

## PTR-MS TEKNİĞİNİN GIDA ANALİZLERİNDE KULLANIMI

Özgül Özdehan\*

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova-İzmir

Geliş tarihi / *Received*: 13.09.2012

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 17.01.2013

Kabul tarihi / *Accepted*: 07.02.2013

### Özet

Gıda bilimi ve teknolojisi alanında uçucu organik bileşikler önemli bir konu başlığını teşkil etmektedir. Bu bileşikler gıdanın lezzetini oluşturan maddelerdir. Lezzet bileşenlerinin hızlı tespiti ürün kalitesinin tespitini, temel ve endüstriyel işlemlerin izlenmesini kolaylaştırmaktadır. Proton Transfer Reaksiyonu-Kütle Spektrometresi (PTR-MS) teknolojisi uçucu organik bileşiklerin gerçek-zamanlı olarak ölçümünü sağlamaktadır. İşlemin prensibi, çok sayıda uçucu organik bileşik ile  $H_3O^+$  iyonlarının reaksiyonuna dayanmaktadır fakat bu iyonlar temiz havadaki hiçbir bileşik ile reaksiyona girmemektedir. PTR-MS sağlık, çevre ve gıda analizlerinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, PTR-MS'in gıda araştırmalarında kullanımı meyve, sebze, zeytinyağı, tereyağı, peynir, şarap, kahve ve et örneklerinde yapılan çalışmalar ile tartışılmıştır. Bu derlemede öncelikle PTR-MS'in genel çalışma prensibinden ve kullanım alanlarından bahsettikten sonra, gıda analizlerinde PTR-MS'in kullanımı anlatılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Proton transfer reaksiyonu-kütle spektrometresi, PTR-MS, gıda, uçucu organik bileşik

## APPLICATION OF PTR-MS TECHNIQUE FOR FOOD ANALYSES

### Abstract

Volatile organic compounds are a major topic in food science and technology. These compounds form the flavor of foods. Their fast, non-invasive detection helps to control product quality and to monitor fundamental and industrial processes. Proton Transfer Reaction – Mass Spectrometry (PTR-MS) technology enables real-time measurement of volatile organic compounds. The method is based on reactions of  $H_3O^+$  ions with most of the common volatile organic compounds (VOCs) but do not react with any of the components present in clean air. PTR-MS is applied in medical, environmental and food researches. Examples of food research are discussed on the basis of VOC emissions from fruit, vegetable, olive oil, butter, cheese, wine, coffee and meat. After introducing the principles and application areas of PTR-MS, we reviewed its applications in food science and technology.

**Keywords:** Proton transfer reaction-mass spectrometer, PTR-MS, food, volatile organic compounds

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ ozgul.ozdehan@ege.edu.tr,

☎ (+90) 232 311 1315

☎ (+90) 232 342 7592

## GİRİŞ

Teknik olarak incelendiğinde, gaz kromatografisi (GC) yöntemi gıdalarda uçucu organik bileşiklerin analiz edilerek belirlenmesinde kullanılan referans bir yöntemdir. Fakat uçucu organik bileşiklerin belirlenebilmesi için GC yönteminden daha hızlı ve daha basit yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Bu ihtiyaçtan dolayı farklı yöntemler arayışına girilmiştir (1). Özellikle tarım endüstrisindeki hızlı proseslerin anında izlenmesi için (2, 3) ve gıdanın tüketimi sırasında ağza alındıktan sonraki işlemlerin takibi için hızlı bir yönteme ihtiyaç duyulmaktadır (4).

Proton transfer reaksiyonu-kütle spektrometresi (PTR-MS) teknolojisi organik uçucu bileşiklerin gerçek zamanlı ölçümünü sağlayan hızlı bir teknolojidir. Orijinal olarak Avusturya'da Innsbruck Üniversitesindeki bilim adamları tarafından geliştirilmiştir. İlk PTR-MS cihazının satılması 1998 yılında gerçekleştirilmiştir. PTR-MS cihazlarının tespit limiti ppt (tepe boşluğundaki konsantrasyon) düzeylerindedir (5).

PTR-MS kalibrasyona ihtiyaç duymadan anında kantitatif analize imkan tanımaktadır (<100 ms). Bu sistemde öncül reaktif iyonların ortaya çıkması ve organik uçucu bileşiklerin kimyasal iyonizasyonu bireysel olarak kontrol edilmektedir.  $H_3O^+$  iyonları temiz havadaki temel bileşiklerin hiçbiri ile reaksiyona girmemektedir. Bunun nedeni de düşük proton yatkınlıklarıdır. PTR-MS diğer bazı teknolojilerden (örneğin SIFT-MS) farklı olarak taşıyıcı bir gazla örnekleri seyreltmemektedir. Ayrıca öncül iyonları, iyon kaynağı ve sürüklenme tüpü arasında kütle filtresinde kaybetmemektedir. Bu özellikler PTR-MS'in iz miktardaki gazlara oldukça duyarlı olmasını sağlamaktadır.  $H_3O^+$  iyonlarından proton transferi yumuşak bir iyonizasyon yöntemidir. Bu da elektron çarpışma iyonizasyon yönteminin kullanıldığı GC-MS'e göre parçalanma oranlarını oldukça düşük düzeyde tutmaktadır. Ayrıca  $H_3O^+$  iyonu yanında opsiyonel olarak  $NO^+$  ve  $O_2^+$  reaktif iyonları da kullanılabilir. Bu da izomerik bileşiklerin ayırımına olanak sağlamaktadır. PTR-MS'in en önemli avantajı ölçüm öncesi konsantre etme ya da kimyasal ayırma gibi bir ön işleme ihtiyaç duyulmamasıdır. Burada herhangi bir örnek hazırlama işlemine gereksinim duyulmamaktadır. PTR-MS cihazlarının farklı alternatifleri bulunmaktadır. Kuadropol kütle filtreleri veya uçuş zamanlı (izobarik ürün iyonlarını ayırmak için) sistemler kullanılabilir. Ağırlıkları oldukça az ve yerden tasarruf sağlayan cihazlar olup, cihazı

