

FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) SPEKTROSKOPİNİN GIDA ANALİZLERİNE UYGULANMASI

FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) SPECTROSCOPY APPLIED TO FOOD ANALYSIS

Ayşe ERKAHVECİ¹ Artemis KARAALI²

1) MSB İstanbul İç Tedarik Bölge Başkanlığı

2) İTÜ Kimya Metalurji Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

ÖZET: Gıda Endüstrisinde üretimin düzenli kontrol altında olması için, üretim esnasında gıda ürünlerinin hızlı analizi çok önemlidir. Son çalışmalar, hızlı kalite kontrol metodolojileri geliştirmek için Fourier Transform Infrared (FTIR) spektroskopisi kullanılması doğrultusundadır ve FTIR teknolojisi gıda endüstrisi için kantitatif bir kalite kontrol aracı olarak önemli potansiyele sahiptir. FTIR analiz metodları kullanışlı, hızlı ve otomatiktir. ATR (Attenuated Total Reflectance) teknolojisi ile birleştiğinde örnek hazırlama işlemini önemli ölçüde kolaylaştırmaktadır. Bu makalede FTIR spektroskopinin temel prensiplerine, FTIR için örnek hazırlama ve uygulama tekniklerine ve gıda analizlerinde FTIR spektroskopinin bazı kullanım alanlarına değinilmektedir.

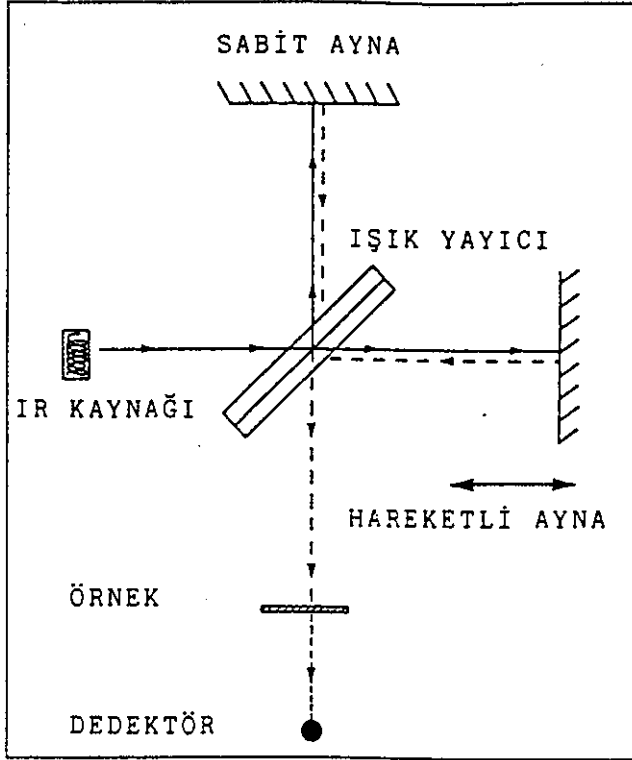
SUMMARY: The rapid analysis of food products is crucial in food industry for adjustment of manufacturing processes while production is underway. Recent research has led to development of rapid quality-control methodologies for the food industry through the application of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy and FTIR technology has offered substantial potential as a quantitative quality control tool for the food industry. FTIR analysis methods are convenient, rapid and automatable, and in conjunction with ATR (Attenuated Total Reflectance) technology, dramatically simplify sample handling. This article covers basic principles FTIR spectroscopy respective sample preparation and application techniques and applications of FTIR spectroscopy to food analyses.

GİRİŞ

Mid-infrared (IR) spektroskopisi, kimyasal bileşimlerin araştırılması ve tanımlanması için yaygın bir kalitatif teknik olarak kullanılmakta olup, son yıllarda birçok analitik yöntem ve özel uygulamalar geliştirilmiştir. Bir bileşiğin mid-IR spektrumu geniş yapısal bilgi içerir ve onun en karakteristik özelliğidir. Bu nedenle onun "parmak izi" olarak kabul edilir. Buna ilave olarak spektrumdaki bandların şiddeti de konsantrasyonla orantılıdır.

