

HIZLI GIDA ANALİZLERİNE YÖNELİK YAKIN KIZILÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ (NIR) SİSTEMİ GELİŞTİRİLMESİ

DEVELOPMENT OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY (NIR) SYSTEM FOR RAPID FOOD ANALYSIS

HÜSEYİN EFE GENİŞ

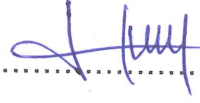
PROF. DR. İSMAİL HAKKI BOYACI
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

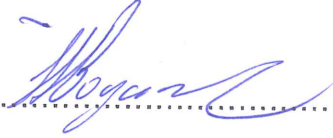
2018

HÜSEYİN EFE GENİŞ'in hazırladığı “**HIZLI GIDA ANALİZLERİNE YÖNELİK YAKIN KIZILÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ (NIR) SİSTEMİ GELİŞTİRİLMESİ**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

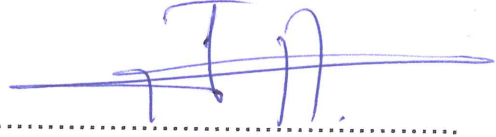
Prof. Dr. Halil VURAL
Başkan



Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI
Danışman



Prof. Dr. Uğur TAMER
Üye



Doç. Dr. Ali TOPCU
Üye



Doç. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- ☒ **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- ☐ **Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- ☐ **Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- ☐ **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

12 / 06 / 2018

Hüseyin Efe Geniş

(İmza)

Öğrencinin Adı Soyadı



Bu tez,

Hayatımdaki iki güzele,

Eşim Duygu ve kızım İpek Ada'ya

İthaf edilmiştir.

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

12/06/2018


HÜSEYİN EFE GENİŞ

ÖZET

HIZLI GIDA ANALİZLERİNE YÖNELİK YAKIN KIZILÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ (NIR) SİSTEMİ GELİŞTİRİLMESİ

Hüseyin Efe GENİŞ

Doktora, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI

Haziran 2018, 119 sayfa

Gıda üretim zincirinde, hammaddeden sofraya gelene kadar geçen tüm süreçlerde gıda kalitesi ve güvenliğinin sağlanması, tüketicilerin sağlıklı ve güvenilir ürün tüketmesi açısından zorunlu hale gelmektedir. Gıda kalitesi ise üretimin her aşamasında gıdanın fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik parametrelerinin belirlenmesi ve kontrol altına alınmasıyla sağlanmaktadır. Özellikle gıda endüstrisinde kâr amaçlı yapılan taşıma belirlenmesi, insan sağlığını tehdit eden uygulamaların da bulunmasından dolayı büyük önem taşımaktadır. Gıda kalite parametrelerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan referans yöntemler tekrarlanabilir ve kesin sonuçlar vermeleri nedeniyle tercih edilmektedir. Ancak bu yöntemler uzman kişilerin çalıştırılması ve uzun süren analiz basamakları gibi dezavantajlara sahiptir. Bu nedenle hızlı, güvenilir ve alternatif gıda analiz yöntemlerine ihtiyaç

duyulmaktadır. Yakın kızılötesi spektroskopisi (NIR), örneği tahrip etmeden hızlı ve kolay analizine imkân sağlayan ve gıda analizlerinde sıklıkla kullanılan bir yöntem olarak bilinmektedir.

Tez kapsamında öncelikle NIR spektroskopisinin reflektans, transmitans ve transflektans ölçüm modlarıyla çalıştırılabilen hızlı ve güvenilir analize imkân veren 3 farklı NIR spektrometrelerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Kısmi en küçük kareler (PLS) yöntemiyle geliştirilen modellerin tahmin etme kabiliyetinin kullanılmasına imkân veren yazılımıyla birlikte geliştirilen NIR spektrometreleri ile gıda taşıması alanında 3 farklı gıda analiz metodunun geliştirilmesi tezin bir diğer amacını oluşturmuştur.

İlk çalışmada geliştirilen reflektans spektrometresiyle bezelye ve ıspanak kullanılarak yapılan antep fıstığı taşımasının kalitatif ve kantitatif tayini yapılmış, geliştirilen temel bileşen analizi (PCA) modeli ile antep fıstığı, bezelye, ıspanak ile bunların ikili karışımları başarıyla sınıflandırılmıştır. Antep fıstığına katılan bezelye ve ıspanağın miktarının belirlenmesi amacıyla farklı ön işlemler ile geliştirilen PLS modellerinin performansları incelenmiş, yüksek kalibrasyon ve validasyon belirleme katsayısı (R^2) değerleri (bezelye:0.992-0.995, ıspanak:0.998-0.991) ile düşük tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ) (bezelye: % 1.05-% 5.27, ıspanak: % 0.19-% 0.95) değerlerine sahip modeller en iyi performansı gösteren iki model olarak belirlenmiştir.

Geliştirilen reflektans spektrometresi kullanılarak yürütülen ikinci çalışmada öncelikle sütlerle ısıtma işlem uygulanıp uygulanmadığı belirlenmiş, ardından koyun, keçi ve inek sütleri ile bu sütlerin ikili ve üçlü karışımlarının tür tayini gerçekleştirilmiştir. Kısmi en küçük kareler-diskriminant analizi (PLS-DA) yöntemi kullanılarak geliştirilen ilk model sayesinde çiğ ve pastörize sütler başarılı şekilde sınıflandırılmıştır. Ardından geliştirilen farklı PLS-DA modelleriyle çiğ ya da pastörize olduğu belirlenen sütler, saf haldeki koyun, keçi ve inek sütleriyle, karışım halde bulunan koyun-keçi, koyun-inek, keçi-inek ve koyun-keçi-inek sütleri olarak yüksek başarımla ölçüsü verileri ile sınıflandırılabilmiştir.

Tez kapsamında gerçekleştirilen son çalışmada ise kanola yağındaki erusik asit miktarının belirlenmesi amacıyla reflektans, transmitans ve transflektans NIR spektrometreleri kullanılmıştır. Farklı ön işlemlerin geliştirilen PLS modelleri üzerindeki etkileri incelenmiş ve en uygun PLS modelleri belirlenmiştir. Kalibrasyon ve validasyon veri seti için bulunan R^2 değerleri reflektans

spektrometresi için 0.994-0.978, transmitans spektrometresi için 0.993-0.990, transflektans spektrometresi için 0.993-0.991 olarak bulunmuştur. LOD ve LOQ değerleri ise reflektans, transmitans ve transflektans spektrometreleri için sırasıyla % 0.15-% 0.75, % 0.11-% 0.56 ve % 0.26-% 1.30 olarak bulunmuştur. Elde edilen performans verilerine bakıldığında geliştirilen NIR sistemlerinin yüksek R^2 ile düşük LOD ve LOQ değerlerine sahip PLS modelleriyle erusik asit miktarını tahmin edebildiği görülürken transmitans ve transflektans spektrometrelerinin reflektans spektrometresine göre daha iyi bir performans sergilediği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Yakın kızılötesi spektroskopisi (NIR), reflektans, transmitans, transflektans, kemometri, taşıma, tür analizi.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY (NIR) SYSTEM FOR RAPID FOOD ANALYSIS

Hüseyin Efe GENİŞ

Doctor of Philosophy, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI

June 2018, 119 pages

In the food production chain, provision of food quality and safety from raw material to final consumer becomes compulsory in terms of providing healthy and reliable products to people. The quality of food is ensured by getting under control the physical, chemical and microbiological parameters of food in every step of the production processes. In particular, the identification of a profit-making adulteration in the food industry is of great importance as it has negative implications for human health. Reference methods used to determine quality parameters are preferred due to their reproducible and accurate results. However, these methods have disadvantages such as the need of specialists and the long analysis steps. Therefore, fast, reliable and alternative food analysis methods are needed. Near

infrared spectroscopy (NIR) is a frequently used method in food analysis, allowing rapid and easy analysis without destroying the sample.

Within the scope of the thesis, it is aimed to develop 3 different NIR spectrometers which enable fast and reliable analysis of NIR spectroscopy which can be operated with reflection, transmittance and transreflectance measurement modes. Another aim of the thesis was to develop three different food analysis in the field of food adulteration with the NIR spectrometers developed together with the software that allows to use the prediction ability of the models developed by the partial least squares (PLS) method. In the first study, pistachio adulteration with pea and spinach was determined by using developed reflectance spectrometer. Pistachio, green pea, spinach and their binary mixtures were successfully classified with the developed principal component analysis (PCA) model. The performance of PLS models developed with different pretreatments was investigated in order to determine the amount of green peas and spinach that added into pistachio. The high determination of coefficient (R^2) of calibration and validation (green pea: 0.992-0.995, spinach: 0.998-0.991) and low limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) (green peas: 1.05% - 5.27%, spinach: 0.19% - 0.95%) values were determined as they were two best performing models. In the second study, the developed reflectance spectrometry was used to determine whether heat treatment was applied to the milk samples, and afterwards type determination was performed among samples of sheep, goat and cow milks as well as their binary and triple mixtures. Raw and pasteurized milk samples have been successfully classified through the developed partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) model. Milk samples were then assigned as pure sheep, goat, cow or binary and ternary mixture of these milks by different PLS-DA models. In the last study, developed NIR spectrometers were used to determine the amount of erucic acid in canola oil. The effects of different pretreatments on the developed PLS models were examined and the most appropriate PLS models were determined. The R^2 values for the calibration and validation were found to be 0.994-0.978 for the reflectance, 0.993-0.990 for the transmittance, and 0.993-0.991 for the transreflectance spectrometers. The LOD and LOQ values were 0.15% -0.75%, 0.11% -0.56% and 0.26% -1.30% for the reflectance, transmittance and transreflectance spectrometers, respectively. It was shown that the developed NIR

systems can predict the amount of erucic acid successfully, while the transmittance and transreflectance spectrometers perform better than the reflectance spectrometer.

Keywords: Near-Infrared spectroscopy, reflectance, transmittance, transreflectance, chemometric, adulteration, species analysis.



TEŞEKKÜR

Tezim sırasında bilgi ve tecrübesiyle çalışmalarına yön veren, bilimsel katkıları ve desteğiyle yardımlarını esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI'ya,

Süt çalışması esnasında çiğ süt temini konusunda yardımlarından dolayı Yüksek Gıda Müh. Şahin DURNA'ya, erusik asit çalışması esnasında kanola ve hardal yağı temini konusunda yardımlarından dolayı Doç. Dr. H. Murat VELİOĞLU'na, 2211/C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı kapsamında sağladığı destekten dolayı TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı Birimine, San-Tez programı kapsamında yürüttüğümüz 552.STZ.2013-2 kodlu "Hızlı Gıda Analizlerine Yönelik NIR Sisteminin Geliştirilmesi" başlıklı proje ile desteklerinden ötürü Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı'na,

Çalışmamın ilerlemesinde ve yorumlanmasında yardımlarıyla destek veren, doktora eğitimim süresince oda arkadaşlıklarıyla yanımda olan Arş. Gör. Havva Tümay TEMİZ ve Arş. Gör. Akif Göktuğ BOZKURT'a,

Ortak çalışmalarımız boyunca verdiği destek ve arkadaşlığıyla Dr. Öğr. Üyesi Reyhan Selin UYSAL AFACAN'a, asistanlığını yürüttüğümüz uygulamalı teknik çizim dersinde yardımlarıyla destek veren Arş.Gör. Işıl Gürsul AKDAĞ'a, çalışmalarım boyunca değerli desteklerini ve tecrübelerini esirgemeyen hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Esra ACAR SOYKUT, Dr. Özay MENTEŞ YILMAZ, Dr. Öğr. Üyesi Haslet EKŞİ KOÇAK'a, her türlü manevi destekleri ile yanımda olan Dr. Arş. Gör. Burcu GÜVEN, Dr. Gonca BİLGE, Dr. Arş. Gör. Tuğba BULAT, Dr. Arş. Gör. Nazife Nur KARAÇAĞLAR, Yüksek Gıda Müh. Banu SEZER, Yüksek Gıda Müh. E. Kübra TAYYARCAN, Yüksek Gıda Müh. Elif ERCİOĞLU, Gıda Müh. Şefika EVRAN, Yüksek Gıda Müh. Esra Zeynep ARSLAN'a, kendi çalışma alanları olmasa da tez çalışmam boyunca yaptıklarını sabırla dinleyen ve destek veren Dr. Filiz MALKOÇ ve Dr. Yüksel MALKOÇ'a,

Hayatım boyunca maddi ve manevi her türlü destek olan hayattaki en değerli varlıklarım; annem Sevgi GENİŞ, babam Mustafa GENİŞ, kardeşim Fatma Çağla TOPGÜL ve eşi Tuna ÇAĞLAR TOPGÜL'e,