açtıktan 15 dk sonra çalışmaya hazır hale gelmektedirler (5). Proton Transfer Reaksiyonu-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (PTR-TOF-MS) de hızlı bir yöntem olup, bileşiklerin tam olarak tanımlanmasında GC-MS ile beraber kullanımı daha sağlıklı sonuçlar vermektedir. PTR-TOF-MS çok düşük konsantrasyonlarda bulunan uçucu bileşenlerin tanımlanmasını sağlayan, izobarik moleküllerinde iyi bir şekilde ayırımı sağlayan, net sonuçlar veren bir yöntemdir (6).

## PTR-MS CİHAZININ KISIMLARI VE ÇALIŞMA PRENSİBİ

PTR kaynağı yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi ile bir arada kullanıldığında izobarik bileşikler ayrılabilir ve kütlelerine göre tanımlanabilirler (7). PTR-MS sistemi ppt seviyesindeki uçucu bileşenlerin zamana bağlı olarak tespitinde kullanılmaktadır. Yöntem  $H_3O^+$  iyonlarının reaksiyonuna dayanmaktadır (8). Yöntemde herhangi bir örnek hazırlama basamağı bulunmamaktadır, duyarlı bir yöntemdir ve hızlı ölçümler yapılmaktadır (1 adet kütle spektrumu eldesi <1 dk'dır). Parmak izi özelliği gösteren kütle spektrumu duyuşal özellikler ile korele edilebilmektedir (9, 10). Bir bileşiğin PTR-MS spektrumunda görülebilmesi için tepe boşluğu konsantrasyonunun 1 ppb veya üzerinde olması gerekmektedir (11). PTR-MS cihazının kısımları sırasıyla iyon kaynağı, PTR sürüklenme tüpü ve kuadropol temelli kütle spektrometresinden oluşmaktadır (5).

PTR-MS'in temel işlemi aşağıdaki gibi (a) kodlu reaksiyon ile ifade edilebilmektedir.



Burada görüldüğü gibi protonlanmış su ( $H_3O^+$ ) iz miktardaki gaz (R) ile interaksiyona girmektedir. Bu interaksiyon sırasında  $H_3O^+$ 'dan bir proton gaz molekülüne transfer olmaktadır. Sonuçta iyonize molekül ( $RH^+$ ) ve nötral su molekülü ( $H_2O$ ) oluşmaktadır. Yukarıdaki bu reaksiyon proton ilgisi (166.5 kcal/mol) sudan fazla olan tüm uçucu organik bileşikler için geçerlidir. Proton ilgisi sudan az olanlar başka reaktif iyonlar kullanılarak tespit edilebilmektedir.

## İyon Kaynağı

(a) reaksiyonu ile etkin bir iyonizasyonun sağlanabilmesi için bol miktarda  $H_3O^+$  iyon kaynağına ihtiyaç duyulmaktadır. İyon kaynağında  $H_2O$  oyuk katot boşluğunda parçalanmaktadır. İkinci adımda parçalanmış iyonlar ile protonlanmış su iyonları ( $H_3O^+$ ) tekrar birleşmekte ve bu yüzden direkt olarak PTR sürüklenme tüpü, kütle filtresine

ihtiyaç olmadan enjekte edilebilmektedir. Bu şekilde birincil iyonların kaybı önlenmiş olacaktır ve daha iyi tespit limiti sağlanacaktır.

### **PTR Sürüklenme (Drift) Tüpü**

PTR sürüklenme tüpünde (a) kodlu iz miktardaki gaz molekülün iyonlaşma reaksiyonu meydana gelmektedir. PTR işlemi aşağıdaki eşitliği takip etmektedir.

$$[RH^+] = [H_3O^+]_0 (1 - e^{-k[R]t}) \quad (b)$$

Bu eşitlik iyi bir varsayım ile aşağıdaki gibi basitleştirilebilmektedir:

$$[RH^+] \approx [H_3O^+]_0 [R]kt$$

Eğer  $[RH^+] \ll [H_3O^+]_0$   $[H_3O^+]_0 = \text{sabit (c)}$

(b) ve (c) kodlu eşitliklerde  $[RH^+]$  protonlanmış iz elementlerin yoğunluğunu ifade etmektedir.  $[H_3O^+]_0$  birincil iyonların yoğunluğunu ifade etmektedir (nötral reaktantların  $[R]$  yokluğunda),  $k$  reaksiyon hızı katsayısını ifade etmektedir.  $t$  ise reaksiyon bölgesinde iyonların ortalama geçirdiği zamanı ifade etmektedir. Proton ilgisi suyun proton ilgisinden yüksek olan bileşikler PTR reaksiyonuna girmektedir. Havadaki bileşiklerin çoğu ( $N_2$ ,  $O_2$ ,  $Ar$ ,  $CO_2$  vb.) sudan daha düşük proton ilgisine sahiptir. Hava tampon gaz gibi davranmaktadır ve yalnızca uçucu bileşikler iyonize olmaktadır. Elektron çarpışma iyonizasyonu ile kıyaslandığında, PTR işleminde enerji transferi çok düşüktür. Bu iyonların parçalanmasını baskılamaktadır (5).