FTIR SPEKTROSKOPİNİN TEMEL PRENSİPLERİ

Fourier Transform Infrared (FTIR) spektroskopisi 1970'lerin ilk yıllarından beri araştırmacılar tarafından kullanılmaktadır. FTIR spektroskopisi interferometre prensibine dayanır ve geleneksel IR spektroskopide kullanılan ayna ve/veya prizma sistemleri tarafından meydana getirilen bireysel dalga boylarından ziyade bütün kaynak spektrumunu kullanır (VAN DE VOORT, 1992). Bir FTIR spektroskopisi aygıtının en önemli kısmı, üç temel parçadan oluşan interferometredir. Bu parçalar, (1) ışık yayıcı, (2) sabit ayna ve (3) hareketli aynadır (TRUCKERMAN, 1994). İnterferometre, kaynaktan gelen, sırayla sabit ve hareketli aynalara yansıttığı ışığı, iki parçaya bölmek için bir ışık yayıcı kullanılır (Şekil 1) (VAN DE VOORT, 1992). Işık yayıcı ışığın % 50'sini sabit aynaya yansıtmak ve kalan % 50'sini de doğrudan hareketli aynaya bırakmak üzere tasarlanmıştır (SANDERS, 1984). Bu iki ışık aynalardan geri yansıtılır ve ışık yayıcıda yeniden birleşirken, hareketli aynanın konumuna bağlı olarak (TUCKERMAN, 1994) ve iki ayna arasındaki değişen yol farkından dolayı (VAN DE VOORT, 1992) yapıcı veya yıkıcı interfere edici etkilere uğrar. Sabit ve hareketli aynaların ışık yayıcıdan eşit uzaklıkta olduğu nokta, "Sıfır Yol Farkı" (Zero Path Difference) veya "ZPD" olarak bilinir. ZPD'de ışık yayıcı tarafından ayrılan bu iki ışının her biri ışık yayıcıda yeniden birleşmeden önce eşit mesafelerde yol alırlar. İnterferedici etki tarafından oluşturulan düzensiz şiddet değişimleri, bir dedektör tarafından ölçülür, gerçek zamanında sayısal olarak kaydedilir ve örnek ile ilgili bütün spektral bilgileri içeren interferogram elde olunur. Yorumlanabilir bilgi elde etmek için, bu interferogram Fourier Transformasyon ile geleneksel IR emittans spektrumuna çevrilmelidir. Bir bilgisayar



Şekil 1. İnterferometre

FTIR spektrometrenin dispersif tip enstrümanlara göre bazı önemli avantajları vardır; hızlı ilaveler yoluyla bir spektrumun sinyal-gürültü oranını düzeltme yeteneğine sahiptir ve kararlılık kaybı olmaksızın tarama süresini azaltır (VAN DE VOORT, 1992). Sinyal-gürültü oranı ilave edilen spektrum sayısının karekökü ile orantılıdır (TUCKERMAN, 1994). Dalgaboyu kalibrasyonunu korumak için bir dahili laser kullanılır. Laser kalibrasyonu, daha sonraki spektral toplama, çıkarma, oranlama, çizme ve "kütüphane" den tarama gibi veri işlemlerinin tam olarak gerçekleştirilmesini sağlar. Bilgisayar teknolojisinin FTIR enstrümanlarının temel bir parçası olmasından bu yana, güçlü yazılım-veri işleme yöntemleri bu sistemlerde yer almıştır; böylece spektral düzeltme, toplama, çıkarma ve pik bölgelerinin tanınması gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca rutin tanımlamalar ve/veya kantitatif amaçlar için özel spektral kütüphaneler geliştirilebilir ve depolanabilirken, bunların makroprogramlama kapasiteleri de otomatik rutin işlemlere olanak sağlamaktadır.

Gıdaların bileşimine yönelik analizler FTIR spektroskopide yararlanılabilen bir alanı oluşturmaktadır. Gıda sistemleri temel olarak yağlar, proteinler, karbonhidratlar ve sudan oluşurlar ki bunların hepsi de infrared spektruma katkıda bulunurlar. Karakteristik absorpsiyon bandları ile gıda bileşenleri arasında ilişkiler kurulabilmektedir. Karbonil ester ve CH yağları; amid grubu proteinleri; COH grupları karbonhidratları ve HOH bağlanması da su absorpsiyonunu göstermektedir. Su, IR spektrumunda güçlü absorpsiyon vermekle birlikte, diğer bileşenlerin oluşturduğu absorpsiyonları göstermek için spektrumdan rahatlıkla çıkarılabilir veya oranlanabilir (VAN DE VOORT, 1992).

bu işlemleri Fast Fourier Transform algoritmasını kullanarak gerçekleştirebilir. Emittans spektrumu, bir zemin emittans spektrumuna (solvent veya hava) karşı örneğin emittans spektrumunun oranlanması ile, transmittans ve absorpsans spektrumuna çevrilmelidir (VAN DE VOORT, 1992). Bilindiği gibi Fourier Transform tam anlamıyla bir integral hesaplamasıdır ve bu hesap bütün FTIR enstrümanlarının temel prensibini oluşturmaktadır.

$$I(\nu) = \int_0^{+\infty} i(x) [\cos 2\pi\nu x - i \sin 2\pi\nu x] \delta x$$

Burada,

- $i(x)$ = aynanın yer değiştirmesinin bir fonksiyonu olarak şiddet (interferogram)
- ν = frekans (sıklık derecesi)
- x = yer değişimi (cm) ni simgelemektedir.

İntegral sınırları sıfırdan (hareketli aynanın ZPD'deki konumu) sonsuza (hareketli aynanın ZPD'den sonsuz uzaklıkta iken ki konumu) kadardır (TUCKERMAN, 1994).

FTIR SPEKTROSKOPİ İÇİN ÖRNEK HAZIRLAMA VE UYGULAMA TEKNİKLERİ

A) TRANSMİSYON ÖLÇÜMLERİ

Transmisyon spektroskopisi, infredden yararlanılan örnek analizleri için en eski ve en temel tekniktir. Bu analiz metodu, örneğin spesifik dalga boylarındaki infrared ışığının absorpsiyonu esasına dayanır. Her bileşen kendisinin tanımlanmasına yardımcı olan tek bir infrared spektrumu gösterir. Absorpsiyonunun değeri Beer-Lambert Yasası $A = abc$ ile tanımlanır. Burada a = absorptivite katsayısı, b = yol uzunluğu ve c = konsantrasyondur. Bu temel yasa uygulayıcıların kantitatif bilgileri değerlendirmek için infrared verilerini kullanmalarına olanak sağlar. Küçük miktarlardaki örnekler, bir ışık yoğunlaştırıcı (kondansatör) ile bağlantılı uygun bir mikro örnek tutucu kullanılarak analiz edilebilir.

