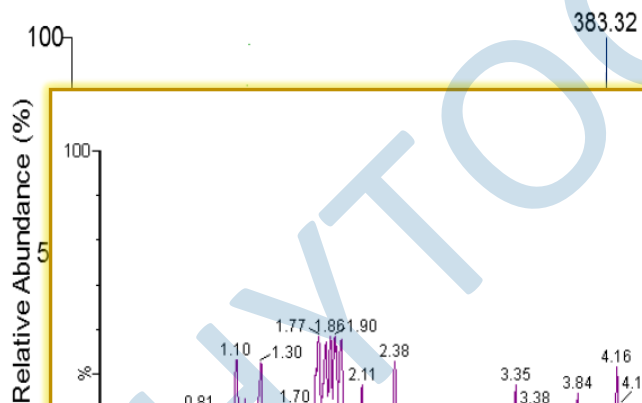
**FTIR fingerprint**

3 spectra: Average

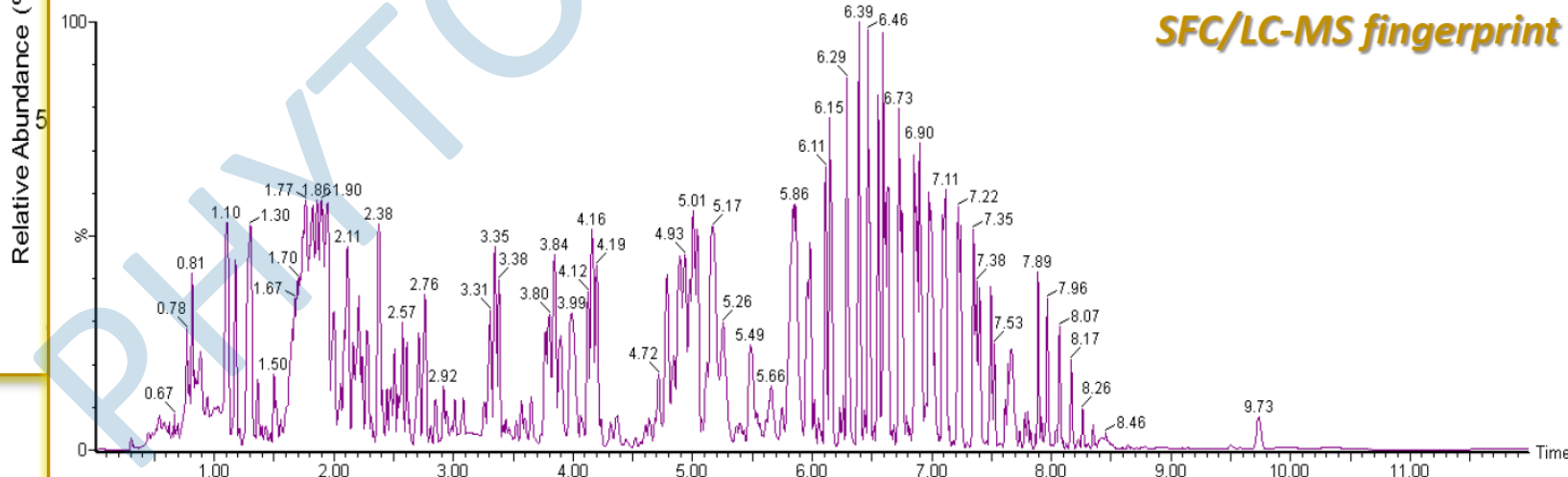
2922.12

1743.65

**DART-MS fingerprint**



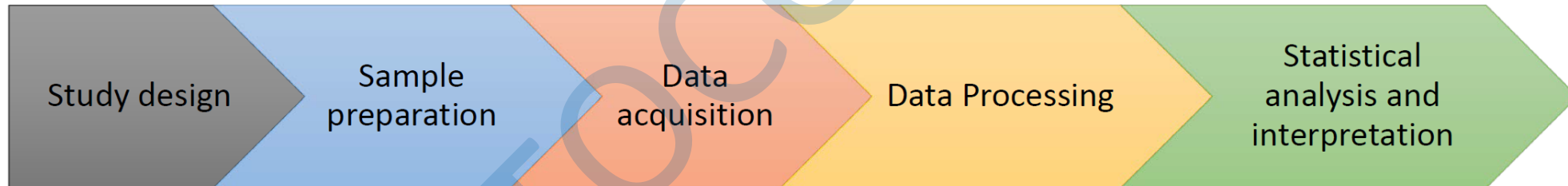
**SFC/LC-MS fingerprint**





# Metabolomics workflow

- All the parts must be carefully planned
- Quality control must be maintained during the whole process



- *Sample size*
- *Variability*
- *Confounding factors*
- ...

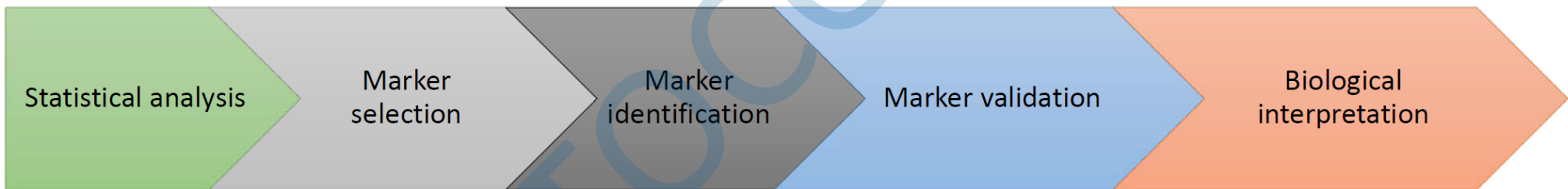
- *Normalisation*
- *Extraction*
- *Repeatability*
- *QC preparation*
- ...

- *Normalisation*
- *Internal standards*
- *Batch effect*
- *Criteria for peaks selection*
- *Repeatability*
- ...

- *Overfitting*
- *Models validation*
- ...

# Metabolomics workflow

- Statistical analysis and interpretation is usually the most time consuming step



- *First pass*
- *Second pass*

- *tentative*
- *class*
- *unambiguous*

- *Buying standards*
- *Targeted method*