### **Konsantrasyonun Belirlenmesi**

Ortalama zaman ( $t$ ) sistem parametrelerinden hesaplanabilmektedir (sürüklenme voltajı, basınç, sıcaklık vb.). Reaksiyon hız sabiti ( $k$ ) literatürde çok sayıda madde için mevcuttur (alternatif olarak hesaplanabilir ya da deneysel olarak belirlenebilir). (c) kodlu eşitlikte bulunan tüm değişkenleri bilerek analiz edilen örnekteki uçucu bileşenlerin konsantrasyonunu hesaplamak mümkündür.

$$\text{Konsantrasyon (ppbv)} = C * [RH^+] / [H_3O^+] \quad (d)$$

PTR-MS yazılımı tarafından (d) kodlu eşitlik için gerekli tüm veriler hesaplanabilmektedir ( $C$  sabiti,  $k$ ,  $t$  ve bir çevrim faktörünü içermektedir). Bu şekilde kullanıcı monitörde ppb(v) veya ppt(v) olarak uçucu bileşenlerin konsantrasyonunu izleyebilmektedir (5).

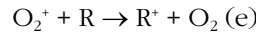
### **PTR+SRI-MS (Proton Transfer Reaksiyonu-Değiştirilebilir Reaktif İyonu-Kütle Spektrometresi)**

PTR-MS sisteminin prensibi, çok sayıda uçucu organik bileşik ile  $H_3O^+$  iyonlarının reaksiyonuna dayanmaktadır. Fakat çoğu PTR-MS cihazında,

$NO^+$  ve  $O_2^+$  kullanımı organik uçucu bileşenlerin tanımlanmasında ve proton ilgisi  $H_2O$ 'dan düşük olan organik uçucu bileşiklerin tespitinde gerekli olabilmektedir. PTR+SRI-MS bu amaçla kullanılmaktadır.

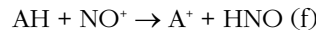
### **$O_2^+$ ile İyonizasyon**

$O_2^+$  ile bileşikler (e) kodlu eşitliğe göre iyonize olmaktadır.

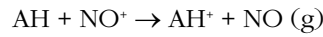


### **$NO^+$ ile İyonizasyon**

$NO^+$  ile iyonizasyon çok sayıda izomerik molekülün ayrılmasında ve tanımlanmasında kullanılmaktadır.  $NO^+$  ile aldehitler reaksiyona girdiğinde hibrid iyonları transferi gerçekleşmektedir. Bu işlem (f) kodlu eşitlikte tanımlanmaktadır. H kaybından dolayı ürün iyonları moleküler kütlelerinden 1 amu düşük olmaktadır.



Ketonlar için (g) kodlu reaksiyon gerçekleşmektedir.



Bu durumda  $NO^+$  iyonizasyonunda farklı kütlelerde izomerik bileşikler oluşmaktadır bu şekilde ayırma gerçekleşmektedir (5).

PTR-MS havadaki uçucu organik bileşiklerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesinde kullanılan analitik bir yöntemdir. Ayrıca gıdaların kalitelerinin değerlendirilmesinde de yaygın bir kullanım alanı vardır. Bu analizde örnek hazırlama basamağının olmaması oldukça fazla zamandan kazanç sağlamaktadır. Yöntem oldukça yüksek bir duyarlılığa sahiptir. Analizlerde kullanılan birincil iyon  $H_3O^+$ 'dur. Aldehit, keton, ester, karboksilli asitler vb. gibi çoğu uçucu organik bileşiğin protonlanması için  $H_3O^+$  iyonları oldukça uygundur. PTR-MS gıdalardaki uçucu bileşenlerin kompozisyonu ve miktarının gerçek zamanlı olarak izlenmesini sağlayan bir sistemdir (12). Ayrıca PTR-MS sonuçları ile duyu analizi sonuçları kıyaslanmakta ve aralarındaki ilişki değerlendirilmektedir (13).

### **PTR-MS'İN GIDA ANALİZLERİNDE KULLANIMI**

Literatürde gıdaların işlenmesi (14), meyvenin depolanması (15), gıdaların tüketilmesi (16) sırasında tepe boşluğu tekniği ile uçucu organik bileşiklerin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar mevcuttur. PTR-MS'in performansı elektron iyonizasyon kütle spektrometresi (EI-MS) yöntemi ile doğrusallık, çözünürlük ve tespit limiti açısından kıyaslanabilir. PTR-MS tek boyutlu bir yöntem olup, standart analiz koşullarında izobarik ve izomerik bileşiklerin ayrılması olası değildir (12).

PTR-MS'in farklı kullanım alanları olmakla beraber gıda, sağlık ve çevre analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (8, 17, 18).

Etiketlerinde açık ve güvenilir bilgileri içeren yüksek kalitedeki gıdaların tüketimine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle bu bilgilerin doğrulanması ve kalite kontrol için uygun analitik tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır (19). Gıdaların net olarak tanımlanabilmesi, üzerinde yazan bilgilerin doğruluğunun tespiti ve de orijin tespiti için uygun analitik tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır. İzotop analizi, spektroskopi (UV, NIR, MIR, görünür bölge, Raman), kromatografi, uçucu madde analizi, PCR, ELISA ve termal analiz gıdaların tanımlanmasında 2001 yılından beri başarılı bir şekilde uygulanan temel tekniklerdir (20). Bu teknikler temelde 4 ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar; kütle spektrometresi teknikleri, spektroskopik teknikler, ayırma teknikleridir (19). PTR-MS gıdaların coğrafik orijininin tespitinde kullanılan uygun bir tekniktir. Son yıllarda çok sayıda gıda laboratuvarında PTR-MS kullanılmaktadır (21-25).