Sıvılarda Transmisyon

Transmisyon spektroskopide likidler bir likid hücresindeki iki pencere arasında ince bir film halinde sıkıştırılarak analiz edilirler. Hücresinin tipi, pencere materyalinin seçimi ve yol uzunluğu örneğe göre saptanır (ANONYMOUS, 1994a). Cam infraredi kuvvetli olarak absorplandığından deneyler için NaCl veya CaF_2 'den yapılmış malzemeler kullanılır (İBİŞ, 1990). Örnekler saf olarak veya uygun bir solvent ile seyreltilerek analiz edilebilir. Kantitatif analizlerde örnek, yol uzunluğu bilinen bir hücrede analiz edilmelidir. Farklı konsantrasyonlar için yol uzunluğu seçimine bir kılavuz olması amacıyla aşağıdaki bilgiler verilmiştir (ANONYMOUS, 1994a).

<u>Analitik konsantrasyon</u>	<u>Tipik yol uzunluğu</u>
> % 10	0.05 mm
% 10 - % 1	0.1 mm
% 1 - % 0.1	0.2 mm
< % 0.1	0.5 mm'den daha büyük

Katılarda Transmisyon

Transmisyon spektroskopisi ile katı örneklerin analizinde farklı metodlar geliştirilmiştir. İnce polimer filmler doğrudan bir filme tutucu kullanılarak analiz edilebilir. Katıların transmisyon spektrumları ince diskler hazırlanarak da elde edilebilir. Örnek, KBr gibi infrared geçirgen bir ortam ile birlikte karıştırılır ve elde edilen homojen toz karışım preslenerek bir disk elde edilir. Katıların analizi için bir başka metod, örneği Nujol gibi likid parafin ile karıştırarak, bunu iki infrared geçirgen pencere arasına sıvamaktır (ANONYMOUS, 1994a). Bütün çözücüler IR'de absorplanırlar. Bu nedenle çözücü olarak CS_2 ve CCl_4 gibi (IR'de) çok az absorpsiyon bandları gösteren çözücüler kullanılır. CCl_4 ve CS_2 'ün başka bir avantajı da polar olmadıklarından çözdükleri maddeleri solvasyon etkisi ile çok az etkilemeleridir (İBİŞ, 1990). Lifler ve diğer mikro örneklerin transmisyon çalışmaları için özel elmas sıkıştırma hücreleri mevcuttur (ANONYMOUS, 1994a).

Gazlarda Transmisyon

Gazlar standart sıcaklık ve basınçtaki (STP) sıvılar ve katılardan çok daha düşük yoğunluklara sahiptir. bu yüzden gazların transmisyon spektroskopisi için, sıvı ve katıların analizleri için kullanılanlardan daha uzun yol uzunluğu olan (genellikle 10 cm veya daha uzun) hücrelere ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle gazların düşük konsantrasyonları, birkaç metre uzunluktaki yol uzunluğu gerektirebilmektedir. Bu da arzu edilen yol uzunluğunu elde etmek için infrared ışığının örnek içinden birkaç kez geçirilmesini sağlayan multi-pass bir hücre kullanılarak gerçekleştirilir (ANONYMOUS, 1994a).

B) REFLEKTANS ÖLÇÜMLERİ

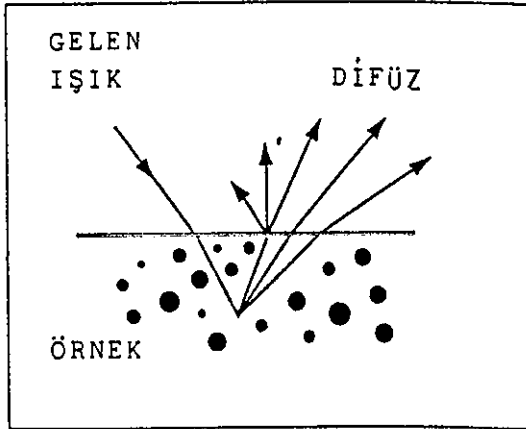
Transmisyon ile analiz edilmesi güç olan örnekler için reflektans spektroskopisi kullanılır. Reflektans ölçümleri iki kategoriye ayrılır: Harici reflektans ölçümleri, örnek yüzeyinden doğrudan yansıyan infrared

ışınları kullanılarak yapılır. Alternatif olarak dahili reflektans ölçümleri ise örneğe bağlanmış bir ATR elementi kullanılarak yapılır.