# Challenges - biological

**Challenge 1:** be able to characterize discrete signature

**Limitation 1:** it may be hidden by other sources of variability

**Challenge 2:** be able to characterize one system through the generation of a unique metabolic profile

**Limitation 2:** the metabolome is a dynamic system ( for example diurnal and seasonal variation in human studies...)

**Challenge 3:** be able to connect genome and metabolome (systems biology)

**Limitation 3:** difficulties to collect both informations

*... these biological challenges correspond to future directions in research*

# Challenges - analytical

- **Challenge 1:** be able to characterize the whole metabolome

**Limitation 1:** at the moment, there is no such versatile instrument allowing to analyze such chemical diversity

- **Challenge 2:** long term repeatability of analytical sequences (when 100's to 1000's samples are analyzed)

**Limitation 2:** still insufficient stability of the MS-instrument acknowledged, need for efficient way of normalization with Quality Controls

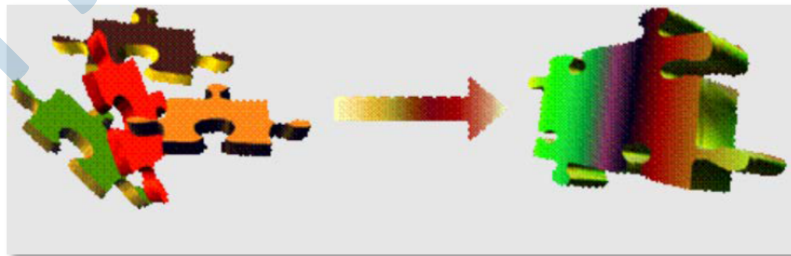
- **Challenge 3:** be reproducible between analytical platforms to allow comparison