Ve her an her türlü desteğiyle yanımda olan ve hayatıma anlam katan güzel eşim Duygu ÖZER GENİŞ'e ve ilk göz ağrım, kızım İpek Ada GENİŞ'e en içten duygularımla sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER	xi
ÇİZELGELER	xv
SİMGELER ve KISALTMALAR	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Spektroskopi ve Titreşimsel Spektroskopi Hakkında Genel Bilgiler	4
2.2. Yakın Kızılötesi Spektroskopisi	6
2.2.1. Yakın Kızılötesi Reflektans Spektroskopisi	9
2.2.2. Yakın Kızılötesi Transmittans Spektroskopisi	11
2.2.3. Yakın Kızılötesi Transflectans Spektroskopisi	12
2.3. Veri İşleme Teknikleri ve Kemometrik Metotlar	12
2.3.1. Ön İşlem Teknikleri	13
2.3.2. Klasifikasyon ve Regresyon Yöntemleri	15
2.4. NIR Spektroskopisiyle Yapılmış Gıda Analizleri Çalışmaları	16
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. NIR Spektrometrelerinin Geliştirilmesi	19
3.1.1. Fiziksel Tasarım	23
3.1.2. Elektronik Tasarım	23
3.1.3. Yazılımsal Tasarım	24
3.1.4. Spektrometrelerde Kullanılan Diğer Parçaların Tasarımı	25
3.1.4.1. Örnek Haznesi ve Hazne Motoru	25
3.1.4.2. Örnek Isıtma Haznesi	25
3.1.4.3. Sensör Sıcaklık Kontrol Ünitesi	25
3.1.4.4. Transmittans Modülü Işık Kaynağı	25

3.1.4.5. Spektrometrelerden Alınan Spektrumların Tekrarlanabilirliğinin İncelenmesi	26
3.2. Bezelye ve Ispanak Kullanılarak Yapılan Antep Fıstığı Tağışının NIR Reflektans Spektrometresi ile Kalitatif ve Kantitatif Tayini	26
3.2.1. Antep Fıstığı, Bezelye ve Ispanak Örnekleri	26
3.2.2. NIR Spektrumlarının Toplanması	27
3.2.3. Veri Analizi	27
3.3. Koyun, Keçi ve İnek Sütlerinin Tür Tayini ve Sütlere Uygulanan Isıl İşlemin Belirlenmesi	28
3.3.1. Süt Örnekleri	28
3.3.2. NIR Spektrumlarının Toplanması	28
3.3.3. Veri Analizi	29
3.4. Hardal Yağlarında Bulunan Erusik Asit ve Yağlardaki Miktarının Tayini	31
3.4.1. Yağ Örnekleri	31
3.4.2. NIR Spektrumlarının Toplanması	32
3.4.3. Gaz Kromatografisi Analizi	32
3.4.4. Veri Analizi	33
4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA	34
4.1. NIR Spektrometrelerinin Geliştirilmesi	34
4.1.1. NIR Reflektans Spektrometresi	35
4.1.2. NIR Transmittans Spektrometresi	37
4.1.3. NIR Transflektans Spektrometresi	38
4.1.4. Spektrometrelerde Kullanılan Diğer Parçalar	39
4.1.5. NIR spektrometrelerinin Elektronik Tasarımı	46
4.1.6. NIR Spektrometrelerinin Yazılım Tasarımı	46
4.1.6.1. Grafiksel Kullanıcı Arayüzü (GUI, Graphical User Interface) Tasarımı	47
4.1.7. Sonuç ve Tartışma	56
4.2. Geliştirilen NIR Spektrometreleriyle Gerçekleştirilen Gıda Analizleri	59
4.2.1. Bezelye ve Ispanak Kullanılarak Yapılan Antep Fıstığı Tağışının NIR Reflektans Spektrometresi ile Kalitatif ve Kantitatif Tayini Çalışmasına Ait Sonuçlar	60
4.2.1.1. Örneklerin Spektrum Analizi	60
4.2.1.2. Veri İşleme	61

4.2.1.3. Sonuç ve Tartışma	68
4.2.2. NIR Reflektans Spektroskopisi Kullanılarak Koyun, Keçi ve İnek Sütleri ile Karışımlarının Tanımlanması ve Sütlere Isıl İşlem Uygulanıp Uygulanmadığının Belirlenmesi	68
4.2.2.1. Örneklerin Spektrum Analizi	68
4.2.2.2. Sütlere Uygulanan Isıl İşlemin Belirlenmesi	70
4.2.2.3. Saf ve Karışım Halde Bulunan Çiğ Sütlerin Birbirinden Ayrılması	73
4.2.2.4. Saf Çiğ Süt Örneklerinin Birbirinden Ayrılması	75
4.2.2.5. Karışım Halde Bulunan Çiğ Süt Örneklerinin Sınıflandırılması	78
4.2.2.6. Pastörize Saf Ve Karışım Süt Örneklerinin Birbirinden Ayrılması	83
4.2.2.7. Sonuç ve Tartışma	90
4.2.3. Hardal Yağlarında Bulunan Erusik Asit ve Yağlardaki Miktarının Tayini	91
4.2.3.1. Örneklerin Spektrum Analizi	91
4.2.3.2. Spektrumların Veri Analizi	95
4.2.3.3. Sonuç ve Tartışma	102
5.SONUÇ VE TARTIŞMA.....	104
KAYNAKLAR.....	109
ÖZGEÇMİŞ	117

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 3.1. Geliştirilen NIR reflektans spektrometresinin şematik gösterimi.....	20
Şekil 3.2. Geliştirilen NIR transmitans spektrometresinin şematik gösterimi.....	21
Şekil 3.3. Geliştirilen NIR transflektans spektroskopisinin şematik gösterimi.....	22
Şekil 4.1 NIR spektrometresi bileşenleri.....	34
Şekil 4.2 Numune yüzeyi 3B çizimi ve alüminyum çıktısı	36
Şekil 4.3 Reflektans spektrometresinin sensör ile örnek haznesinin 3B çizimi ve alüminyum çıktısının montaj yapılmış hali	36
Şekil 4.4. Işık kaynağı tutucusunun 3B çizimi ve alüminyum çıktısının ışık kaynağı ile birlikte montajı yapılmış son hali	37
Şekil 4.5. Transflektans modülünün kapak açık ve kapalı hali	38
Şekil 4.6. Örnek ısıtma haznesinin 3B çizimi ve alüminyumdan alınmış çıktısı	40
Şekil 4.7. Sıvı soğutma sistemi ve peltier yerleştirilmiş sıcaklık kontrol ünitesinin montajı yapılmış hali.....	42
Şekil 4.8. Reflektans (*), transmitans (+) ve transflektans (x) spektrometreleriyle alınan hardal yağı spektrumlarındaki 1210 nm bandının absorban değerine karşı paralel spektrum sayısına ait grafik.....	43
Şekil 4.9. Hardal yağının 3 farklı NIR spektrometresiyle alınmış reflektans, transmitans ve transflektans spektrumları	44
Şekil 4.10. Hardal yağının 3 farklı NIR spektrometresiyle alınmış reflektans, transmitans ve transflektans spektrumlarının 1. türev alınmış hali.....	44
Şekil 4.11. Tüm sistemin elektronik kontrolünü sağlayan baskı devre kartı	46
Şekil 4.12. TANIRPRO yazılımının giriş sayfası.....	47
Şekil 4.13. TANIRPRO yazılımı ana sayfası	48
Şekil 4.14. TANIRPRO analiz sayfası	49
Şekil 4.15. TANIRPRO yönetim sayfası	52
Şekil 4.16. TANIRPRO metot oluşturma-değiştirme sayfası	53
Şekil 4.17. TANIRPRO parametre yönetimi sayfası	54
Şekil 4.18. TANIRPRO geçmiş sayfası	55
Şekil 4.19. Geliştirilen NIR reflektans spektrometresi	56
Şekil 4.20. Geliştirilen NIR transmitans spektrometresi	57

Şekil 4.21. Geliştirilen NIR transflektans spektrometresi.....	58
Şekil 4.22 Bezelye (a), antep Fıstığı (b) ve ıspanak (c) örneklerinin NIR reflektans spektrumları.....	61
Şekil 4.23. Saf örnekler ile karışımlara ait temel bileşen skor grafiği	62
Şekil 4.24. Bezelye ile yapılan tağşişin belirlenmesi için kurulan kalibrasyon modelinde tahmin edilen tağşiş oranlarına karşı gerçek tağşiş oranı değerlerinin karşılaştırılması	65
Şekil 4.25. Bezelye ile yapılan tağşişin belirlenmesi için kurulan validasyon modelinde tahmin edilen tağşiş oranlarına karşı gerçek tağşiş oranı değerlerinin karşılaştırılması	66
Şekil 4.26. Ispanak ile yapılan tağşişin belirlenmesi için kurulan kalibrasyon modelinde tahmin edilen tağşiş oranlarına karşı gerçek tağşiş oranı değerlerinin karşılaştırılması	67
Şekil 4.27. Ispanak ile yapılan tağşişin belirlenmesi için kurulan validasyon modelinde tahmin edilen tağşiş oranlarına karşı gerçek tağşiş oranı değerlerinin karşılaştırılması	67
Şekil 4.28. Çiğ ve pastörize saf süt örneklerinin NIR reflektans spektrumları	69
Şekil 4.29. Çiğ ve pastörize saf süt örneklerinin 1.türev sonrası NIR spektrumları.....	69
Şekil 4.30. Çiğ süt örneklerinin pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	71
Şekil 4.31. Pastörize süt örneklerinin çiğ süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	71
Şekil 4.32. Çiğ saf süt örneklerinin çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	74
Şekil 4.33. Çiğ karışım süt örneklerinin çiğ saf süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	74
Şekil 4.34. Saf çiğ koyun sütü örneklerinin diğer çiğ saf süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	76
Şekil 4.35. Saf çiğ keçi sütü örneklerinin diğer çiğ saf süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	77
Şekil 4.36. Saf çiğ inek sütü örneklerinin diğer çiğ saf süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	77
Şekil 4.37. Çiğ koyun-keçi sütü örneklerinin diğer çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	79

Şekil 4.38. Çiğ koyun-inek sütü örneklerinin diğer çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	80
Şekil 4.39. Çiğ keçi-inek sütü örneklerinin diğer çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	81
Şekil 4.40. Çiğ koyun-keçi-inek 3'lü karışım süt örneklerinin diğer çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği.....	81
Şekil 4.41. Pastörize koyun süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	84
Şekil 4.42. Pastörize keçi süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	84
Şekil 4.43. Pastörize inek süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği	85
Şekil 4.44. Pastörize koyun-keçi karışım süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği.....	86
Şekil 4.45. Pastörize koyun-inek karışım süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği.....	87
Şekil 4.46. Pastörize keçi-inek karışım süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği.....	88
Şekil 4.47. Pastörize koyun-keçi-inek 3'lü karışım süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği.....	88
Şekil 4.48. Kanola ve hardal yağının reflektans spektrumları	92
Şekil 4.49. Kanola ve hardal yağının transmitans spektrumları	92
Şekil 4.50. Kanola ve hardal yağının transflektans spektrumları.....	93
Şekil 4.51. Kanola ve hardal yağının reflektans spektrumlarının 1. türev alınmış halinin grafiği	94
Şekil 4.52. Kanola ve hardal yağının transmitans spektrumlarının 1. türev alınmış halinin grafiği	94
Şekil 4.53. Kanola ve hardal yağının transflektans spektrumlarının 1. türev alınmış halinin grafiği	95
Şekil 4.54. Erusik asit miktarının belirlenmesinde reflektans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin kalibrasyon grafiği.....	98
Şekil 4.55. Erusik asit miktarının belirlenmesinde reflektans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin validasyon grafiği	98

Şekil 4.56. Erusik asit miktarının belirlenmesinde transmitans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin kalibrasyon grafiği	99
Şekil 4.57. Erusik asit miktarının belirlenmesinde transmitans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin validasyon grafiği	100
Şekil 4.58. Erusik asit miktarının belirlenmesinde transflektans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin kalibrasyon grafiği	101
Şekil 4.59. Erusik asit miktarının belirlenmesinde transflektans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin validasyon grafiği	101



ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 2.1. NIR spektroskopisinde kullanılan dedektörler	9
Çizelge 4.1 Antep fıstığı taşımasının belirlenmesi amacıyla farklı ön işlemlerle kurulan PLS kalibrasyon ve validasyon modellerine ait istatistiksel veriler	64
Çizelge 4.2. Çiğ ve pastörize süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri	72
Çizelge 4.3. Saf ve karışım halde bulunan çiğ süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri	75
Çizelge 4.4. Saf çiğ süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri	78
Çizelge 4.5. Karışım halde bulunan çiğ süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri	82
Çizelge 4.6. Saf ve karışım halde bulunan pastörize süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri	89
Çizelge 4.7. Erusik asit miktarının 3 farklı NIR ölçüm modu ile belirlenmesinde farklı ön işlemlerle kurulan PLS modellerine ait performans verileri.....	97

SİMGELER ve KISALTMALAR

SİMGELER

h	: Planck Sabiti
ν	: Radyasyon Frekansı
ΔE	: Enerji Değişim Farkı
c	: Vakumdaki Işık Hızı
λ	: Dalga Boyu
k	: Kuvvet Sabiti
μ	: İki Atomun İndirgenmiş Kütlesi