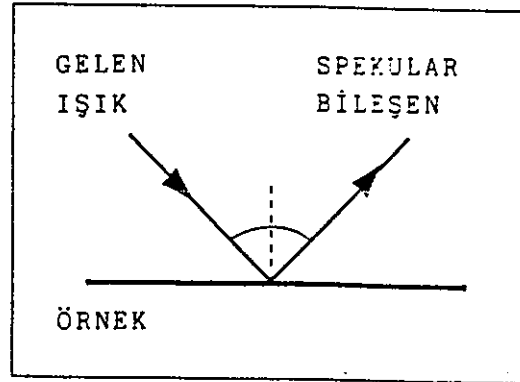
1) Harici reflektans: Difüz ve Spekular reflektans:

Harici yansımada, gelen ışık örneğin üzerine odaklandığında iki şekilde reflektans oluşabilir; difüz ve spekular. Bir ya da daha çok tanecikli geçiren enerji bütün doğrultularda yansır. Bu bileşen "difüz reflektans" olarak adlandırılır. Toz gibi yuvarlak bir yüzeyde spekular olarak yansıyan ışık, oluşacak spektruma ikinci derecede bir yardımcıdır. Dağılarak yayılan ışık topluluğu, doğrudan doğruya örnekten veya kolay işlenemeyen örnekler için, aşındırıcı bir örnek hazırlama pedi kullanılarak yapılabilir. Çoğu örnekler dağılarak yansıyan ışık verirler. Bunlar tozlar, lifler veya tekstil gibi mat yüzeyli örneklerdir (Şekil 2).

Spekular reflektans ise, mat veya parlak örnek yüzeyini bir ayna gibi kullanarak yansıyan yüzey ölçümleri için uygun bir metoddur. İnfrared ışığının yansıma açısı geliş açısına eşit olduğunda Spekular reflektans oluşur. Yansıyan ışığın miktarı geliş açısına, refraktif indekse, yüzey pürüzsüzlüğüne ve örneğin absorplama özelliklerine bağlıdır (Şekil 3). Genellikle bu uygulamalar, yüzey parlatma işlemi görmüş metaller, boyalar ve polimerler gibi yüzey tabakalarıyla ilgili çalışmalardır. Bu maksatla, sabit ve değişken giriş açılı aksesuarlar mevcuttur. İnce tabakalar içinde artan yol boyları, sıyrarak geçen giriş açıları (85°) kullanılarak sağlanır. Bu, duyarlılık artışı sağlar. Mikrometre kalınlık aralığında daha kalın tabakalar tipik olarak 30° lik açı kullanılarak çalışılır. Likid-hava ara yüzeyindeki tek tabakalı filmler, sıyrarak geçen bir geliş açısı kullanılarak da çalışılabilir. Bağ şiddetleri polarizasyonunun tip ve derecesi ile ilişkilidir (ANONYMOUS, 1994a). Katı örneklerin analize hazırlanması için yeni geliştirilmiş bir yöntemde, özellikle organik maddelerin metal bir yüzey üzerinde önce eritilip sonra hızlı soğutulduklarında elde edilen amorf veya mikrokristal halindeki filmlerin kullanımı önerilmektedir (FISCHER ve BADER, 1994).



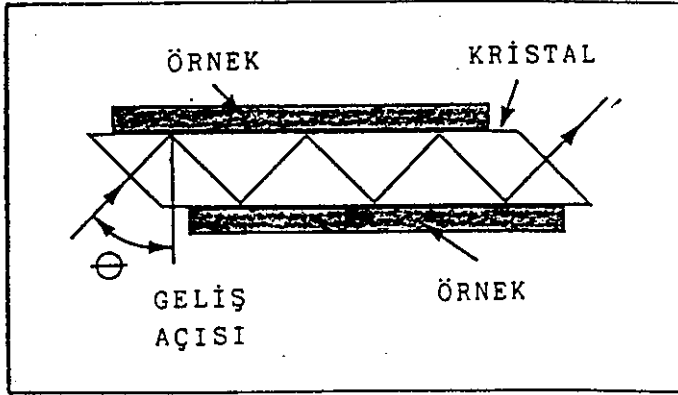
Şekil 2. Difüz Reflektans



Şekil 3. Spekular Reflektans

2) Dahili Reflektans: ATR (Atenuated Total Reflektans):

İnfrared ışığı, oldukça refraktif, infraredi yayararak geçiren bir materyalden yapılan ATR kristaline girdiğinde dahili bir reflektans oluşur. Kristal, yüzeyinde gözden kaybolan bir dalga yaratan toplam dahili yansımaya mümkün kılacak şekilde tasarlanır. Bu dalga kristale sıkı bir bağlantıyla tutunan örneğe yayılır. Sonuç olarak absorpsiyon spektrumları kaydedilebilir (Şekil 4). Örnekteki gözden kaybolan dalganın geçme



Şekil 4. ATR (Attenuated Total Reflectance)