PTR-MS gıdaların tanımlanması, sınıflandırılması ve proseslerin izlenmesinde (parmak izi eldesi) kullanılan bir tekniktir. Diğer bir olasılıkta elde edilen sonuçlar ile duyuşsal analiz sonuçlarının kıyaslanmasıdır. PTR-MS hızlı sonuç veren ve duyarlı bir yöntemdir (18).

Bu teknik sütün yağ oranına göre sınıflandırılmasında (26), tereyağının sınıflandırılmasında (27), "Trentingrana" peynirinin duyuşsal analiz sonuçları ile PTR-MS sonuçları arasında korelasyon kurmak için (10), çileğin kültürünün tanımlanmasında (28), portakal sularının duyuşsal özellikleri ile PTR-MS sonuçları arasında korelasyon kurmak için (9), zeytinyağının coğrafik orijininin tespitinde (29), çilek kültürünün tanımlanmasında (30), bebek mamalarının uçucu bileşiklerinin tanımlanmasında (31) kullanılmıştır.

PTR-MS spektrumu özet olarak gıdaların orijinine ve genetik özelliklerine göre sınıflandırılmasında, kalite kontrol amacıyla, GC-MS veya duyuşsal analiz sonuçlarını doğrulamak veya onlarla korelasyonunu tespit etmek için, kantitatif olarak uçucu organik bileşiklerin tespitinde, bileşiklerin tanımlanmasında kullanılmaktadır (18).

#### **Gıdaların Tanımlanması ve Sınıflandırılmasında PTR-MS Kullanımı**

Gıdaların kalitesine, orijinine ve genetik özelliklerine göre sınıflandırılması gıda sektöründe oldukça önemlidir. PTR-MS teknolojisi bu sorulara yanıt vermektedir. 2003 yılında konuyla ilgili ilk çalışma

yayınlanmıştır. Bu çalışmalarda PTR-MS, farklı işlem koşullarına göre üretilen meyve sularının birbirinden ayrılmasında ve 9 farklı çilek kültürünün birbirinden ayrılması için kullanılmıştır. PTR-MS'in gıdalarda coğrafik orijin tespitinde, ham maddelerin sınıflandırılmasında ve üretim proseslerinin sınıflandırılmasında kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (32, 33). Örneklerin PTR-MS sonuçlarına göre sınıflandırılmasında istatistiksel yöntem olarak temel bileşen analizi (PCA) kullanılmaktadır (12). Son yıllarda bu amaçla PCA'den daha çok kısmi en küçük kareler yöntemi-ayırma analizi (PLS-DA) kullanıldığı da görülmektedir (18).

Granitto ve ark. (30) tarafından gerçekleştirilen çalışmada çilek kültürlerinin tanımlanması amaçlanmıştır. Bunun için PTR-MS cihazında uçucu bileşenler belirlenmiştir. Örnekler 3 yılda toplanmıştır ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Farklı sınıflandırma yöntemleri kullanılmış ve bunların performansları incelenmiştir. Elde edilen spektrumlara göre sonuçlar değerlendirilmiştir.

Literatürler incelendiğinde mantarların coğrafik orijinlerine göre sınıflandırılması (33) ve yağların ham madde veya üretim proseslerine göre sınıflandırılmasında (32) PTR-MS'in kullanıldığı görülmektedir. Macatelli ve ark. (27) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada PTR-MS PLS-DA ile beraber Avrupa'da üretilen tereyağlarının orijininin tespitinde kullanılmıştır. 3 farklı bölgeden elde edilen 83 adet tereyağı örnekleri tepe boşluğu-PTR-MS tekniği ile belirlenmiştir. Veriler m/z 20-150 aralığında elde edilmiştir.

Araghipour ve ark. (29) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada 5 farklı Avrupa ülkesinde 192 farklı zeytinyağında bulunan uçucu bileşenler tepe boşluğu-PTR-MS tekniği ile tespit edilmiştir. Örnekleri ülke, bölge ve şehre göre sınıflandırmak için 3 farklı PLS-DA modeli uygulanmıştır. Zıt-validasyon ile doğru sınıflandırma oranları elde edilmiştir.

Heenan ve ark. (34) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ekmekte bulunan uçucu bileşenler ölçülmüş, duyuşsal özellikleri belirlenmiştir. 20 farklı ekmek örneğinin uçucu bileşenleri PTR-MS ile belirlenmiş ayrıca duyuşsal analizde yapılmış bu şekilde elde edilen sonuçlar ile ekmeğin tazeliği hakkında bilgi sahibi olunmuştur.

Ruiz-Samblás ve ark. (35) tarafından gerçekleştirilen çalışmada PTR-MS kullanılarak 5 farklı meyve çeşidinden üretilen 30 farklı sızma zeytinyağında uçucu organik bileşik analizi yapılmıştır. PLS-DA ile sonuçlar değerlendirilmiştir. Zeytinyağını çeşide

göre sınıflandırmanın PTR-MS sonuçlarına göre gerçekleşebileceği ifade edilmiştir.