KISALTMALAR

LED	: Işık Yayan Diyot
NIR	: Yakın Kızılötesi Spektroskopisi
MIR	: Orta Kızılötesi Spektroskopisi
CCD	: Yüklenme İliştirilmiş Araç
PbS	: Kurşun Sülfür
PbSe	: Kurşun Selenür
InGaAs	: İndiyum Galyum Arsenit
InSb	: İndiyum Antimonit
InAs	: İndiyum Arsenit
LVF	: Doğrusal Değişkenli Filtre
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PLS	: Kısmi En Küçük Kareler
PLS-DA	: Kısmi En Küçük Kareler-Diskriminant Analizi
RMSEC	: Kalibrasyonun Hatalarının Ortalama Karekökü
RMSECV	: Çapraz Validasyonun Hatalarının Ortalama Karekökü
RMSEP	: Validasyonun Hatalarının Ortalama Karekökü
R^2	: Belirleme Katsayısı
LOD	: Tespit Limiti
LOQ	: Tayin Limiti
RSD	: Bağlı Standart Sapma

YAME	: Yağ Asidi Metil Esterleri
ABS	: Akrilonitril Bütadien Stiren
PRZ	: Pürüzsüzleştirme
DTND	:De-trend
SND	:Standart Normal Değişken
BST	:Boşluk-Segment Türev
ÇSD	:Çoğaltıcı Saçılma Düzeltme
DO	: Duyarlılık Oranı
YNO	:Yanlış Negatif Oranı
ÖO	: Özgüllük Oranı
YPO	:Yanlış Pozitif Oranı
VO	: Verim Oranı

1. GİRİŞ

Gıda endüstrisinde hammaddenin üretiminden tüketimine kadar geçen tüm aşamalarda gıda güvenliği ve kalitesinin sağlanması, insan sağlığının korunması ve kaliteli bir yaşam için en önemli kriterlerden biridir. Bilinçli gıda tüketiminin artması ve tüketicilerin gıdalarda kalite ve güvenilirlik araması, üreticileri yüksek kalitede ürün üretmeye yönlendirmektedir. Bu aşamada gıdaların fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalite parametrelerinin takip edilmesi gerekmektedir. Gıda ürünlerinin tüketiminde en sık karşılaşılan sorunlardan biri olan kâr amaçlı yapılan tağşişin belirlenmesi hem ülkemizde hem de tüm dünya genelinde büyük bir sorun oluşturmaktadır. Ekonomik değeri ve tüketimi yüksek olan süt, et ve bal gibi ürünlerde yapılan tağşişin hızlıca belirlenip bu ürünlerin üretimini yapan firmaların ifşa edilmesi, üreticileri kaliteli ve güvenilir üretim yapmaya zorlaması açısından büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle gıda kalite parametrelerinin hızlı, güvenilir ve pratik yöntemler ile belirlenmesi gerekmektedir.

Günümüzde referans olarak kabul edilen spektroskopik ve kromatografik yöntemlere alternatif, yaygın kullanımı olan teknolojilerden birisi de yakın kızılötesi (Near Infrared, NIR) spektroskopisidir. 780 ile 2500 nm dalga boyu aralığındaki elektromanyetik radyasyonun absorpsiyonu temeline dayanan NIR spektroskopisi, hızlı, ucuz, çok yönlü ve kesin sonuçlar verebilen ve gıda endüstrisinde örnekleri tahrip etmeden ölçüm yapılabilmesi ile ön plana çıkan bir yöntem olarak bilinmektedir. Tarım, eczacılık, kimya sanayi gibi alanlarda da kullanılan NIR spektroskopisi, gıda örneklerine ait kalite parametreleri ile bu dalga boyu aralığındaki elektromanyetik radyasyon arasındaki korelasyon ilişkisini çözümlmekte ve örneğe ait kalitatif ve kantitatif analizler yapılmasını sağlamaktadır.

NIR spektroskopisi, gıda endüstrisinde meyve, sebze, tahıl ve tahıl ürünleri, süt ürünleri, yağlar, içecekler gibi birçok gıda ürününün kalite parametresinin belirlenmesinde ve farklı birçok analitik yöntemin geliştirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. NIR spektrometrelerinden alınan karmaşık spektral verilerin yorumlanması ile uygun regresyon ve sınıflandırma modellerinin kurulumu aşamasında kullanılan kemometrik metotlar ise son zamanlarda yapılan çalışmalarda NIR spektroskopisinin vazgeçilmez bir parçası olduğunu göstermiştir. Kemometrik metotlar, gıdanın tayin edilmesi istenilen özelliği ile NIR

spektrometresinden elde edilmiş bağımsız değişken olarak tanımlanan spektrum verisi arasında kantitatif ya da kalitatif ilişki kurmakta ve spektral bilgilerin anlamlı sonuçlara yorumlanmasını sağlamaktadır. Bu nedenle NIR spektroskopisi ile kemometrik metotların birlikte kullanılması uygun analitik yöntemlerin geliştirilmesi ve çalıştırılması açısından önem taşımaktadır.

Tez çalışması kapsamında ilk aşamada kemometrik metotlarla birlikte çalışacak farklı ölçüm modlarına sahip NIR spektrometrelerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Sistemlerin geliştirilmesinin ardından bu spektrometreler ile gıdalarda yapılan farklı taşışların kalitatif ve kantitatif belirlenmesi ile geliştirilen sistemlerin gıda analizlerindeki başarılarının incelenmesi hedeflenmiştir. Yapılan çalışmaların ilk bölümünde NIR spektrometresinin tasarımı yapılmış, NIR spektroskopisinin ana elementlerini oluşturan parçalar (NIR sensörü, optik, elektronik ve yazılımsal parçalar) birleştirilerek sistemin ilk prototipi üretilmiştir. Ardından NIR spektroskopisinde kullanılmakta olan 3 farklı ölçüm moduna ait cihaz üretimine geçilmiştir. Geliştirilen reflektans, transmitans ve transflektans spektrometreleri ile analizi yapılacak gıda örneklerine ait farklı özelliklerin belirlenebilmesi ve kemometrik metotlar ile incelenebilmesi hedeflenmiştir. Sistemlerin üretiminin ardından spektrometrelerin aynı örneğe doğru ve farklı zamanlarda tekrarlanabilir spektrum verebildiğini göstermek amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmiş ve sistemlerin başarılı şekilde aynı spektrumları üretebildiği gösterilmiştir.

Tezin ikinci aşamasında ise geliştirilen NIR spektrometreleriyle literatürde bulunmayan gıda taşışı alanında 3 farklı gıda analiz yöntemi geliştirilmeye çalışılmıştır. Bunlar;

- Antep fıstığı yerine taşış amaçlı kullanılan bezelye ve ıspanak örneklerinin NIR reflektans spektrometresiyle belirlenmesi
- Koyun, keçi ve inek sütleri ile bu sütlerin ikili ve üçlü karışımlarının tanımlanması ve sütlere ısıtma işlem uygulanıp uygulanmadığının reflektans spektrometreleri ile belirlenmesi
- Kanola yağlarında bulunmaması gereken erusik asit miktarının reflektans, transmitans ve transflektans spektrometreleriyle belirlenmesi

çalışmaları olmuştur.

Böylece geliştirilen NIR spektrometreleriyle 3 farklı gıda analizi başarıyla gerçekleştirilmiş, gıda güvenliğinde büyük sorun oluşturan gıdalarda yapılan

tağşışın belirlenmesi alanında 3 farklı analiz metodu geliştirilmiştir. Bununla birlikte kanola ve hardal yağı karışımlarındaki erusik asit miktarının belirlenmesi çalışmasında ise geliştirilen 3 farklı ölçüm modunun performansları karşılaştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spektroskopi ve Titreşimsel Spektroskopi Hakkında Genel Bilgiler

Spektroskopi, elektromanyetik radyasyon ve madde arasındaki etkileşimini dalga boyunun bir fonksiyonu (λ) olarak inceleyen bilim dalı olarak tanımlanmaktadır [1]. Spektrometre ise madde bileşenleri hakkında bilgi etmek için bu radyasyonların ölçülmesini sağlayan sistemler olarak özetlenebilmektedir. Spektrograf olarak da adlandırılan bu cihazlar, belirli bir türün miktarını veya konsantrasyonunu ölçebilmekte ve bununla birlikte maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tanımlaması açısından fizikokimya ve analitik kimya çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedirler.

Spektroskopinin temelini oluşturan elektromanyetik radyasyon hem dalga hem de parçacık (foton) özelliklerine sahip elektrik ve manyetik alan özelliklerinden oluşur ve vakum ya da maddenin içerisinde kendiliğinden yayılma özelliğine sahiptir. Bir foton maddenin içinden geçtiğinde, bir atom veya molekül tarafından absorbe edilir ve sonrasında madde içerisindeki moleküller veya atomlar bu fotonun enerjisiyle daha yüksek enerji seviyelerine uyarılır. Yüksek enerji seviyelerinde bulunan bu atom veya moleküller, fazla enerjilerini radyal (emisyon) ya da radyal olmayan yollar ile atarlar ve düşük enerji seviyelerine geri dönerler. Bu şekilde uygun miktarda enerjinin madde tarafından emilmesi ve yayılması durumunda enerji seviyeleri arasında geçiş yaşanmaktadır. Bu enerji geçişi elektromanyetik radyasyon formunda oluşabilmekte ve bu radyasyonun frekansı, enerji değişiminin miktarı ile ilişkilendirilmektedir. Bu ilişki aşağıda gösterilen Planck's teorisi ile açıklanmaktadır.

$$\Delta E = h\nu \quad \text{Eş. 2.1}$$

Formüldeki ΔE enerji değişimini, h Planck sabitini ve ν değeri radyasyon frekansını temsil etmektedir.

Bir molekül uzayda titreşimsel, elektronik, rotasyonel ve dönüşümsel enerji formlarına sahip olabilir. Yakın kızılötesi spektroskopisi (Near Infrared Spectroscopy, NIR) ve Raman spektroskopisi gibi teknikler, titreşimsel enerjiyi atomların veya moleküllerin periyodik olarak denge pozisyonundan

uzaklaştırmasının sonucu olarak değerlendirir. Bu metotlarda kullanılan ışık kaynağı ve frekans birbiriyle bağlantılıdır;

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad \text{Eş. 2.2}$$

c değeri vakumdaki ışık hızını (3×10^8 m/s) ve λ ise ışık kaynağının dalgaboyunu tanımlamaktadır. NIR ve MIR gibi titreşimsel spektroskopiler, ışığın dalga boyu ve bu dalga boyuna bağımlı örnek tarafından yapılan absorpsiyonu ölçmektedir [2].

Optik radyasyon, elektromanyetik spektrumun 100 ile 1000 nm dalgaboyu aralığını içerir. Ultraviyole (UV) bölgesi 100 ile 380 nm arasını, görünür ışık bölgesi 380 ile 780 nm arasını ve kızılötesi bölgesi ise 780'den daha büyük dalgaboylarını kapsamaktadır. Kızılötesi bölgesinde ise NIR bölgesi 780 nm'den 2.5 μm 'ye kadar olan dalgaboylarını, orta kızıl ötesi (Mid-Infrared, MIR) bölgesi ise 2.5 ile 25 μm arasını ve uzak kızılötesi bölge ise 1000 μm 'ye kadar olan bölgeyi kapsar [3]. Bu bölgelerde farklı fiziksel proseslerden dolayı herhangi bir madde ya da kompleks yapıda bulunan karışımlar hakkında değerli bilgiler sağlayan karakteristik emisyon ve absorpsiyon spektrumları gözlenmektedir. Yüksek enerjiye sahip enerji seviyeleri geçişleri, UV ve görünür bölgede absorpsiyon oluşturmaktadır. Peptit bağları ve konjuge çift bağlar UV bölgesinde absorpsiyon yaparken, karotenoid, klorofil ve antosiyanin gibi çok fazla sayıda konjuge çift bağ içeren yapılar ise görünür bölgede absorpsiyon göstermektedir [4]. Titreşimsel geçişler ise elektronik geçişlere göre daha düşük enerji değerleriyle karakterize edildiklerinden dolayı NIR ve MIR bölgelerinde görülmektedirler [5].