yağların analiz edilen komponentinin, tanımlama ve ölçümlerden önce kaynağından ekstrakte edilmesi ve modifiye edilmesi gerekir. Örneğin, bir gıdanın trans yağ asidi içeriğini saptamak için, kantitatif analizden önce yağ ekstrakte edilir ve metil estere çevrilir. FTIR spektrometreler ise ATR aksesuarı ile birlikte gıda maddelerindeki sıvı ve katı yağ analizleri için hızlı ve minimum örnek hazırlığı ile kullanılabilir. Bunun için Zn-selenid kristalinin zemin spektrumu alınır. Sıvı örnekler (örneğin bitkisel yağlar) doğrudan aksesuarın örnek bölümüne aktılır. Katı örnekler ise (örneğin tereyağı, margarin) kristal üzerine sürülür. Sonra örneğin spektrumu kaydedilir. Şekil 5 ve 6'da sırasıyla tereyağı ve margarinin infrared spektrumları görülmektedir. Her iki örnek spektrumu da karakteristik yağ asidi piklerini içermekle birlikte (güçlü absorpsiyon pikleri 1740 ve 1150 cm^{-1} 'deki karbonil grupları ile eşlenir) aralarında önemli farklar da gözlemlenmektedir. Bunlar su içeriği (3400 ve 1650 cm^{-1}), cis doymamış yağ asidi (3030 cm^{-1}) miktarı ve trans doymamış yağ asidi (967 cm^{-1}) miktarından dolayıdır. Görülmektedir ki, margarin tereyağından daha fazla "doymamış" yağ asidi içermektedir. Trans doymamış yağları daha yüksek olan ısı işlem görmüş margarine ait bir spektrum Şekil 7'de, karakteristik bir bitkisel yağ olan % 100 saf zeytinyağının spektrumu ise Şekil 8'de görülmektedir. Bu spektrumlardan, bitkisel yağların daha yüksek oranda cis doymamış yağ asitlerini, hayvansal yağların da daha yüksek oranda trans doymamış yağ asitlerini içerdikleri görülmektedir (ANONYMOUS, 1994b).

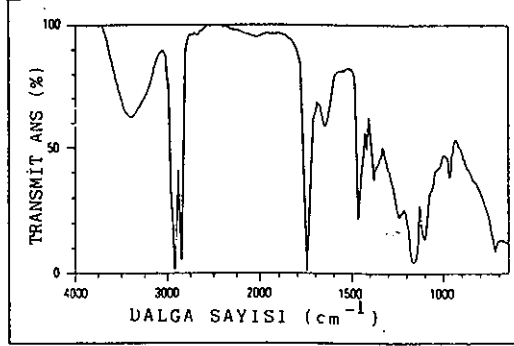
Sıvı ve katı yağlar için FTIR ile kantitatif analiz amaçlı yöntemler de geliştirilmiştir. FTIR tekniği ile yemeklik yağlardaki trans yağ asitlerinin kantitatif tayini için çeşitli araştırmalar yapılmıştır (ULBERT ve HAIDER, 1992). Bu araştırmalardan birinde yağ asiti metil esterlerindeki trans doymamışlığının kantitatif tayininde FTIR spektroskopisi metodu ve kapiler gaz kromatografi metodu ile hidrojene edilmiş örnekler için AOCS resmi metodu karşılaştırılmış ve bütün metotların benzer ve doğru sonuçlar verdiği görülmüştür (LANSER ve EMKEN, 1988). Tereyağı ve margarinlerde yağ ve su fazlarının saptanması amacıyla VAN DE VOORT ve arkadaşları (1993) tarafından ATR bağlantılı bir FTIR yöntemi geliştirilmiştir. Bu, margarin ve tereyağı- imalat prosesinin kalite kontrol zinciri için çok uygun bir yöntem olup, proses operatörüne zamanında imalatı kontrol etmesi ve düzeltmesi için olanak sağlar. Kullanılan yağ kimyasal metodlar zaman açısından üretimin kontrolünde kullanıma uygun değildir. Tereyağında yağ ve su oranını hesaplamak için susuz süt kaymağı ve su karışımlarının propanoldeki FTIR spektrumları kaydedilip, yağ ve su içeriği için, sırasıyla ester bağının karbonil piki yüksekliği (1748 cm^{-1}) ve suyun HOH bağlanma absorpsiyonunun pik yükseklikleri ölçülerek standart kalibrasyon eğrisi hazırlanmalıdır. Tereyağı ve margarin analizleri için, 2 g örnek alınır, 45°C 'deki 18 g propanolle karıştırılır, ısıtılmış ATR kristaline sıvanır. Spektrumu kaydedilir ve daha sonra kalibrasyon eğrisinden örneğin yağ ve su oranı hesaplanır (VAN DE VOORT ve ark., 1992). Kalibrasyon standartlarının hazırlanmasındaki kolaylıktan dolayı bu metod sadece tereyağı ve margarin için değil, tüm "sudaki yağ" veya "yağdaki su" emülsiyonları (örneğin

derinliği, kristal materyalinin ve geliş açısının bir fonksiyonudur. Daha derin geçme, ya da küçük bir geliş açısı veya daha düşük refraktif indeksli kristal ile sağlanır. Geçme derinliği aynı zamanda dalga boyu ile de artar (ANONYMOUS, 1994a).

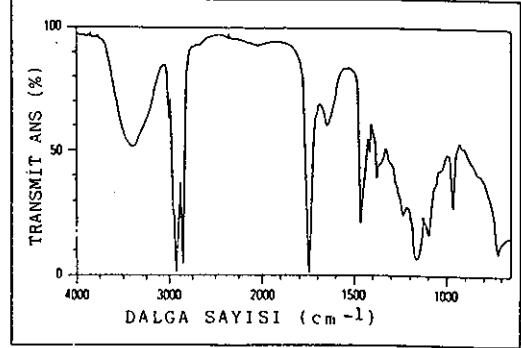
FTIR SPEKTROMETRENİN GIDA ANALİZLERİNDE BAZI KULLANIM ALANLARI

SIVI VE KATI YEMEKLİK YAĞLAR:

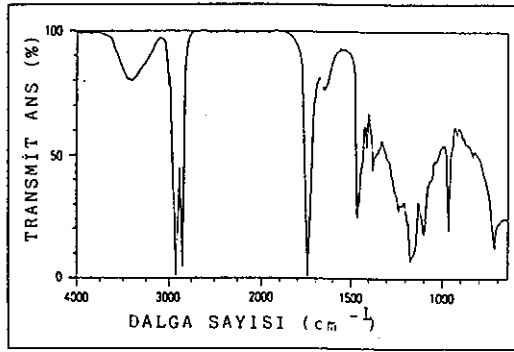
Geleneksel dispersif teknikler kullanılırken sıvı ve katı



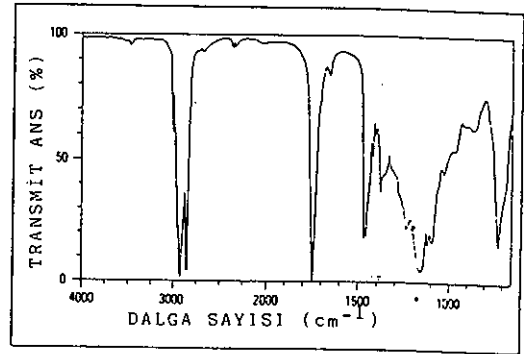
Şekil 5. Tereyağının ATR/FTIR Spektrumu



Şekil 6. Margarinin ATR/FTIR Sepktrumu



Şekil 7. Pişirilmiş Margarinlerin ATR/FTIR Spektrumu



Şekil 8. Saf zeytinyağının ATR/FTIR Spektrumu

mayonez, salata sosları, fıstık ezmesi) için yararlanılabilen bir analiz alanı oluşturmaktadır. Yer fıstığı ezmesi ve mayonez gibi yüksek yağlı ürünlerdeki yağ ve su oranlarının saptanması için geliştirilmiş özel bir FTIR metodunda, yer fıstığı ezmesi ve mayonezdeki su ve yağı çözmek için 1-propanol kullanılmıştır. Örnek 100 μm CaF hücre sine pompalanmış, 1748 cm^{-1} 'deki C=O gerilme titreşimi ve 1650 cm^{-1} 'deki HOH bağı absorpsiyonları ölçülmüştür. Kalibrasyon standartları, saf bileşenlerin propanolde çözünmesiyle veya propanole, Mojonner metodu ile yapısı ayrıştırılmış örneğin değişik miktarlarının ilavesi ile hazırlanır. Yöntem, örneğin absorpsiyon piklerinin yüksekliklerinin, hazırlanan bu kalibrasyon standartlarının bilinen yağ ve su değerlerinin pik yüksekliklerine oranlanması esasına dayanmaktadır (VAN de VOORT ve ark., 1993).

Sıvı ve katı yağlarda serbest yağ asitlerinin kantitatif olarak hesaplanması için transmisyon ve ATR yaklaşımları esasına dayanan direkt ve indirekt, hızlı FTIR spektrometre metodları da geliştirilmiş ve bunlar AOCS referans titrasyon metodu ile doğruluk ve kesinlik açısından karşılaştırılabilir sonuçlar vermiştir (İSMAİL ve ark., 1993). Yapılan bir başka çalışmada, hasar görmüş soya fasulyelerinden ekstrakte edilen ham yağlarda FTIR ile serbest yağ asitleri analizleri yapılmış, elde edilen veriler AOCS resmi titrasyon metodunun verileri ile karşılaştırılmış ve çok yüksek korelasyonlar bulunmuştur (LANSER ve ark., 1991). Ayrıca sıvı ve katı yağlarda iyot değeri (IV) ve sabunlaşma sayısı (SN) gibi parametrelerin analizi için de FTIR metodları geliştirilmiştir. Geleneksel metodlar yorucu ve zaman tüketici iken, FTIR metodları kullanışlı, hızlı (yaklaşık 2 dakika/örnek) ve otomatiktir (VAN DE VOORT, 1992). FTIR spektrometre

ile yemeklik yağların oksidasyon kontrolü de yapılabilmektedir. Bunun için çeşitli koşullar altında okside olan yağların spektral değişimleri kaydedilir ve yağın oksidatif durumunun tanımlanabildiği hidroperoksit, alkol ve karbonil yüzdeleri içeriği ile ve son oksidatif ürünlerin spektroskopik olarak temsilcisi olan standartların kullanıldığı bir kantitatif yaklaşım izlenir (VAN DE VOORT ve ark., 1994).

ŞEKERLER, MEYVE SULARI VE HAFİF İÇECEKLER

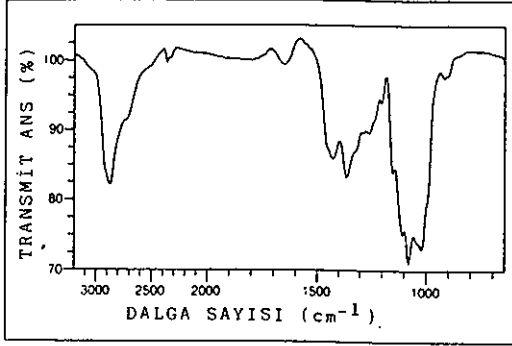
Sulu çözelti içindeki şekerler, ATR/FTIR ile tanımlanabilir ve kantitatif olarak tayin edilebilirler. Bu konudaki önemli bir kalite kontrol uygulaması glikoz üretiminde dekstroz eşitliği (DE) ve kurumadde ölçümlerinin ATR kullanılarak yapılabilmesidir. DE değeri özellikle nişastasının şuruba çevrilmesi ile elde edilen tatlandırma tozlarının önemli bir kalite ölçüsüdür. Bu değerın standart bakır sülfat titrasyon metodu ile alternatif tayini ise zaman ve reaktif tüketici bir yöntemdir (VAN DE VOORT, 1992).