Van Ruth ve ark. (32) tarafından gerçekleştirilen çalışmada hayvansal yağlar ve bitkisel yağların uçucu bileşikleri PTR-MS ile tespit edilmiş, kemometrik analizlerden de yararlanılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. PTR-MS sonuçları %89 oranında örneklerin doğru sınıflandırılmasını sağlamıştır.

Spitaler ve ark. (12) tarafından gerçekleştirilen çalışmada şarapta uçucu bileşenlerin analizi yeni bir PTR-MS tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Daha önceki çalışmalarda şarap protonlanmış etanol ile iyonize edilmiştir. Bu çalışmada ise tepe boşluğu 1:40 oranında N<sub>2</sub> ile seyreltilmiştir ve H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> ile iyonize edilmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda elde edilen data, şarabın etanol içeriğinin uçucu bileşenler üzerinde herhangi bir etkisi olmadığını göstermektedir. Bu yeni yöntem 2 farklı üzüm çeşidinden üretilen 8 farklı şarap örneğine uygulanmıştır. Bunlar *Pinot Noir* ve *Cabernet Sauvignon* dur. Her çeşit 2 farklı bölgede üretilmiş ve 2 farklı tarihte hasat edilmiştir. İki çeşit arasında PTR-MS sonuçlarına göre kantitatif farklılıklar tespit edilmiştir. Seçilen m/z sinyallerine göre yapılan PCA sonuçlarına göre 2 çeşit arasında farklılıklar tespit edilmiştir (12).

#### **Proseslerin İzlenmesinde PTR-MS Kullanımı**

PTR-MS'in en güçlü yönü iz miktardaki uçucu bileşenlerin konsantrasyonunun değişiminin zamana bağlı olarak anında izlenebilmesidir (18). Kahvenin kavrulması sırasında açığa çıkan lezzet bileşenlerinin tanımlanması Nestle laboratuvarlarında PTR-MS ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla GC, PTR-MS ile beraber kullanılmıştır. GC-PTR-MS ile beraber kullanıldığında bileşiklerin tanımlanması sağlanmaktadır (36). Yapılan çalışmalarda Maillard reaksiyonu, akrilamid oluşumu ve furan oluşumu gibi reaksiyonlar bu yöntemle belirlenmiştir (24, 37, 38). Biyoteknolojik proseslerin izlenmesinde, meyve ve etlerin depolanması sırasında zamana bağlı olarak metabolik ve katabolik izyollarının izlenmesinde PTR-MS kullanılmaktadır (18). Wieland ve ark. (39) tarafından gerçekleştirilen çalışmada kahvenin kavrulması sırasında oluşan uçucu bileşenler PTR-TOF-MS ile belirlenmiştir.

Raseetha ve ark. (40) tarafından gerçekleştirilen çalışmada brokoli vb. gıdaların raf ömrü ve kalitesini değerlendirmek için PTR-MS ile çalışılmıştır. Bu çalışmada örneklerin enzim aktiviteleri ve uçucu bileşenleri tespit edilmiştir. Uçucu bileşenler ile enzim aktivitesindeki değişimler (peroksidaz ve askorbat oksidaz) arasındaki ilişki 25 °C'de 6 gün

depolama boyunca belirlenmiştir. PTR-MS ile m/z 20 ve 180 aralığında brokolideki uçucu bileşenler tespit edilmiştir. Bu çalışmada depolama boyunca peroksidaz aktivitesi ile uçucu bileşenler arasında iyi bir korelasyon bulunmuştur.

Maleknia ve ark. (41) tarafından gerçekleştirilen çalışmada bitkiler tarafından emilen organik bileşikler belirlenmiştir. Sebzelerin kalitesini ve raf ömrünü belirlemede PTR-MS vb. yöntemler kullanılmaktadır (42).

Soukoulis ve ark. (43) tarafından gerçekleştirilen çalışmada farklı elma çeşitlerinin 25 gün boyunca depolanması sırasında açığa çıkan uçucu bileşenler PTR-TOF-MS ile belirlenmiştir.

Mayr ve ark. (23) tarafından gerçekleştirilen çalışmada 4 °C'de 13 gün boyunca depolanan hava ve vakum paketli et örneklerinin bozulması PTR-MS ile değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda uçucu organik bileşikler depolama süresinin bir fonksiyonu olarak belirlenmiş ve birkaç gün depolama sonunda bu bileşenlerin konsantrasyonlarında belirgin değişimler tespit edilmiştir. Ayrıca vakum ve hava paketli et örneklerinin bozulma davranışları arasında geniş farklılıklar tespit edilmiştir.

Lezzet bileşenlerinin diğer gıda bileşenleri ile interaksyonu arasındaki ilişkinin bilinmesi gıdaların lezzetlendirilmesinde önem arz etmektedir. Bu şekilde gıdaların işlenmesi sırasında bu bileşiklerin nasıl değişime uğrayacağı ve vücutta emiliminin nasıl olacağı tahmin edilebilmektedir (44).

Ayrıca gıdada bulunan başka bileşenlerin, aroma maddeleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada literatürde mevcuttur. Nişasta ve heksanal ve menthon gibi aroma bileşikleri arasındaki interaksyon tepe boşluğu-PTR-MS tekniğini kullanarak belirlenmiştir. Nişasta sistemi, tekli yada karışım halindeki aroma bileşikleri ile modifiye ve modifiye olmayan nişasta ile hazırlanmıştır. Tepe boşluğu analizi sonucunda nişasta-aroma bileşiklerinin tepe boşluğu yoğunluğu azalmıştır. Modifiye ve modifiye olmayan nişasta benzer sonuçlar göstermiştir. Sonuç olarak nişasta-aroma bileşikleri kompleksi aroma ortaya çıkışını azaltmaktadır (45).