**Limitation 3:** Used protocols are different, need for standardization procedures

*... these analytical challenges correspond to future directions in research*

# Summary

- **Metabolomics is a large-scale study of small molecules (<1200 Da)**
- **Various applications: clinical, pharmaceutical, agri-food**
- **Untargeted and targeted approaches**
- **Planning and design of the study is crucial for successful employment of metabolomics**
- **Two major analytical approaches: NMR and MS (hyphenated or not)**



## Normalisation: perspectives

# AUTHENTICITE DES ALIMENTS ET METHODES D'ANALYSE

## CONTEXTE ET ENJEUX

### Démarche de normalisation initiée

#### □ Point de départ : Août 2018

- Proposition allemande pour la création d'un nouveau comité technique européen dédié à la thématique **Authenticité des aliments**.

#### □ Sollicitation des 34 pays membres du CEN (entre septembre et novembre 2018)

- Détermination des positions nationales  
=> la France a approuvé la création

#### □ Résultats de la consultation (fin novembre 2018)

- **Approbation** de la création du nouveau comité technique : 25 approbations et 9 abstentions
- **5** pays prêts à participer : Allemagne, Espagne, France, Grande-Bretagne et Pays-Bas



Normes techniques  
**VOLONTAIRES**

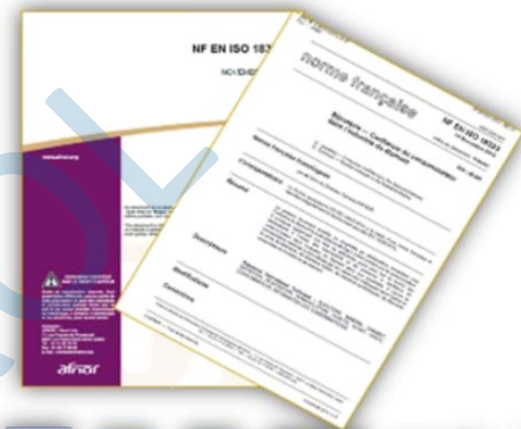


# Normalisation: perspectives

## AUTHENTICITE DES ALIMENTS ET METHODES D'ANALYSE

### CONTEXTE ET ENJEUX

- Première réunion prévue le 14 juin 2019 à Berlin
- Objectifs :
  - ❖ entérinement de la présidence allemande (Dr. Georg SCHREIBER),
  - ❖ validation des titre et domaine d'activité du comité,
  - ❖ détermination de l'organisation et du programme de travail :  
Création de groupes de travail :
    - ✓ Café et produits du café
    - ✓ Miel et produits apicoles
    - ✓ analyses d'espèces par biologie moléculaire
    - ✓ Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)
- Pistes de réflexions sur de futurs développements :
  - Spectrométries de masse MALDI-TOF et à rapport isotopique (IRMS) ;
  - Spectroscopies vibrationnelles proche infrarouge (SPIR/NIR) et infrarouge à transformée de Fourier (IRTF/FT-IR)).



Normes techniques  
VOLONTAIRES



## Normalisation: perspectives

# AUTHENTICITE DES ALIMENTS ET METHODES D'ANALYSE

## CONTEXTE ET ENJEUX

- Au niveau français
- Création d'une commission de normalisation dite « miroir » : **Authenticité des aliments**
  - ✓ en charge du suivi des travaux du CEN/TC 460
  - ✓ organisation d'une première réunion le **4 juin 2019** afin notamment de:
    - définir les positions françaises
    - désigner une délégation française pour défendre au mieux les positions et les intérêts nationaux lors de la réunion européenne
  - ✓ participation en présentielle ou à distance



Normes techniques  
**VOLONTAIRES**





**Merci de votre attention !**

Des questions ?



**Eric CAPODANNO**

Directeur Scientifique

**Laboratoire Phytocontrol**

Parc Scientifique Georges BESSE II

180 rue Philippe Maupas

30035 NIMES

Tél. : +33 (0)4 34 14 70 00

Fax : +33 (0)4 66 23 99 95

[Eric.capodanno@phytocontrol.com](mailto:Eric.capodanno@phytocontrol.com)

Retrouvez-nous sur

[www.phytocontrol.com](http://www.phytocontrol.com)