Meyve suyu tağışşileri mevzuat açısından ve ekonomik yönlerden önemli sorunlardır. Meyve sularının tanımlanması ve tağışşilerin tespiti için FTIR kullanımı mümkündür. Bu amaçla doğal meyve suları için bir spektral kütüphane oluşturulur. Örnek tanıma teknikleri esasına dayanan spektral taramalar ile, standart koşullar altında alınan bir meyve suyu spektrumunun, spektral kütüphanedekilere ne kadar benzediği belirlenir. Eğer bir meyvesuyu bu yöntem ile tanımlanamazsa, örneğin ya ana bileşenlerinin (şekerler, aminoasitler veya karboksilik asitler) göreceli oranları veya minör bileşenlerin (katkı maddeleri vb.) parmak izi bölgesine katkısı ile tipik olmayan bir meyve suyu olduğu sonucuna varılır. Spektral açıdan zayıf korelasyon gösteren kuşku örnekler, değiştirilmiş tipik bileşen oranlarının bulunup bulunmadığını saptamak için, daha sonra PLS yöntemi (Partial Least Squares) kullanılarak ana bileşenleri için kantitatif analize tabi tutulur. Ancak bu metodolojinin standardizasyonu için çalışmalar halen devam etmektedir (VAN DE VOORT, 1992).

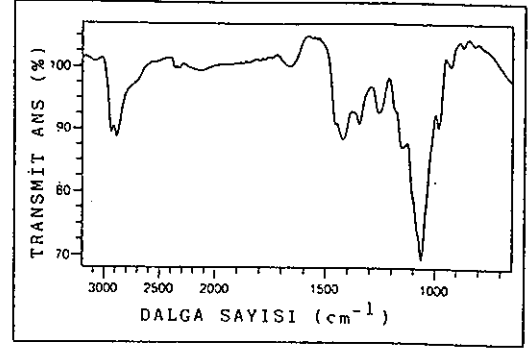
ATR/FTIR, Maillard ara eaksiyonlarının oluşumunu ve indirgen şekerlerin göreceli reaktivitesini saptamak için de kullanılmaktadır. Şekerlerin reaktivitelerinde önemli bir faktör olan sıcaklık ve pH'nun bir fonksiyonu olarak gerek aldehit gerek keton indirgen şekerlerinin açık zincir izomerlerinin göreceli oranları FTIR ile bulunabilir. FTIR aynı zamanda indirgen şekerlerin basit izomerizasyon kinetiklerinin saptanması bakımından da kolaylık sağlar (VAN DE VOORT, 1992).

Çeşitli meyve suları ve hafif içkilerdeki değişik şekerlerin kalitatif ve kantitatif analizleri için de FTIR spektrometrik metotlar üzerinde çalışılmıştır. Bunun için örneğin glikozun % 5, 10, 15, 20 ve 30 (ağırlık/hacim) oranlarında suda çözünmesiyle elde edilen bir dizi standart glikoz çözeltisi hazırlanmış, bununla bir standart korelasyon eğrisi elde edilmiş ve her konsantrasyonda 1033 cm⁻¹'deki glikozun absorpsiyon pikinin şiddetli belirlenmiştir. Çeşitli meyve suyu içeceklerindeki glikoz konsantrasyonunu hesaplamak için bu standart korelasyon eğrisi kullanılmıştır. Şekil 9, 10 ve 11'de % 25'lik sulu çözeltiler halinde glikoz, fruktoz ve sukrozun infrared spektrumları görülmektedir. Bu üç spektrum kimyasal yapılarından dolayı çok benzerdir. Gerçekte, glikoz (bir aldehit, 1653 cm⁻¹'de karbonil) ve fruktoz (bir keton, 1654 cm⁻¹'de karbonil) birbirinin izomeridir ve her ikisi de düz zincirli monosakkaritlerdir. Sukroz ise halkalı yapıda, bir glikoz ve bir fruktoz içeren bir disakkarittir. Bu spektrumlar arasındaki benzerlik, şeker karışımlarının tanımlanmasının ne kadar güç olduğunu göstermektedir, ancak bu olanaksız demek de değildir (ANONYMOUS, 1994c).

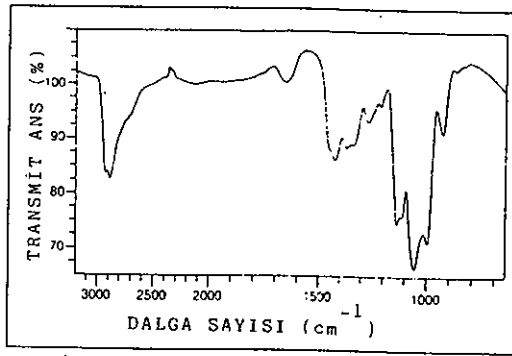
Son yıllarda tüketici talebi doğrultusunda "diyet gıda" olarak bilinen düşük şekerli gıdalar ve düşük kalorili tatlandırıcıların üretiminde artış olmuştur. Bunlardan en yaygın bilineni "sakkarin"dir. Sakkarinin %25'lik sulu çözeltisinin infrared spektrumu Şekil 12'de görülmektedir. Sakkarinin yapısı daha önce adı geçen üç doğal sakkaritten bütünüyle farklı olup, kimyasal yapısı sodyum tuzu olarak çözeltilde bulunan heterosiklik sekonder sülfonamiddir. İçerdiği karbonil grup (1579 cm⁻¹) ve sülfon grupları (1339 cm⁻¹ ve 1149 cm⁻¹)'ndan dolayı tanımlanabilmektedir (ANONYMOUS, 1994c).