#### **Lezzet Bileşenlerinin Açığa Çıkmasının In-Vivo Olarak İzlenmesinde PTR-MS Kullanımı**

Gıdaların lezzet bileşenlerinin tanımlanması, o gıdanın duyularımız tarafından ne şekilde algılandığı ile ilgili net bir bilgi vermemektedir. En önemli nokta bu bileşenlerin duyularımız tarafından nasıl algılandığıdır. Burnumuzda koku reseptörleri tarafından nasıl bir algılama olduğunu

anlamak için ya direkt olarak burnumuzda ölçüm yapmak gerekmekte ya da daha pratik olarak nefes verirken dışarı çıkan havanın ölçümü gerekmektedir (18). PTR-MS kullanılarak gerçekleştirilen in-vivo analizlerle gıdanın kompozisyonunun ve dokusunun lezzetin ortaya çıkması üzerine etkisi ortaya konmaktadır (46). In-vivo ölçümler kişilerin gıdaları tüketimi hakkında bireysel fikirler vermektedir bu da kişilerin tat algılamasının tanımlanmasında önem arz etmektedir (47).

Taylor ve Linforth (48) in-vivo lezzet bileşenlerinin belirlenmesi için kimyasal iyonizasyon yönteminin kullanımını anlatmışlardır. PTR-MS'in bu alandaki rolü gitgide artmaktadır. PTR-MS, SIFT-MS (Seçilmiş iyon akış tüpü-kütle spektrometresi) (49)'den daha iyi sonuçlar vermektedir.

Délérís ve ark. (50) tarafından gerçekleştirilen çalışmada şekerlemelerin dokusunun ve tüketim şeklinin (eritme veya çiğneme) aroma açığa çıkması üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla PTR-MS cihazı kullanılmıştır. Dört adet şekerleme ile çalışılmış ve bu örneklerin jelatin içeriği %0 ile %15 arasında değişmiştir. Üç aroma bileşiğinin in-vivo olarak ortaya çıkışı PTR-MS ile değerlendirilmiştir ve eğitimli panelistler kullanılmıştır. Sonuç olarak ortaya çıkan aromanın ürün özellikleri ile ağızdaki tüketim şeklinin interaksyonu ile ortaya çıktığı belirlenmiştir.

## SONUÇ

Gıda bilimi ve teknolojisi alanında uçucu organik bileşiklerin önemi dikkate alındığında, bu bileşiklerin tanımlanmasında ve miktarlarının belirlenmesinde kullanılacak basit, hızlı ve yüksek duyarlılıkta yöntemlere ihtiyaç olduğu görülmektedir. PTR-MS duyarlılığı yüksek, doğru sonuçlar veren bir yöntem olup, herhangi bir örnek hazırlama işlemine gereksinim duyulmaması nedeniyle de hızlı bir yöntemdir. Ayrıca bu teknik gıda ürünlerinin hızlı olarak tanımlanmasında ve proseslerin izlenmesinde kullanılmaktadır. PTR-MS yeni bir tekniktir. PTR-MS ile elde edilen bilgiler parmak izi niteliği taşımaktadır. Burada elde edilen veriler ürünlerin sınıflandırılmasında ve uçucu organik bileşiklerin gıdaların diğer önemli özellikleri (örneğin duyu analizi, genetik veya orijin) ile korelasyonunun kurulmasında kullanılmaktadır. Burada elde edilen veriler gıdaların işlenmesi sırasında yada tüketilmesi sırasında lezzet bileşenlerinin değişimini izlemeye yardımcı olmaktadır. Diğer taraftan PTR-MS GC-MS ile beraber kullanıldığında kuadropol versiyonunda

bile organik uçucu bileşenlerle ilgili kalitatif ve kantitatif bilgi sağlamaktadır. PTR-TOF-MS ve SRI gibi daha gelişmiş teknolojilerin kullanımı oldukça güvenilir olup, laktik asit fermantasyonu ve alkol fermantasyonu gibi proseslerin izlenmesinde kullanılabilir.

## KAYNAKLAR

1. Lopez-Feria S, Cardenas S, Garcia-Mesa J.A, Fernandez-Hernandez A, Valcarcel M. 2007. Quantification of the intensity of virgin olive oil sensory attributes by direct coupling headsapce-mass spectrometry and multivariate calibration techniques. *J Chromatogr A* 1147(2): 144-152.
2. Mateus M, Lindinger C, Gumy J, Liardon R. 2007. Release kinetics of volatile organic compounds from roasted and ground coffee: online measurements by PTR-MS and mathematical modeling. *J Agric Food Chem* 55 (25): 10117-10128.
3. Feilberg A, Liu D, Adamsen APS, Hansen MJ, Jonassen KEN. 2010. Odorant emissions from intensive pig production measured by online proton-transfer-reaction mass spectrometry. *Environ Sci Technol* 44 (15): 5894-5900.
4. Vanaken G.A, Vingerhoeds M.H, Dehoog E.H.A. 2007. Food colloids under oral conditions. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 12: 251-262.
5. Anon. 2012. <http://www.ionicon.com/downloads/technology.pdf> (Erişim tarihi: 23.07.2012).
6. Cappellin L, Aprea E, Granitto, P, Wehrens R, Soukoulis C, Tilmann RV, Märk, D, Gasperi F, Biasioli, F. 2012. Linking GC-MS and PTR-TOF-MS fingerprints of food samples. *Chemometr Intell Lab* 118: 301-307.
7. Jordan A, Haidacher S, Hanel G, Hartungen E, Märk L, Seehauser H, Schotchkowsky R, Sulzer P, Märk T.D. 2009. A high resolution and high sensitivity time-of-flight proton-transfer-reaction mass spectrometer (PTR-TOF-MS). *Int J Mass Spectrom* 286: 122-128.
8. Lindinger W, Hansel A, Jordan A, 1998. On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry (PTR-MS) Medical applications, food control and environmental research. *Int J Mass Spectrom and Ion Processes* 173: 191-241.
9. Biasioli F, Gasperi F, Aprea E, Colato L, Boscaini E, Mark TD. 2003. Fingerprinting mass spectrometry by PTR-MS: Heat treatment vs. pressure treatments of red orange juice-a case study. *Int J Mass Spectrom* 223-224: 343-353.