Titreşimsel spektroskopinin prensibine genel olarak bakılacak olursa herhangi bir kimyasal yapıda gerçekleşen titreşimin moleküler yapı içerisindeki atom-atom bağı arasında oluşan titreşimden kaynaklandığı söylenebilmektedir. Kimyasal bağ ile bağlanan iki atomun temel titreşim frekansları, bant enerjilerinin diatomik harmonik bir osilatörün titreşiminden kaynaklandığı varsayımında bulunulur ve Hooke yasasına uyduğu kabul edilirse aşağıdaki formül ile kabaca hesaplanabilmektedir;

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \text{Eş. 2.3}$$

ν = Titreşimsel frekans

k = Kuvvet sabiti

μ = İki atomun indirgenmiş kütlesi

Bu formül basit diatomik moleküller için uygun şekilde çalışır ve genel olarak poliatomik bir molekül içerisindeki 2 atom gerilmesi arasındaki ortalama ya da merkez frekansını verir. Buna ek olarak iki atomun indirgenmiş kütlesi, örnek olarak verecek olunursa CH, OH ve NH için sırasıyla 0.85, 0.89 ve 0.87 olduğundan bu bağların ideal frekanslarının birbirine çok yakın olduğu görülecektir. Ancak gerçek moleküllerde, birbirine kimyasal bağlarla bağlı iki atomun etrafında bulunan elektron veren veya alan atom ya da grupların varlığı, kimyasal bağın gücünü ve uzunluğu büyük şekilde etkileyecektir. Bu durum da formülde bulunan k değerini (bağ gücü) büyük oranda değiştirecek ve o bağın yapısını spektrum içerisinde gösterebilecektir. Tüm bu titreşimsel frekansların değişimi ise NIR, MIR ve Raman spektrumlarında incelenen bileşenin yapısını göstermek açısından büyük önem taşımaktadır [6, 7].

2.2. Yakın Kızılötesi Spektroskopisi

Elektromanyetik bölgedeki yakın kızılötesi (780-2500 nm arası) dalgalı boylarındaki titreşim frekanslarının ölçülmesi prensibine dayanan ve moleküler overtonlar ile kombinasyon titreşimleriyle karakterize edilen NIR spektroskopisi, düşük molar absorpsiyon katsayılarına sahip olmasına rağmen örneğe daha fazla nüfuz edebilmesi özelliğiyle MIR'a göre avantajlı bir yöntem olarak ön plana çıkmaktadır [8]. C-H, O-H ve N-H gibi yüksek titreşimsel frekanslara sahip kimyasal bantlar, NIR bölgesinde overton ve kombinasyon bantları oluşturmakta ve bu bölgede şiddetleri ölçülebilmektedir. Böylece tarım, gıda, eczacılık vb. birçok alanda kalitatif ve kantitatif analizlerde kolaylıkla kullanılabilir [9].

NIR spektroskopisi hassas bir teknik olmakla ön plana çıkarken, aynı zamanda çok az veya örnek hazırlama prosedürü olmadan büyük miktarda örnek ile çalışabilme olanağı da sunmaktadır. Ancak moleküler titreşimlerden overtonlar ve kombinasyon bantlarının genellikle spektrumda geniş yapıda olması ve birbiri üzerine eklenmesi, NIR bantlarının kimyasal bileşenler ile ilişkilendirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle NIR spektrumları çok değişkenli kalibrasyon teknikleri ile işlenmekte ve böylece absorptans, transmittans veya reflektans

spektrumlarından örneğe ait gerekli kimyasal bilgiler kolaylıkla çıkarılabilmektedir [8, 10].

NIR spektroskopisini oluşturan temel bileşenler, ışık (radyasyon) kaynağı, dalgaboyu seçicisi (monokromatör), örnek tutucusu, ölçülen ışığın şiddetini elektriksel sinyale çevirecek fotoelektrik dedektör ve spektral verinin alınıp işleneceği bilgisayar sisteminden oluşmaktadır [11]. NIR spektroskopisinde analitik uygulamalar için çoğunlukla kuvartz halojen lambalar ışık kaynağı olarak kullanılmaktadır. Hem küçük ve uzun ömürlü olması hem de günlük hayatta ev/işyeri gibi yerlerde aydınlatma için kullanılması açısından NIR spektroskopetrelerinde sıklıkla tercih edilmektedir [8, 12]. Bu tür lambalar buharlaştırılmış tungstenin filamana dönüşünü kullanarak kullanım ömrünü uzatmak için halojen gazı ile doldurulurlar. Lambanın ömrü filamanın tasarımına ve kullanıldığı sıcaklığa bağlı olmakla birlikte 50 ile 10,000 saat arasında değişmektedir. NIR sistemlerinde kullanılan bir diğer ışık kaynağı ise ışık yayan diyotlar (light emitting diodes, LED)'dir. Uzun ömürlü olması, düşük güç gereksinimleri ve yüksek spektral stabilitesine sahip olmasından dolayı tercih edilmektedir. Spektrometrede kullanılacak lambanın seçimi, sistemin kullanım koşullarına, amacına ve ilgili spektral alana göre yapılmalıdır. Lambanın voltajındaki artış, emisyon spektrumlarının görünür bölgeye kaymasına ve kullanım ömrünün % 30 oranında azalmasına sebep olmaktadır. Düşük voltajlı lambaların kullanımı ise lamba ömrünü artırırken görünür bölgedeki ışık radyasyonu yoğunluğunu azaltır. Bu nedenle sistemin çalışma alanına göre lambanın belirlenmesi, sistemin stabilitesi ve uzun ömürlü olması açısından büyük önem taşımaktadır [13].

Işık kaynağından gelen ışın demetini kızılötesi bölgesinde farklı dalga boylarına ayırmak ve örneğe göndermek amacıyla kullanılan 2 farklı dalga boyu seçici türü bulunmaktadır. Belirli bir dalga boyu aralığında çalışma amacıyla geliştirilmiş NIR spektrometrelerinde ayırık dalga boyu seçiciler kullanılmaktadır. Bu sistemler örneğe belli sayıda dalga boyuna sahip ışınları göndermekte ve o bölgede analizi yapılabilecek maddelerde analize olanak sağlamaktadır. Özellikle son zamanlarda geliştirilen tüm parçaları hareketsiz spektrometrelerde kullanılmakta ve boyutlarının küçülmesiyle spektrometrelerin taşınabilir hale gelmesine yardımcı olmaktadır. Bu tür spektrometrelerde, dar bölgede ışık yayan LED ışınlarına veya farklı dalgaboyu aralıklarında çalışan ışık kaynaklarından gelen ışınların

geçmesine izin veren filtreler kullanılmaktadır. Tüm dalga boylarında çalışılmasına izin veren dalga boyu seçiciler ise kırınım ızgarası, girişim ölçer (interferometer), diot serisi ve akusto-optik uyarlanabilir filtreler (acousto-optic tunable filters, AOTFs) olarak sınıflandırılabilir. Bu dalga boyu seçiciler, spektrometrelerin tüm NIR bölgesinde çalışmasına ve farklı birçok maddenin analizine olanak sağlayabilmektedir. Spektrometrelerde uygun dalga boyu seçicinin tercih edilmesi, analit hassasiyeti, güvenilirliği, kullanım kolaylığı, kalibrasyon transfer edilebilirliğine yardımcı olması gibi faktörler değerlendirilerek yapılması gerekmektedir [12, 14].

Spektroskopik sistemlerde sıklıkla kullanılan yarı iletken foto-dedektörlere örnek olarak fotodiyotlar, çift fotodiyotları, fotodiyot dizileri ve CCD (charge coupled device, yüklenme iliştilmiş araç)'ler verilebilmektedir. NIR spektrometrelerinde kullanılan dedektör türleri ise silikon, kurşun sülfür (PbS), kurşun selenür (PbSe), indiyum antimonit/indiyum arsenit (InSb/InAs), CCD ve indiyum galyum arsenit (InGaAs) fotodiyot dedektörleridir. Ucuz, kompakt yapıda ve kullanımı kolay cihazlar olduğundan dolayı en sık kullanılan fotodedektörlerden olan fotodiyot dedektörlerin yapısında bulunan yarı iletken materyale göre çalışabildikleri spektrum aralığı ve hassasiyeti değişmektedir. Silikon fotodiyot dedektörler 300 ile 1100 nm arasında hassas sonuçlar verebilmekte iken, PbS dedektörler 1100 ile 2500 nm arasında hassas ve yüksek sinyal/gürültü oranına sahip ölçümler yapabilmektedir. InGaAs fotodiyot dedektörler 800 ile 1700 nm arasında ve diğer 2 dedektöre göre daha hızlı ve hassas ölçümler alabilmesiyle ön plana çıkmaktadır. NIR spektroskopisinde kullanılan diğer dedektörlere ait genel bilgiler Çizelge 2.1'de gösterilmiştir [15].

Çizelge 2.1. NIR spektroskopisinde kullanılan dedektörler

Dedektör	Dalga boyu aralığı (nm)	Dalgaboyu Alanı	Cevap Verme Hızı/Tayin Edebilme
	1100-2500	NIR	
PbS	400-2600	UV-NIR	Orta/Orta
	1100-4500	NIR-MIR	
PbSe	1100-5000	NIR-MIR	Hızlı/Yüksek
InGaAs	700-1700	NIR	Hızlı/Çok Yüksek
		NIR Raman	
		NIR	
InSb/InAs	1000-5500	MIR	Hızlı/Çok Yüksek
		IR	
CCD	800-2200	NIR	Hızlı/Yüksek

PbS: Kurşun Sülfür, PbSe: Kurşun Selenür, InGaAs: İndiyum Galyum Arsenit, InSb/InAs: İndiyum antimonit/İndiyum arsenit, CCD: Yüklenme İliştirilmiş Araç.

NIR spektroskopisi, örneğin fiziksel ve optik yapısına göre çalıştırılmak üzere 3 farklı ana spektral ölçüm moduna sahiptir. Bu ölçüm modları genel olarak reflektans (speküler veya difüz), transmitans ve transflektans ölçüm modlarıdır [9, 16]. Kullanılan ışık kaynağının bulunduğu yer ve sisteme eklenen farklı yansıtıcı yüzeyler ile oluşturulan bu 3 farklı NIR ölçüm modu ile örneğe ait farklı bilgiler alınabilmektedir.

2.2.1. Yakın Kızılötesi Reflektans Spektroskopisi

Reflektans ölçüm modunun prensibi, örnek tarafından yüzeyden yansıtılan radyasyonun ölçülmesine dayanmaktadır. Örneğe NIR spektrometresinden gönderilen ışık, örneğin içerisine doğru birkaç milimetre nüfus ettikten sonra tekrar geriye doğru yansıtılmaktadır. Böylece örnekteki kimyasal bantlarla etkileşim kuran ve yansıyan ışık ile örnek içerisindeki bu bantların konsantrasyonu arasında ilişki kurulabilmektedir.

Yansıyan ışık, yüzeyin içerisine nüfus etme şiddetine göre speküler ve difüz reflektans olarak iki grupta incelenmektedir. Örnek yüzeyi parlatılmış ve pürüzsüz bir yüzeyse, NIR bölgesinde gönderilen ışınlar bu yüzeyde toplanmakta ve

speküler reflektans adı verilen özgün bir yansıma göstermektedir. Bu yansımada örnek içerisinde ışığın nüfuz etme oranı düşük kalmakta ve ışığın büyük kısmı geri yansımaktadır. Bu nedenle oluşan speküler reflektans örnek hakkında çok fazla bilgiye sahip değildir. Örnek yüzeyinin düz olmaması, pürüzlü hale gelmesiyle birlikte ışık kaynağından gönderilen radyasyon örneğe daha fazla difüzlenmekte ve yansıyan ışık difüz reflektans adını almaktadır. Örnekle daha fazla etkileşime girmesinden dolayı difüz reflektans spektrumu ile örnek hakkında daha fazla bilgiye sahip olunmaktadır [9, 17].

Katı örneklerin difüz reflektans ölçümleri NIR spektroskopisi ölçüm modları arasında ayırt edici özelliklere sahiptir. Difüz reflektans modunda örnek granülleri tarafından yapılan absorpsiyon ile sonrasında oluşan saçılma, spektrumdaki sinyal şiddetine birlikte katkıda bulunmaktadır. Bu tür ölçümlerde sinyalin işlenmesi amacıyla Kubelka ve Munk'ın geliştirmiş olduğu eşitlik kullanılmaktadır. Sadece saydam örneklerde sinyal şiddeti ile örnek konsantrasyon arasında ilişki kuran Beer yasasının saydam ve homojen olmayan örnekler için uyarlanması amacıyla geliştirilen bu matematiksel formül, reflektans spektroskopisinde konsantrasyon (C) ile difüz reflektans (R) arasında doğrusal bir ilişki kurulmasını sağlar.

$$f(C) = \frac{(1-R)^2}{2R} \quad \text{Eş. 2.4}$$

Difüz reflektans ise aşağıdaki şekilde formülize edilmektedir.

$$R = \frac{I_R}{I_{R0}} \quad \text{Eş. 2.5}$$

I_R değeri örnekten dedektöre yansıyan ışığın şiddetini verirken, I_{R0} ise tüm dalga boyu aralığında herhangi bir absorpsiyon yapmadan tüm ışığı dedektöre gönderen yansıtıcı materyalden gelen ışık şiddetini temsil etmektedir. I_{R0} değerinin elde edilmesi için kullanılan referans materyalinin mükemmel şekilde tüm dalga boylarında ışığı saçması gerektiği için reflektans spektroskopisinde nadiren kullanılmaktadır. Bu sorunun çözümü için aşağıdaki formül geliştirilmiş ve bu formül doğrusal yapıda olmamasına rağmen reflektans ölçümlerinde analitik metotların geliştirilmesi için sıklıkla kullanılmaktadır.

$$f(C) = \text{Log} \frac{1}{R}$$

Eş. 2.6

Formül Kubelka-Munk eşitliğinden çok uzaklaşmadan örnekten dönen reflektans yansımadaki küçük değişiklikleri dahi analit konsantrasyonu ile doğrusal bir ilişki kurmakta başarılı olmaktadır [18].