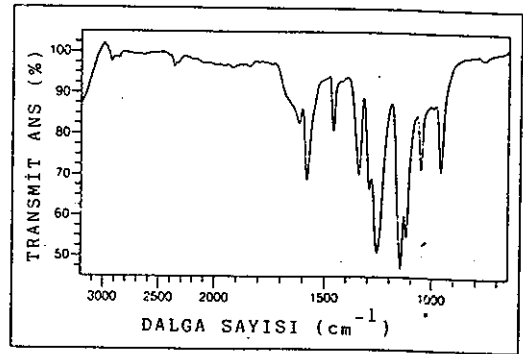
Şekil 9. Glikozun FTIR Spektrumu



Şekil 10. Fruktozun FTIR Spektrumu



Şekil 11. Sukrozun FTIR Spektrumu



Şekil 12. Sakkarin'in FTIR Spektrumu

SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Yukarıda verilen uygulama örneklerinden de görüleceği üzere, FTIR spektroskopisi diğer analitik alanlarda olduğu gibi, değişik amaçlı gıda analizlerinde de gelecek vaad eden güçlü bir tekniktir. Cihaz için ilk yatırım fiyatının yüksek olmasına karşın, gerek rutin kontrol gerekse araştırma maksatlı gıda analizlerinde uygulama kolaylığı, çabukluğu, tekrarlanabilirliği ve reaktif gerektirmemesi gibi temel avantajları bulunmaktadır. Ancak geliştirilen her FTIR yönteminin, daha önce aynı maksatlı geliştirilmiş, klasik standart yöntemle korelasyonunun mutlaka saptanması zorunluluğu vardır.

KAYNAKLAR

- ANONYMOUS, 1994a. Sampling Techniques for Infrared Analysis, Philips Scientifics Teknik Broşürü.
- ANONYMOUS, 1994b. The Analysis of Oils and Fats by FTIR Spektrometry, Philips Scientifics Teknik Broşürü.
- ANONYMOUS, 1994c. Analysis of Sugars in Soft Drinks by FTIR Spektrometry, Philips Scientifics Teknik Broşürü.
- FISCHER, G. ve BADER, M., 1994. Melt Film Technique for IR Spectroscopy, International Laboratory, (Oct.) 15-18.
- İBİŞ, C., 1990. Organik Analiz ve Organik Reaksiyonlar, İ.Ü. Müh. Fak. Kimya Bölümü Organik Kimya Anabilim Dalı, 103-110.
- İSMAİL, A.A., VAN DE VOORT, F.R., EMO, G. ve SEDMAN, J., 1993. Rapid Quantitative Determination of Free Fatty Acids in Fats and Oils by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, JAOCS, 70(4) 335-341.
- LANSER, A.C. ve EMKEN, E.A., 1988. Comparison of FTIR and Capillary Gas Chromatographic Methods for Quantitation of Trans Unsaturation in Fatty Acid Methyl Esters. JAOCS, 65 (9) 1483-1487.
- LANSER, A.C., LIST, G.R., HOLLOWAY, R.K. ve MOUNTS, T.L., 1991. FTIR Estimation of Free Fatty Acid Content in Crude Oils Extracted from Damaged Soybeans, JAOCS, 68 (6) 448-449.
- SANDERS, R.A., 1984. Applications of Fourier Transform Infrared Spectroscopy in the Field of Foods and Beverages, Section 17, 553-583. Edt. CHARALAMBOUS, G., Analysis of Food and Beverages, Modern Techniques. Academic Press, Inc., 1984.
- TUCKERMAN, R., 1994. Principles of FTIR Spectrometry, Philips Scientific Teknik Broşürü.
- ULBERT, F. ve HAIDER, H.J., 1992. Determination of Low Level Trans Unsaturation in Fats by Fourier Transform Infrared Spectrometry, Journal of Food Science, 57 (6) 1444-1447.
- VAN DE VOORT, F.R., 1992. Fourier Transform Infrared Spectroscopy Applied to Food Analysis, Food Research International, (25) 397-403.
- VAN DE VOORT, F.R., SEDMAN, J., EMO, G. ve ISMAIL, A.A., 1992. A Rapid FTIR Quality Control Method for Fat and Moisture Determination in Butter. Food Research International, (25) 193-198.
- VAN DE VOORT, F.R., SEDMAN, J. ve ISMAIL, A.A., 1993. A Rapid FTIR Quality Control Method for Determining Fat and Moisture in High-Fat Products, Food Chemistry, (48) 213-221.
- VAN DE VOORT, F.R., ISMAIL, A.A., SEDMAN, J. ve EMO, G., 1994. Monitoring the Oxidation Edible Oils by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, JAOCS, 71 (3) 243-253.