10. Biasioli F, Gasperi F, Aprea E, Endrizzi I, Framondino V, Marini F, Mott D, Mark TD. 2006. Correlation of PTR-MS spectral fingerprints with sensory characterisation of flavour and odour profile of "Trentingrana" cheese. *Food Qual Prefer* 17: 63–75.
11. Yeretizian C, Jordan A, Lindinger W. 2003. Analysing the headspace of coffee by proton-transfer-reaction mass-spectrometry. *Int J Mass Spectrom* 223-224: 115-139.
12. Spitaler R, Araghipour N, Mikoviny T, Wisthaler A, Via J.D, Mark T.D. 2007. PTR-MS in enology: Advances in analytics and data analysis. *Int J Mass Spectrom* 266: 1-7.
13. Phillips K, Niimi J, Hamid N, Silcock P, Delahuny C, Barker M, Sewell M, Bremer, P. 2010. Sensory and volatile analysis of sea urchin roe from different geographical regions in New Zealand. *LWT-Food Sci Technol* 43: 202-213.
14. Yeretizian C, Jordan A, Badoud R, Lindinger W. 2002. From the green bean to the cup of coffee: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles. *Eur Food Res Technol* 214: 92-104.
15. Boamfa EI, Steeghs M.M.L, Cristescu S.M, Haren F.J.M. 2004. Trace gas detection from fermentation processes in apples; an intercomparison study between proton-transfer-reaction mass spectrometry and laser photoacoustics. *Int J Mass Spectrom* 239: 193-201.
16. Mayr D, Mark T.D, Lindinger W, Brevard H, Yeretizian C. 2005. Breath-by-breath analysis of banana aroma by proton transfer reaction mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom* 223-224: 743-756.
17. Gouw J, Carsten W. 2007. Measurements of volatile organic compounds in the earth's atmosphere using proton-transfer-reaction mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 26(2): 223-257.
18. Biasioli F, Yeretizian C, Gasperi F, Mark T.D. 2011. PTR-MS monitoring of VOCs and BVOCs in food science and technology. *Trend Anal Chem* 30 (7): 968-977.
19. Luykx D.M.A.M, van Ruth S.M. 2008. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chem* 107: 897-911.
20. Reid L, O'Donnell C.P, Downey G. 2006. Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends Food Sci Tech* 17: 344-353.
21. Boscaini E, van Ruth S, Biasioli F, Gasperi F, Mark T.D. 2003. Gas chromatography-olfactometry (GC-O) and proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS) analysis of the flavor profile of Grana Padano, Parmigiano Reggiano, and Grana Trentino cheeses. *J Agric Food Chem* 51: 1782-1790.
22. Boschetti A, Biasioli F, Opbergen M, Warneke C, Jordan A, Holzinger R, Prazeller P, Karl T, Hansel A, Lindinger W, Iannotta S. 1999. PTR-MS real time monitoring of the emission of volatile organic compounds during postharvest aging of berryfruit. *Postharvest Biol Tech* 17: 143-151.
23. Mayr D, Margesin R, Schinner F, Märk T.D. 2003. Detection of the spoiling of meat using PTR-MS. *Int J Mass Spectrom* 223-224: 229-235.
24. Pollien P, Lindinger C, Yeretizian C, Blank I. 2003. Proton transfer reaction mass spectrometry, a tool for on-line monitoring of acrylamide formation in the headspace of maillard reaction systems and processed food. *Anal Chem* 75(20): 5488-5494.
25. van Ruth S.M, Dings L, Buhr K, Posthumus M.A. 2004. In vitro and in vivo volatile flavour analysis of red kidney beans by proton transfer reaction-mass spectrometry. *Food Res Int* 37: 785-791.
26. van Ruth S.M, Koot A, Akkermans W, Araghipour N, Rozijn M, Baltussen M, Wisthaler A, Mark T.D, Frankhuizen R. 2007. Butter and butter oil classification by PTR-MS. *Eur Food Res Tech* 227: 307-317.
27. Macatelli M, Akkermans W, Koot A, Buchgraber M, Paterson A, van Ruth S. 2009. Verification of the geographical origin of European butters using PTR-MS. *J Food Compos Anal* 22: 169-175.
28. Biasioli F, Gasperi F, Aprea E, Mott D, Boscaini E, Mayr D, Mark T.D. 2003. Coupling proton transfer reaction mass spectrometry with linear discriminant analysis: a case study. *J Agric Food Chem* 51 (25): 7227-7233.
29. Araghipour N, Colineau J, Koot A, Akkermans W, Rojas J.M.M.R, Beauchamp J, Wisthaler A, Mark T.D, Downey G, Guillou C, Mannina L, van Ruth S. 2008. Geographical origin classification of olive oils by PTR-MS. *Food Chem* 108: 374-383.
30. Granitto P.M, Biasioli F, Aprea E, Mott D, Furlanello C, Mark T.D, Gasperi F. 2007. Rapid and non-destructive identification of strawberry cultivars by direct PTR-MS headspace analysis and data mining techniques. *Sensor Actuat B* 121: 379-385.
31. van Ruth S.M, Floris V, Stéphane Fayoux S. 2006. Characterisation of the volatile profiles of infant formulas by proton transfer reaction-mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chem* 98(2): 343-350.
32. van Ruth S, Villegas B, Akkermans W, Rozijn M, van der Kamp H, Koot A. 2010. Prediction of the identity of fats and oils by their fatty acid, triacylglycerol and volatile compositions using PLS-DA. *Food Chem* 118: 948-955.