2.2.2. Yakın Kızılötesi Transmittans Spektroskopisi

Transmittans ölçüm modu, daha çok sıvı ya da süspansiyon formunda bulunan sıvı içerisindeki katı maddelerin analizi amacıyla kullanılmaktadır. Örneğe gönderilen ışık, örnek tarafından absorbe edilmekte ve ışığın şiddetinde düşüş yaşanmaktadır. Bu ışık şiddetindeki azalma kaydedilerek transmittans spektrumu elde edilmekte ve örneğe ait spektral bilgiler yorumlanabilmektedir. Transmittans modunda örnek, ışık kaynağı ile dedektörün tam arasına gelecek şekilde cam ya da kuvarz içerisine yerleştirilmektedir. Işık yolunun uzunluğu 1 ile 50 mm arasında değişmektedir. Optik yolun uzunluğu, taranacak olan spektral bölge ile ilişkilidir. Optik yol kısaltıldıkça spektrumda gözlenen yüksek dereceli overtonlar, kombinasyon bantlarının bulunduğu bölgeye doğru ilerlemektedir [18, 19].

Transmittans ölçüm modu, örneklerin iç ve dış kalite parametrelerinin belirlenebilmesi açısından büyük avantaj sunmaktadır. Işığın örneğin içerisinde geçtikten sonra dedektöre ulaşmasından dolayı örneğin iç yapısı hakkında bilgi sunabilmektedir. Böylece örneğin tüm özellikleri spektruma yansıtılabilmekte ve örneğin homojen olmamasından kaynaklı hatalar minimuma indirgenebilmektedir [9].

Transmittans spektroskopisinin temelini oluşturan Beer yasası, sadece örnekten kaynaklanan saçılmanın olmadığı durumlarda geçerlidir. Bu saçılma, fotonların örneğin içinden geçtiği yol uzunluğunu değiştirmekte ve bu durum her örnek için farklı olacağından sabit bir ışık yolu uzunluğu belirlenememektedir. Sütün içerisinde bulunan yağ globüllerinin büyüklüğünden dolayı ışık saçılmakta ve süt örneği için Beer yasası işlemez duruma gelmektedir. Bu nedenle transmittans ölçümleri daha çok büyük partiküllü örneklerin ölçümü için uygundur. Et, peynir ve tahıllar gibi kalınlığı 1-2 cm'i geçmeyen örneklerde meydana gelen zayıf

absorpsiyon bantları mümkün olan en faydalı bilgilerin elde edilmesini sağlamaktadır [20].

2.2.3. Yakın Kızılötesi Transfleksans Spektroskopisi

Transfleksans ölçüm modu, ilk aşamada Technicon firması tarafından InfraAlyzer cihazı için geliştirilmiştir. Ölçüm modu kısaca reflektans ve transmitans ölçüm modlarının birleştirilmesi olarak tanımlanabilmektedir. Işık kaynağından çıkan fotonlar örnekten geçmekte, ardından örnekten çıkan ışınların karşısına yerleştirilen seramik, alüminyum, altın, çelik vb. bir yansıtıcı yüzeye çarpmakta ve geriye saçılmaktadır [7]. Böylece ışığın izlediği yol transmitans ölçümüne göre 2 katına çıkmaktadır [21]. Transfleksans ölçüm modu reflektans ya da transmitans ölçüm modu kadar yaygın kullanılsa da optik prop kullanılarak sıvı akışkanların analizinde kullanılabilmektedir [9]. Aynı zamanda bulanık veya saydam sıvıların ölçümlerinde de sıklıkla kullanılmaktadır.

2.3. Veri İşleme Teknikleri ve Kemometrik Metotlar

NIR spektrometrelerinden alınan bir spektrumda, örneği tanımlamak ya da sınıflandırmak amacıyla kullanılacak çok sayıda fiziksel ve kimyasal bilgi bulunmaktadır. Ancak NIR spektrumlarındaki overtonların birbiri üzerine çakışması ve genellikle geniş yapıda bulunmasından dolayı bu bantların örnekteki kimyasal bantlar ile ilişkilendirmesi oldukça zorlaşmaktadır. Bu nedenle örnekle ilgili kalitatif ya da kantitatif analiz yapmak spektruma herhangi bir matematiksel işlem uygulamadan pek mümkün olmamaktadır.

Bu nedenle öncelikle spektrumlar üzerinde bazı matematiksel ön işlemler uygulanarak spektrumdan mümkün olduğu kadar veriyi ortaya çıkarmak, ardından bu verileri yorumlayarak analitik metotlarda kullanmak amacıyla çok değişkenli veri analizi metotları kullanmak gerekmektedir. NIR spektroskopisi ile spektrumlardaki verileri çözümlmek, analitik veriden mümkün olduğu kadar ilgili veriyi çıkarmak ve ilgisiz verileri silmek için kullanılan matematiksel ve istatistiksel teknikler kemometri olarak tanımlanmaktadır [19].

Spektroskopi alanında kullanılan kemometrik metotlar ise genel olarak kalitatif ve kantitatif analiz metotları olarak iki gruba ayrılabilir. Kalitatif amaçlı geliştirilen metotlara temel bileşen analizi, diskriminant analiz ve kısmi en küçük

kareler yöntemi-diskriminant analizi gibi metotlar örnek verilebilirken, kantitatif amaçlı olarak kullanılan metotlar olarak kısmi en küçük kareler yöntemi, çoklu doğrusal regresyon (multiple linear regression, MLR), temel bileşen regresyon (Principal component regression, PCR) ve yapay sinir ağları (Artificial Neural Networks, ANN) gösterilebilmektedir [22]. Bu metotların ilk amacı spektral verideki çok sayıda bulunan değişken sayısını verilerin iç yapısını en iyi anlatan anlamlı verileri içeren mümkün olduğu kadar en az sayıdaki temel bileşenlerine indirmektir. Ardından sınıflandırma amaçlı kullanılan metotlar birbirine benzer yapıdaki verileri aynı grupta toplayarak birbirinden ayırmakta, regresyon amaçlı kullanılan metotlar ise elde edilen verileri örnekteki analizi yapılmak istenilen özellikle doğrusal bir şekilde ilişkilendirmektedir [23].

2.3.1. Ön İşlem Teknikleri

Herhangi bir spektrometreden alınan spektrum ile istenilen özellik arasında bir ilişki kurulmak istenildiğinde, istatistiksel metotlar kullanılmadan önce spektrumlara bazı ön işlemler uygulanması gerekmektedir. NIR spektroskopisinde elektromanyetik radyasyon dalga boylarının büyüklüğü ve biyolojik örneklerde partikül büyüklüğü nedeniyle kaydedilen numune spektrumlarını etkileyecek istenmeyen saçılma etkileri (temel hat (baseline) kayması, arka plan gürültüsü ve doğrusallıktan sapmalar) yaşanabilmektedir [24]. Spektrumda yaşanan bu istenmeyen etkiler, kalibrasyon modelinin geliştirilmesi aşamasında yanlış ve biaslı sonuçlara sebep olabilmektedir. Bu nedenle NIR verileriyle çalışılırken öncelikle ön işleme gerek olup olmadığına karar verilmesi, kullanılacak ise hangi ön işlemin uygun olduğunun belirlenmesi model kurulum aşamasında büyük önem taşımaktadır [25].

Spektrumu alınacak örneklerin bazılarının fiziksel yapısından dolayı tekrarlanabilir yapısal form oluşturulamamakta, bu durum da tekrarlanabilir spektrumların alınmasını engellemektedir. Özellikle granüler formda bulunan katı örneklerde spektrometreden gelen ışığın fazla ve istenmeyen yönlerde saçılmasından dolayı dedektöre gelen anlamlı sinyalde kayıplar yaşanabilmektedir. Bu ön işlemlerden standart normal değişken (standart normal variate (SNV)), de-trend ve çoğaltıcı saçılma düzeltme (Multiplicative Scatter Correction (MSC)) gibi normalizasyon ön işlemleri, bu fiziksel yapıdan kaynaklanan sorunun çözülmesi için spektrumlara

uygulanmaktadır. Yumuşatma (smoothing), 1. ve 2. türev, boşluk-segment türev metodu gibi ön işlemler ise spektrumda bulunan gürültüyü ve spektrumlar arasındaki kaymayı azaltmak ve arka plan efektlerini silmek amacıyla spektrumlara uygulanmaktadır.

Bu ön işlemlerden SNV, granüler ya da toz yapıda örneklerin örnek hücresi içerisinde tekrarlanabilir yapıda tutulamamasından ve bu nedenle tekrarlanabilir spektrum alınamamasından ya da partikül büyüklüğünün değişiminden kaynaklanan spektrum üzerindeki farklılaşmaların giderilmesi için kullanılmaktadır. Bu ön işlem, spektrumdaki tüm değerlerden spektrumun ortalaması çıkarıldıktan sonra spektrumun standart sapmasına bölünmesi ile gerçekleştirilmektedir. Barnes ve ark. tarafından yapılan çalışmada geliştirilen ve yine katı partiküllü örneklerin spektrumlarındaki temel hat kaymasını düzelten bir diğer metod olan de-trend yöntemi ise temel hat eğriliğini, dalga boyunun kuadratik bir fonksiyonu olarak tanımlamakta ve spektrumdan silmektedir [26]. SNV ve de-trend ön işlemleri gibi ışık saçılması ve partikül boyutuyla ilgili sorunlara odaklanan bir diğer metod olan MSC yönteminde öncelikle tüm veri setinin ortalaması alınarak bir referans spektrum elde edilmekte ve bu spektruma karşılık örnek spektrumu en küçük kareler regresyon yöntemine tabi tutulmaktadır. Elde edilen doğrusal formüldeki kesişim noktası örnek spektrumlarının tümünden çıkarılmakta ve ortaya çıkan spektrum, formülün eğimine bölünmektedir. Böylece NIR ölçümlerinde ışık saçılmalarının üst üste eklenerek vereceği yanlış spektral bilgileri engellemeye ve analit konsantrasyonlarına bağlı olmayan varyasyonları en aza indirmeye çalışılmaktadır [25].

NIR spektrumlarına uygulanan spektral türevlendirme ön işlemlerinden pürüzsüzleştirme yöntemi, noktadan noktaya sinyal içerisindeki rastgele değişimlerle ifade edilen gürültüyü azaltmaya çalışan bir ön işlemdir. En basit düzeltme yöntemi, her bir spektral noktayı düzeltme penceresinin genişliği ile tanımlanan m sayıda bitişik noktanın ortalaması ile değiştiren hareketli ortalama pencereyi içermektedir [27]. Spektroskopik uygulamalarda spektral çözünürlüğü artırmak ve arka plan absorpsiyonunu elimine etmek için 1. ve 2. türev uygulamaları da sıklıkla kullanılmaktadır. 1. türev spektrumda sabit olarak bulunan arka plan efektlerini silerken, ikinci türev ana hat çizgisindeki doğrusal eğim varyasyonlarını ortadan kaldırmaktadır. Türev için en çok kullanılan algoritma ise seçilen derecede difransiyeli oluşturmak için hareket eden pencerenin içinde yer

alan verinin belirli bir dereceden polinom ile eşleştirildiği aldığı Savitzky Golay (SG) algoritmasıdır [28]. SG algoritmasına alternatif olarak geliştirilen boşluk-segment türev metodu ise eğri uydurma olmaksızın spektrumların sonlu farklarını hesaplayarak analitik türevi yaklaşık olarak tahmin etmektedir. Bu sonlu farkın hesaplandığı mesafe (boşluk) değiştikçe, spektral veriler için ayarlanabilme avantajı sunmaktadır [29].

2.3.2. Klasifikasyon ve Regresyon Yöntemleri

Kalitatif spektrum analizinde en sık kullanılan PCA yönteminin temelinde büyük veri setinde bulunan bilgileri daha basit şekilde açıklamak ve sahip oldukları çok sayıda değişkeni daha az sayıda anlamlı doğrusal yapıdaki temel bileşenlerine indirmek amacı bulunmaktadır. PCA analizi ile veri setinde mevcut olan örneğe ait bilgi korunurken, çok sayıda bulunan birbiriyle ilişkili değişkenlerin sayısı başarıyla azaltılmaktadır. Böylece yeni oluşan değişken kümesi, spektrumun kendisiyle doğrusallık göstermekte ve spektrumda bulunan bilgiyi daha az veriyle temsil edebilmektedir [30].