33. Aprea E, Biasioli F, Carlin S, Versini G, Mark F. 2007. Rapid white truffle headspace analysis by proton transfer reaction mass spectrometry and comparison with solid-phase microextraction coupled with gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 21(16): 2564-2572.
34. Heenan S.P, Dufour J.P, Hamid N, Harvey W, Delahunty C.M. 2009. Characterisation of fresh bread flavour: Relationships between sensory characteristics and volatile composition. *Food Chem* 116: 249-257.
35. Ruiz-Samblás C, Tres A, Koot A, van Ruth S.M, González-Casado A, Cuadros-Rodríguez L. 2012. Proton transfer reaction-mass spectrometry volatile organic compound fingerprinting for monovarietal extra virgin olive oil identification. *Food Chem* 134: 589-596.
36. Lindinger C, Pollien P, Ali S, Yeretzian C, Blank I, Mark T. 2005. Unambiguous identification of volatile organic compounds by proton-transfer reaction mass spectrometry coupled with GC/MS. *Anal Chem* 77(13): 4117-4124.
37. Robert F, Vuataz G, Pollien Ph, Saucy F, Alonso M.I, Bauwens I, Blank I. 2004. Acrylamide formation from asparagine under low-moisture Maillard reaction conditions. 1. Physical and chemical aspects in crystalline model systems. *J Agric Food Chem* 52: 6837-6842.
38. Mark J, Pollien P, Lindinger C, Blank I, Mark T. 2006. Quantitation of furan and methylfuran formed in different precursor systems by proton transfer reaction mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 54(7): 2786-2793.
39. Wieland F, Gloess A.N, Keller M, Wetzl A, Schenker S, Yeretzian C. 2012. Online monitoring of coffee roasting by proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry (PTR-ToF-MS): towards a real-time process control for a consistent roast profile. *Anal Bioanal Chem* 402: 2531-2543.
40. Raseetha S, Heenan S.P, Oey L, Burritt D.J, Hamid N. 2011. A new strategy to assess the quality of broccoli (*Brassica oleracea* L. italica) based on enzymatic changes and volatile mass ion profile using Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry (PTR-MS). *Innovat Food Sci Emerg Tech* 12: 197-205.
41. Maleknia S.D, Bell TL, Adams M.A. 2007. PTR-MS analysis of reference and plant-emitted volatile organic compounds. *Int J Mass Spectrom* 262(3): 203-210.
42. Luthria D.L, Lin L.Z, Robbins R.J, Finley J.W, Banuelos G.S, Harnly J.M. 2008. Discriminating between cultivars and treatments of broccoli using mass spectral fingerprinting and analysis of variance-principal component analysis. *J Agric Food Chem* 56(21): 9819-9827.
43. Soukoulis C, Cappellin E, Aprea F, Costa R, Viola T.D, Märk F, Gasperi F, Biasioli. 2012. PTR-TOF-MS, A novel, rapid, high sensitivity and non-invasive tool to monitor volatile compound release during fruit post-harvest storage: The case study of apple ripening. *Food Bioprocess Technol* DOI 10.1007/s11947-012-0930-6.
44. van Ruth S.M, Frasnelli J, Carbonell L. 2008. Volatile flavour retention in food technology and during consumption: Juice and custard examples. *Food Chem* 106: 1385-1392.
45. Tietz M, Buettner A, Conde-Petit B. 2008. Interaction between starch and aroma compounds as measured by proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS). *Food Chem* 108: 1192-1199.
46. Heenan S, Soukoulis C, Silcock P, Fabris A, Aprea E, Cappellin L, Märk T.D, Gasperi F, Biasioli F. 2012. PTR-TOF-MS monitoring of in vitro and in vivo flavour release in cereal bars with varying sugar composition. *Food Chem* 131: 477-484.
47. Aprea E, Biasioli F, Gasperi F, Märk T.D, van Ruth S. 2006. In vivo monitoring of strawberry flavour release from model custards: effect of texture and oral processing. *Flavour Fragr J* 21: 53-58.
48. Taylor A.J, Linforth R.S.T; Taylor A.J, Linforth (Editörler). Food Flavor Technology, Second ed., Wiley-Blackwell Publishing, Chichester, W. Sussex, UK, 2010, pp. 266-279.
49. Blake R.S, Monks P.S, Ellis A.M. 2009. Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometry. *Chem Rev* 109: 861-896.
50. Déléris I, Saint-Eve A, Dakowski F, Sémon E, Le Quéré J.L, Guillemin H, Souchon I. 2011. The dynamics of aroma release during consumption of candies of different structures, and relationship with temporal perception. *Food Chem* 127(4): 1615-1624.