Sınıflandırma amacıyla kullanılan bir diğer yöntem olan kısmi en küçük kareler-diskriminant analizi ise PLS temelli veri azaltma ve sınıflandırma yöntemidir. PLS-DA yönteminde standart PLS algoritması kullanılmakta, ancak bağımlı y değişkeni için tahmin edilmesi istenilen örneğe ait özellik yerine 0 ve 1 gibi sınıfı temsil eden rakamlar tanımlanmaktadır. İki'den fazla sınıfın tanımlanmak istediği durumlarda PLS2 algoritması kullanılmaktadır [31]. PLS modeli sistemde uygulandığında her bir örnek için Y_{tahmin} değeri hesaplanmaktadır. Örneğin hangi grupta olduğu ise Y_{tahmin} değerinin önceden tanımlanan Y_1 ya da Y_0 değerlerinden birine olan yakınlığıyla belirlenmektedir [32]. Buradaki Y_{tahmin} değerleri ile birlikte Bayes teoremi kullanılarak bir eşik limiti (EL) sınır değeri hesaplanmakta ve bu değer üzerinde kalanlar 0 sınıfı, altında kalanlar ise 1 sınıfı olarak tanımlanmaktadır. Birden fazla grup tek bir modelde tanımlanmak istenildiğinde ise sınıf sayısı kadar eşik limiti değeri hesaplanmakta ve ayrı ayrı sınıflandırmalar tek modelde gösterilebilmektedir [33].

Regresyon yöntemi olarak spektroskopik metotlarda en çok kullanılan çok değişkenli kalibrasyon metotlarından olan PLS, bağımsız değişkenlerin (spektrum) bağımlı değişkenler ile (örnek özelliği) ilişkilendirilmesini gizli değişkenler

yardımla yapabilen analiz metodu olarak tanımlanmaktadır. Yöntemin amacı spektral verileri mümkün olduğunca verimli kullanarak örnek özelliklerini tahmin edebilen bağımsız değişkendeki varyasyonlardan çok daha az sayıda gizli değişken (gizli faktör) oluşturabilmektir [34].

2.4. NIR Spektroskopisiyle Yapılmış Gıda Analizleri Çalışmaları

NIR spektroskopisi farklı birçok endüstride yaşanan sorunlara ait çözüm bulmak amaçlı yıllardır kullanılmakta olan bir yöntem olarak bilinmektedir. NIR spektroskopisinin kullanıldığı alanlara örnek olarak kimya endüstrisi, biyomedikal bilimler, polimer endüstrisi, ziraat ve gıda analizler örnek gösterilebilmektedir [6, 7]. Gıda alanında NIR spektroskopisi ile yapılan çalışmalara bakıldığında hububat ve hububat ürünleri, süt ve süt ürünleri, et, balık, sebze, meyve ve içecekler gibi neredeyse tüm gıda alanını kapsayacak çalışmalar bulunmaktadır. Literatüre bakıldığında ise NIR ile yapılan çalışmaların gıdada bulunan kalite parametrelerinin, gıda menşeinin ve gıdada yapılan taşışın belirlenmesi üzerine yoğunlaştığı görülmektedir [35].

NIR spektroskopisinin en sık kullanıldığı gıda alanı olan hububat ve hububat ürünleri arasında yapılan analizlerde en önemli bölümü hububat ürünlerinin kalitesini belirlemede kullanılan protein ve nem analizleri oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalara bakıldığında buğday için geliştirilen protein, nem ve sertlik analizleriyle birlikte hamurdaki protein ve nem içeriklerine ait kalibrasyon modellerinin başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür [35-38].

NIR spektroskopisinin sıklıkla kullanıldığı bir diğer alan ise süt ve süt ürünleridir. Çiğ ya da ısıtılmış sütte, süt tozunda, kremada veya farklı peynir türlerinde kalite parametresi olarak kullanılan protein, nem, yağ ve laktoz miktarının NIR spektroskopisinin farklı ölçüm modları ile başarıyla belirlendiği çalışmalar mevcuttur [39-42].

NIR spektroskopisi hindi, sığır ve domuz gibi etlerin protein, nem ve yağ miktarının belirlenmesi, yağ asidi bileşiminin çıkarılması, kıymanın hangi hayvan türünden yapıldığının belirlenmesi ve kuzu etinin yağ oksidasyonunun takip edilmesi gibi birçok çalışmada kullanılmaktadır [43-46]. Sone ve arkadaşlarının yapmış olduğu iki çalışmada ise somon balıklarının depolama ve işleme sırasında yapısında meydana gelen fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişiklikleri NIR spektroskopisi

yardımıyla incelemiş ve taze somon balıklarının sınıflandırılmasında başarılı olmuşlardır [47, 48].

Gıda endüstrisinde büyük bir sorun olan tağşişin belirlenmesinde de NIR spektroskopisi başarılı sonuçlar vermektedir. Gıda endüstrisinde yapılan tağşişler, ilk etapta ekonomik kazanç amacıyla yapılan bir işlem olarak düşünülmekte ve gıda güvenliğinin sağlanması amacıyla üreticilere bazı yaptırımlar uygulanarak çözülebilecek bir sorun olarak görülmektedir. Ancak 2007 ve 2008 yıllarında melaminle ilgili literatürde ve süt sanayinde ortaya çıkan sorunlar, kâr amacı güden bu işlemin sağlık açısından ne kadar tehlikeli olabileceğini ve gıda güvenliği ile ilgili alınacak önlemlerin ne kadar önemli olduğunu göstermiştir [49].

Gıda ürünlerinde tağşişin belirlenmesi amacıyla kullanılan gaz ve sıvı kromatografileri, nükleer manyetik rezonans, ultraviyole-görünür ışık spektroskopisi (UV/VIS), enzim bağlı immunosorbent testi ve termal analiz gibi birçok analitik yöntemin duyarlılıkları ve doğrulukları yeterince yüksek olmasına rağmen, pahalı, zaman alıcı, kapsamlı örnek hazırlamayı gerektiren, tehlikeli kimyasal maddelerle çalışma zorunluluğu olan ve nitelikli personel gerektiren yöntemlerdir [50]. Klasik metotlarla karşılaştırıldığında, NIR spektroskopisi numunenin kimyasal ve moleküler yapısı üzerinde hızlı, güçlü ve doğru sonuçlar veren bir yöntem olarak ön plana çıkmakta ve bu yöntemlere alternatif olabilmektedir [14].

NIR spektroskopisi buğday [51], bal [52], süt [53], palm yağı [54], zeytin yağı [55] ve et [56] gibi birçok gıdanın tağşişinin belirlenmesinde başarıyla kullanılmakta olan yöntemlerden biridir. Bu gıdalardan bebeklik ve çocukluk döneminden itibaren beslenmede büyük bir payı olan süt ve süt ürünlerinin kalitesinin izlenmesi büyük önem taşımakta ve yapılan tağşişlerin belirlenmesi açısından literatürdeki çalışmalar devam etmektedir [57-60]. 2016 yılındaki süt üretiminin yılda 816 milyon tona yükselmesi, süt ve süt ürünlerinin ekonomik anlamda büyük öneme sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum da üreticilerin süt ve süt ürünlerinde tağşiş amacıyla hareket etmelerine sebep olan en önemli etken olarak ön plana çıkmaktadır. Süte yapılan tağşiş, doğal sütün kompozisyonunu bozacak şekilde dışarıdan herhangi bir bileşenin farklı şekillerde katılması olarak tanımlanabilir. En çok bilinen tağşiş türleri çiğ süte su katılması, keçi sütü gibi daha değerli süte inek sütü gibi daha az değerli sütün eklenmesi ve süt yağı yerine süte margarin katılması örnek gösterilebilir. Süte su katılması ekonomik amaçlı yapılmış ve sütün

besinsel özelliklerini düşüren ve sağlık sorunu yaratmayan nispeten zararsız bir tağşiş türüdür. Ancak farklı bir hayvandan alınan sütün başka bir sütle karıştırılması sonucunda bazı süt proteinlerine alerjik reaksiyon gösteren bünyelerde sağlık sorunları yaratabilmektedir [61, 62]. Dolayısıyla sütün kalite kontrolünün etkili şekilde yapılması, hem tüketici sağlığının korunmasına yardımcı olurken hem de süt endüstrisine ekonomik ve yasal açıdan avantajlar sağlamaktadır.

Ülkemizde tüketimi yüksek olan baklava ve fıstık ezmesi gibi tatlıların ana maddesi olan antep fıstığının fiyatının yüksek oluşu, şekerleme endüstrisinde üretiminde ana bileşen olduğu gıda ürünlerinin orijinalliği konusunda endişeler yaratmaktadır. Antep fıstığının renginin ve aromasının benzerliğinden dolayı gıda ürünlerine fıstık yerine bezelye ve ıspanakla karıştırılarak tağşiş yapıldığı bilinmektedir [63]. Bu nedenle antep fıstığı tağşişinin belirlenmesi, tüketicileri gıda sahteciliğine karşı korumak adına büyük önem arz etmektedir.

Yenilebilir yağ endüstrisinde tüketimi yüksek olan ürünlerden biri olan kanola yağı, kolza (*Brassica napus* L.) tohumundan elde edilen ve yüksek miktarda erusik asit içeren kolza yağı yerine ıslah çalışmaları sonucu geliştirilen, erusik asit içermeyen “çift-düşük (double-low)” kolza tohumundan elde edilen yağ olarak tanımlanmaktadır. Erusik asit (22:1) ise hardal tohumu, kolza tohumu ve diğer *Brassica* cinsi tohum yağlarının ana bileşenini oluşturmakta olan toksik yapıdaki yağ asididir. Hardal yağının yağ asidi bileşiminin büyük bir kısmını oluşturan erusik asidin, test hayvanlarında kardiyal, lipidoz ve kalp lezyonlarıyla ilişkilendirilmesine kadar hardal tohumu, yenilebilir yağ üretiminde uzun yıllar kullanılmıştır [64, 65]. Ancak erusik asidin birçok sağlık sorununa sebep olduğu belirlendikten sonra yenilebilir yağlardaki erusik asit miktarı birçok ülkede düzenlenerek erusik asidin halk sağlığı üzerindeki etkisi minimuma çekilmeye çalışılmıştır. Ancak üreticiler hardal yağı ile kanola yağını karıştırarak daha ucuza mal ettikleri erusik asit miktarı yüksek olan yağ karışımını piyasaya sürdüğü bilinmektedir [64]. Bu nedenle yağ karışımında bulunan erusik asit miktarının geleneksel olarak kullanılan kromatografik yöntemler yerine daha hızlı ve kolay sonuç alan bir yöntem ile belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. NIR Spektrometrelerinin Geliştirilmesi

Sistemin fiziksel, elektriksel ve yazılımsal geliştirilmesi aşamasında tez kapsamında yürütülen San-Tez 552.STZ.2013-2 kodlu “Hızlı Gıda Analizlerine Yönelik NIR Sisteminin Geliştirilmesi” projesinin bütçesinden yararlanılmış ve proje ortağı Nanosens A.Ş. firmasının çalışanlarıyla birlikte çalışmalar sürdürülmüştür.

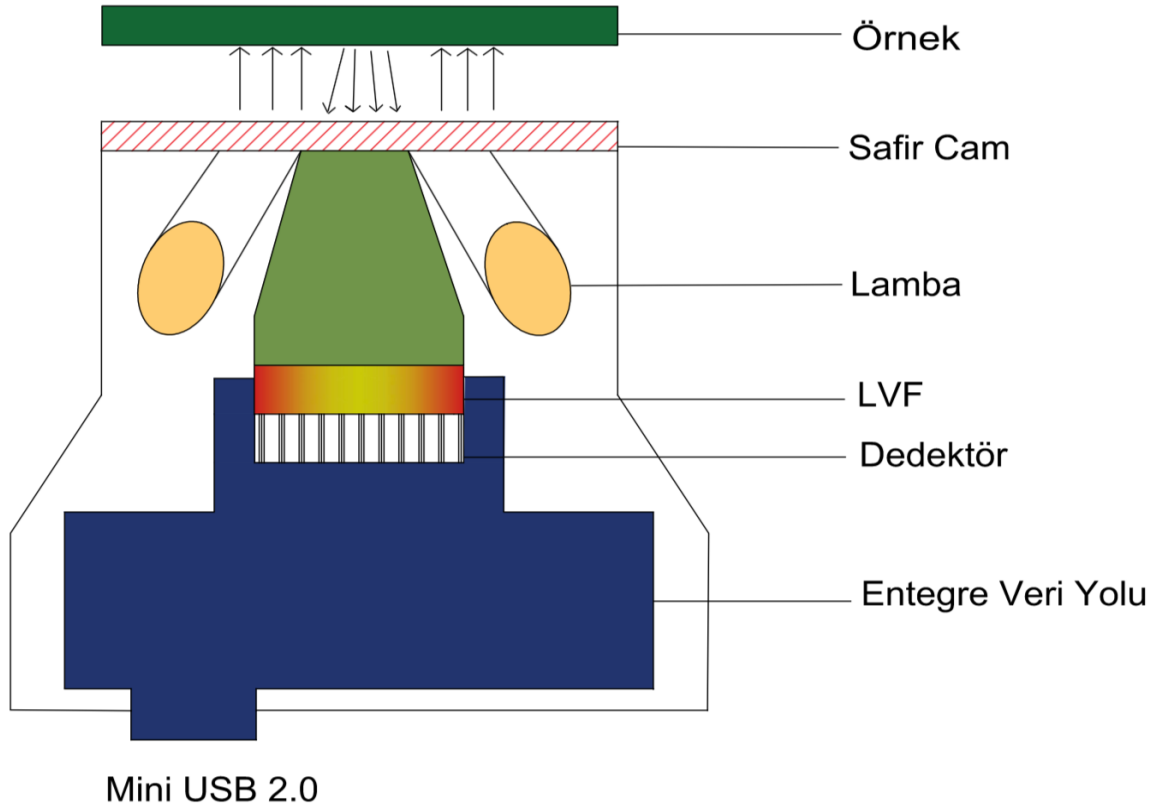
Geliştirilecek NIR spektrometrelerinin tasarımına geçilmeden önce kullanılacak elektriksel, yazılımsal ve donanımsal ekipmanlar belirlenmiş ve uygun tasarımda birleştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla spektrometrelerin grafiksel tasarımından başlanmış, donanımsal parçalarının üretimi ve montajından sonra elektriksel ve yazılımsal gelişimi tamamlanarak sistem geliştirilmesi tamamlanmıştır.

NIR spektrometrelerinin kullanım amacına ve spektrumu alınacak örneğin optik özelliklerine göre farklı ölçüm modlarında NIR spektrometreleri literatürde sıklıkla kullanılmaktadır. NIR spektroskopisindeki en çok kullanılanları ise;

- Difüz Reflektans,
- Transmittans ve
- Transflektans

modlarıdır.

Reflektans spektroskopisi, örnek tarafından yansıtılan ışığın yoğunluğunun, referans olarak kullanılan yansıtıcı yüzey tarafından yansıtılan ışığa oranını ölçmektedir. Yansıtılan ışık, spekülör ya da difüzlenmiş bileşenleri içerir. Literatürde en çok kullanılan NIR sistemi olan reflektans spektrometrelerinde ise örneğe ait daha çok bilgi içeren difüz reflektans spektrumları elde edilmektedir. Reflektans spektrometresi ışık geçirgenliği düşük sıvı, yarı sıvı ve katı maddeler için oldukça kullanışlıdır. Yaygın kullanım olanağı olması nedeniyle tez kapsamında NIR reflektans spektrometresi geliştirilmiş olup şematik gösterimi Şekil 3.1’de verilmiştir.



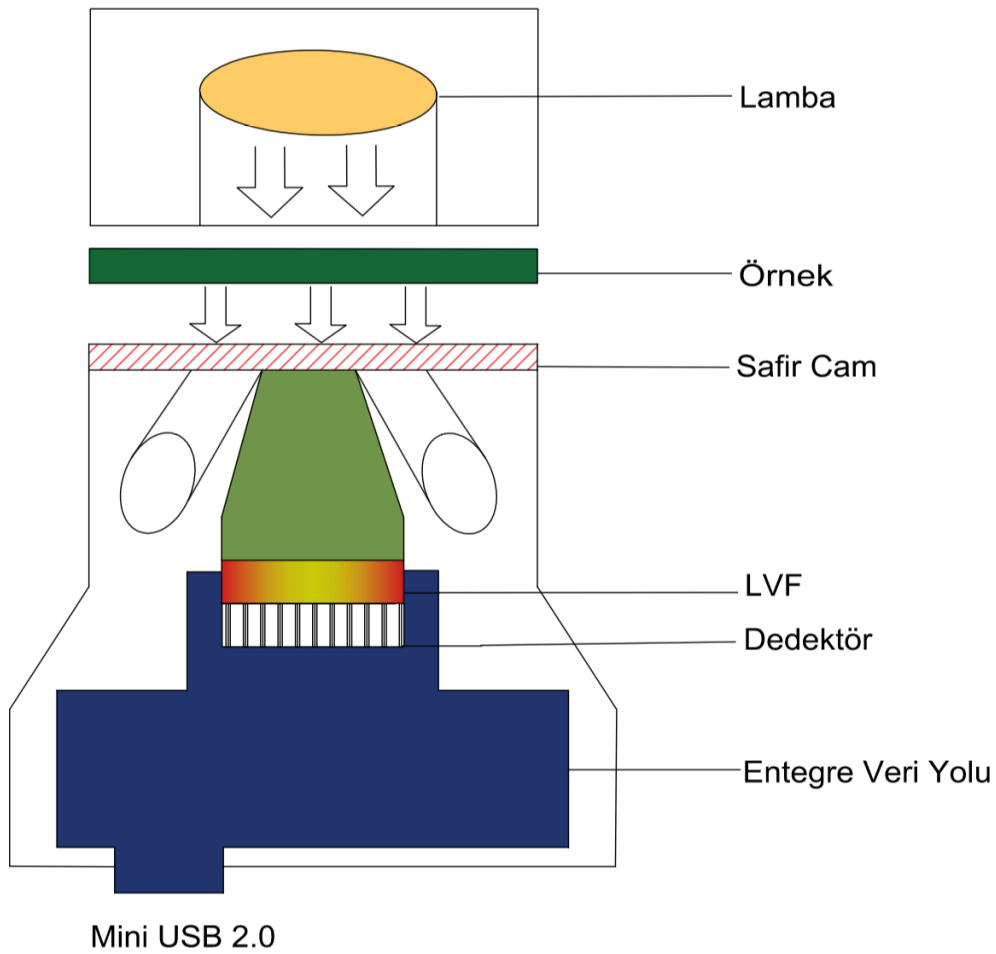
Şekil 3.1. Geliştirilen NIR reflektans spektrometresinin şematik gösterimi

Şekil 3.1.'de gösterilen reflektans spektrometresinin sensör kısmında ışık kaynağı, LVF dalga boyu seçicisi ve dedektör bir arada kompakt yapıda yerleştirilmiştir. Dedektörün her iki yanına yerleştirilmiş ışık kaynaklarından çıkan ışınlar, safir camdan geçerek örneğe gönderilmekte ve örneğin içerisine difüzlenmektedir. Ardından örnekle etkileşime girip tekrar geriye doğru saçılan ışık, optik ekipmanlar yardımıyla LVF'ye gönderilmekte, LVF'nin hemen altına yerleştirilen fotodiyot dedektör yardımıyla herhangi bir kayıp olmadan saçılan ışığın şiddeti ölçülebilmektedir. Entegre veri yolu olarak adlandırılmış elektronik kontrol ünitesi ise dedektörün kaydettiği veriyi bilgisayara USB bağlantısıyla göndermektedir.

NIR spektrometrelerinde dikkat edilmesi gereken en önemli konulardan biri ise sistemin kalibrasyon aşamasıdır. Reflektans spektrometresinde herhangi bir örneğin ölçümü alınmadan önce örneğin konulacağı yere ışık kaynağından gelen ışığın tamamını geriye gönderecek uygun yapıda bir yansıtıcı yüzey konulması gerekmektedir. Bu yansıtıcı yüzeyler, paslanmaz çelik, seramik, altın, gümüş,

alüminyum gibi maddelerden yapılabilir [66]. Yansıtıcı yüzey genellikle ışığın % 99'unu teorik olarak geriye göndermekte ve sensör bu ışık şiddetini % 100 reflektans değeri olarak kaydetmektedir. Örneğin reflektans ölçümü ise bu değerin kaydedilmesinden sonra yapılmakta ve örnekten geri dönen ışığın yansıtıcı yüzeyden yansıyana oranı hesaplanarak reflektans spektrumu elde edilmektedir.

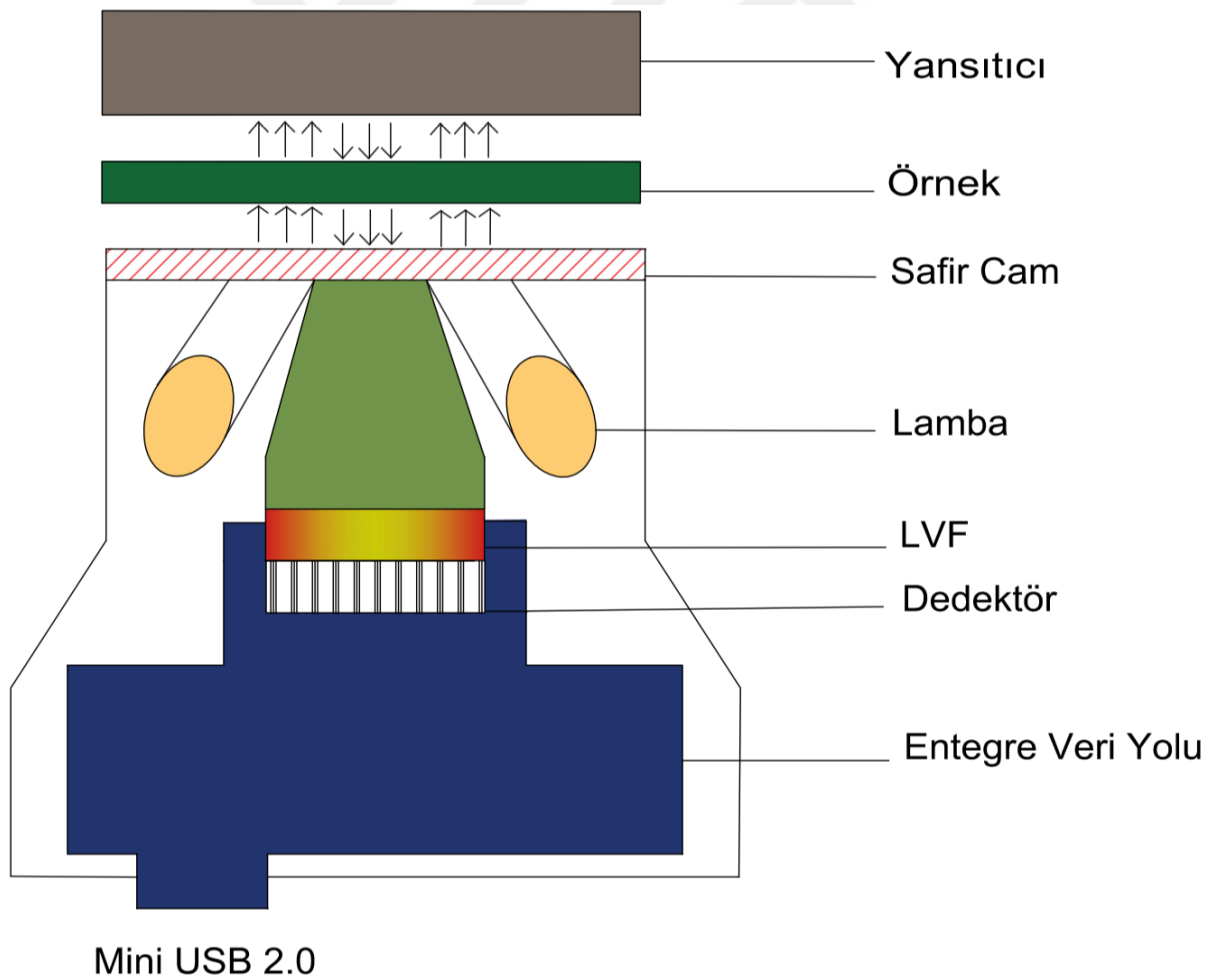
Transmitans ölçümleri genellikle optik geçirgenliği yüksek sıvı ve sıvı süspansiyondaki katılara uygulanmaktadır. Transmitans ölçüm modunda NIR sensörünün tam karşısına gelecek şekilde bir ışık kaynağı yerleştirilmekte ve örnek haznesi ise ışık kaynağı ile sensörün arasına konumlandırılmaktadır. Böylece ışık kaynağından çıkan ışın demetinin örnek içerisinde yoluna devam etmesi ve içeriğindeki kimyasal yapılar tarafından absorblanması sağlanır. Tez kapsamında geliştirilen NIR transmitans spektrometresinin şematize edilmiş hali Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Geliştirilen NIR transmitans spektrometresinin şematik gösterimi

Transmitans ölçüm modunun kalibrasyonu için örnek yerine varsa örnek haznesi yerleştirilmekte ve sisteme sensörün karşısında bulunan ışık kaynağından ışık gönderilmektedir. NIR sensörüne gelen ışık dedektör tarafından %100 ışık şiddeti değeri olarak sisteme kaydedilmektedir. Örnek ölçümünde ise sensöre geçebilen ışık şiddeti ölçülmekte ve iki ışık şiddeti arasındaki oran hesaplanarak transmitans spektrumu elde edilmektedir.

Transfleksans modu ise reflektans ve transmitans ölçümlerinin birleştirilmiş halidir. Bu ölçüm modunda ışık örneğin içerisinde ilerlemekte ve absorbe edilmemiş radyasyon bir aynadan ya da bir probun ucuna yerleştirilen difüz yansıtıcı yüzeyden geri dönmektedir. Bu şekilde ışığın ilerlediği yol uzunluğu iki katına çıkmakta ve geri dönen radyasyon ölçülmektedir. Bu ölçüm modu da bulanık veya saydam sıvılarda kullanılabilmektedir [18, 67]. Geliştirilen sistem Şekil 3.3’de şematize edilmiştir.



Şekil 3.3. Geliştirilen NIR transfleksans spektroskopisinin şematik gösterimi

Transfleksans ölçüm modunun kalibrasyonu için transmitans ölçüm modundaki gibi örnek yerine varsa örnek kabı yerleştirilmekte ve ışık kaynaklarından kaba doğru ışın gönderilmektedir. Örnek kabında bir örnek bulunmadığından dolayı ışınlar yansıtıcı yüzeye çarparak dedektöre geri dönmektedir. Böylece sistemin kaydedebileceği en yüksek ışık yoğunluğu kaydedilmektedir. Örnek ölçümü sonrasında transmitans ölçüm modunda olduğu gibi bu ölçüm modunda da örnekten gelen ışık şiddetinin örnek olmadığı durumdaki ışık şiddetine oranı hesaplanarak transfleksans spektrumu elde edilmektedir.

Her 3 sistemin diğer tüm ekipmanları ortak olarak kullanılmaktadır. Sensörden gelen veri bilgisayarda sisteme ait yazılıma aktarılmakta, incelenmekte ve istenildiği takdirde sonraki veri analizleri için saklanabilmektedir.

3.1.1. Fiziksel Tasarım

Sistemin fiziksel tasarımının yapılması için öncelikle Solidworks 3D CAD (Dassault Systemes Solidworks Corporation, Massachusetts, USA) yazılımı kullanılarak 3 boyutlu (3B) çizimi gerçekleştirilmiştir. Spektrometrenin ana kasasının tasarımıyla birlikte NIR sensörünün yerleştirileceği hazne, sensörün etrafını saracak ve kapatacak şekilde bulunan sıcaklık kontrol ünitesi, transmitans modülü için lambanın yerleştirileceği ayak, transfleksans modülü için yansıtıcı yüzeyin bulunduğu kapak ve örneklerin kuvvetlerde ısıtıldığı kuvvet ısıtıcı haznenin tasarımları da gerçekleştirilmiştir.

Tasarım aşamasının tamamlanmasının ardından çizimi yapılan sistemin ana kasasının ve transfleksans modülünde yansıtıcı yüzeyi tutan kapağın 3B yazıcı yardımıyla akrilonitril bütadien stiren (ABS) maddesinden çıktısı alınmıştır. Sert plastik yapısında olan ABS maddesi, 3B yazıcılarla kolaylıkla çıktısının alınması ve hafif olmasından dolayı sistemin ana kasasında ve yansıtıcı yüzey kapağında tercih edilmiştir. Geri kalan tüm çizimlerin çıktıları alüminyumdan üretilmiştir. Tüm parçaların ABS ve alüminyum çıktıları alındıktan ve montajları gerçekleştirildikten sonra elektronik parçaların ve NIR sensörünün yerleştirilmesi aşamasına geçilmiştir.

3.1.2. Elektronik Tasarım

NIR spektrometrelerinin elektronik tasarımında Nanosens A.Ş.'den yardım alınmıştır. Sistemin en önemli bileşenlerinden biri Acer Aspire Switch SW3-013-10AK (New Taipei City, Tayvan) tablet bilgisayar olmuştur. Tablet bilgisayar ana kasaya kullanıcının yazılımı kolay ve hızlı kullanımına imkân verecek şekilde yerleştirilmiştir. Tüm elektronik parçaların kontrolü tablet PC'ye bağlanan ve çalışma kapsamında geliştirilen elektronik denetleyici kart tarafından yapılmıştır. Bu kartın içerisinde Arduino Nano (Arduino s.r.l., Monza, İtalya) mikrodenetleyici, farklı direnç ve kondansatörler bulunmaktadır. Bu kart ve geliştirilen yazılım sayesinde NIR sensörünün açılıp kapanması, ölçüm süresi ve tekrar sayısı gibi ayarlar yapılırken sistemin farklı bölgelerindeki elektronik tüm ekipmanların kontrolü sağlanmıştır. Her 3 sistemde bulunan tüm elektronik parçaların gücünü sağlamak amacıyla 25 W'lık güç kaynağı kullanılmıştır.

Geliştirilen NIR spektrometresinin en önemli parçasını oluşturan NIR sensörü Viavi (Viavi Solutions Inc., CA, Amerika Birleşik Devletleri) markasının geliştirmiş olduğu MicroNIR 1700 NIR sensörü olmuştur. Bu sensör, çalışma ömrü 40,000 saatten fazla olan 2 adet entegre vakum tungsten lamba bulundurmakta ve sahip olduğu lineer değişken filtre sayesinde 908 ile 1676 nm ($11,013-5,966 \text{ cm}^{-1}$) dalgaboyu aralığında tekrarlanabilir spektrumlar verebilmektedir. 128 piksellik (piksel boyutu $30 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$) InGaAs fotodiyot dedektöre sahip olan sensör 6.2 nm spektral çözünürlükte 128 adet spektrum verisi verebilmektedir. 0.25 ile 0.5 saniye gibi kısa sürelerde toplam ölçüm süresine sahip sistemin spektrum toplama süresi 10 μs ile 50 ms arasında ayarlanabilmektedir. Sensörün sinyal/gürültü oranı 23,000, spektral bant aralığı ise merkez dalgaboyunun % 1.25'inden daha küçük olarak hesaplanmıştır.

3.1.3. Yazılımsal Tasarım

Spektrometrelerin fiziksel ve elektronik tasarımı tamamlandıktan sonra kullanıcının kolay ve hızlı şekilde NIR spektrumlarını alıp işleyebilmeleri için uygun tasarımı grafiksel arayüze sahip yazılım geliştirilmesi aşamasına geçilmiştir. Yazılım geliştirme sürecinde Nanosens A.Ş. firmasından destek alınmıştır. Yazılım “Visual Studio 2015” kullanılarak “C#” dilinde yazılarak hazırlanmıştır. Bileşen olarak “Devexpress Component for .Net 15.1.6”, framework olarak “.Net 4.6”, dil desteği için “multi language (çoklu dil)” eklentisi ve Arduino kodlarının çalıştırılması için “Arduino 1.6 IDE”si kullanılmıştır. Geliştirilen yazılım ile NIR sensörü başta olmak

üzere sistemin tüm elektronik aksamının kontrolü grafiksel arayüz yardımıyla kolaylıkla yapılabilir.

NIR spektrumları ile kurulan PLS modellerinin NIR yazılımı ile birlikte çalışması için Model Exporter (Versiyon 3.0, Eigenvector Research Inc., WA, Amerika Birleşik Devletleri) ile birlikte gelen kodlar kullanılmıştır.

3.1.4. Spektrometrelerde Kullanılan Diğer Parçaların Tasarımı

3.1.4.1. Örnek Haznesi ve Hazne Motoru

Reflektans ve transmitans spektrometrelerinde kullanılmak üzere katı ve sıvı örneklerin ölçümlerinin kolaylıkla alınabilmesi için örnek haznesi tasarlanmış, bu örnek haznesine konulan örneğin farklı bölgelerinden spektrumların alınabilmesi amacıyla haznenin belli bir hızda dönmesini sağlayan motor tasarımı yapılmıştır.

3.1.4.2. Örnek Isıtma Haznesi

Kullanıcıların örneklerini istediklere sığağa getirebilmesi için her 3 farklı spektrometreye etrafı peltierlerle çevrili 5 örneğin aynı anda ısıtılabilmesi için ısıtma haznesi tasarlanmıştır.

3.1.4.3. Sensör Sıcaklık Kontrol Ünitesi

NIR sensörünün sıcaklığının sabitlenmesi amacıyla sensörün etrafını saracak bir sensör sıcaklık kontrol ünitesi tasarımı yapılmış ve bu ünitenin içerisindeki ortamın sıcaklığını sabitlemek amacıyla peltier ve Cooler Master Seidon 120V Ver.2 marka işlemci sıvı soğutma sistemi kullanılmıştır. Sıvı soğutma sisteminin ısısını dışarı atmak için kullandığı fan ise ana kasanın dışarısında olacak şekilde sisteme montajı yapılmıştır.

3.1.4.4. Transmitans Modülü Işık Kaynağı

Transmitans modülünde ışık kaynağı olarak ThorLabs firmasının 2800K renk sıcaklığına, 50 mW güce ve 400-2200 nm dalgaboyu aralığına sahip kuvartz tungsten-halojen lambası (QTH10) kullanılmıştır. Işık kaynağının içeriğinde bulunan lensler yardımıyla ışığın iletimi sensöre doğrusal olarak gerçekleşmekte ve böylece sensöre gelen ışık şiddetinde kayıp minimum olmaktadır.

3.1.4.5. Spektrometrelerden Alınan Spektrumların Tekrarlanabilirliğinin İncelenmesi

Üç farklı ölçüm moduna sahip NIR spektrometrelerinin geliştirilmesi ve üretilmesinin ardından sistemlerin başarısının ölçülmesi amacıyla sistemler üzerinde testler yapılmıştır. NIR spektrometrelerinin farklı ortam koşullarında dış etkenlerden etkilenmeden spektrum üretebilmesi, analizi yapılacak örneğe ait bilgilerin daha doğru şekilde yorumlanabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle spektrometreler aynı örneğe farklı ortam ve zamanlarda aynı spektrumu tekrarlı şekilde verebilmelidir.

Bu amaçla tez kapsamında üretilen her spektrometre ile örnek olarak seçilen hardal yağından alınan belli miktarda örneğin spektrumları alınmış ve spektrumdaki bant yükseklikleri birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte aynı yağ örneğinin spektrumları 3 farklı spektrometre ile 1 saat boyunca 10'ar defa alınmış ve sinyal şiddeti en yüksek banttaki sinyal yüksekliğinin zamanla değişimi incelenmiştir. Bu şekilde NIR sensörünün zamanla sıcaklığının artmasının spektrum üzerindeki etkisi incelenmek istenmiştir.

Her 3 sistemin tekrarlanabilir ve doğru spektrum üretebildiğinin gösterilmesinin ardından geliştirilen spektrometrelerin gıda analizlerindeki başarısını incelemek amacıyla 3 farklı analiz çalışmasına geçilmiştir.

3.2. Bezelye ve Ispanak Kullanılarak Yapılan Antep Fıstığı Tağışının NIR Reflektans Spektrometresi ile Kalitatif ve Kantitatif Tayini

3.2.1. Antep Fıstığı, Bezelye ve Ispanak Örnekleri

Bu çalışmada dokuz farklı çiğ antep fıstığı (*Pistacia vera* L.), beş adet taze bezelye (*Pisum sativum* L.) örneği ve beş adet taze ıspanak (*Spinacia oleracea* L.) örneği kullanılmıştır. Antep fıstığı, bezelye ve ıspanak örnekleri Türkiye'deki farklı üreticilerden temin edilmiştir.

Bezelye ve ıspanak numuneleri nem içeriğini dengeye getirmek amacıyla 70°C sıcaklığa sahip etüvde 12 saat boyunca kurutulmuştur. Ancak antep fıstığı numuneleri, düşük nem içeriğine sahip olduğundan dolayı kurutulmadan analiz edilmiştir [63]. Antep fıstığının ilk aşamada sert kabuk kısmı kırılmış ve iç fıstık

kısmı kabuklarından ayrılmıştır. Ardından çiğ antep fıstığı, kurutulmuş bezelye ve ıspanak örnekleri kahve öğütücü ile granüler forma gelecek şekilde öğütülmüştür. Kurutulmuş ve öğütülmüş bezelye ve ıspanak örnekleri, ağırlıkça % 20 ile % 80 arasında karışımda bulunacak şekilde öğütülmüş antep fıstık örneklerine karıştırılarak tağış edilmiş örnekler hazırlanmıştır. Toplamda 147 örnek karışım halde, 19 örnek ise saf halde analiz edilmiştir.

3.2.2. NIR Spektrumlarının Toplanması

Saf örnekler ile karışımların spektrumları tez kapsamında geliştirilen reflektans ölçüm moduna sahip NIR spektrometresi ile alınmıştır. Tüm reflektans spektrumları 908 ile 1676 nm arasında 6.2 nm çözünürlük değeri ile 128 veri olacak şekilde toplanmıştır. Ölçüm koşulları örnek başına 10 tekrar, 15.5 ms ölçüm süresi, her bir ölçüm için 50 tarama, toplamda 7.75 saniye sürecektir şekilde ayarlanmıştır. NIR analizi için her örnekten 500 mg cam küvete eklenmiş ve spektrometrede analiz gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Veri Analizi

Kompleks bir yapıda bulunan spesifik analitlerin spektrofotometrik tekniklerle belirlenmesi, veri miktarına bağlı olarak manipölasyon yapılmaksızın zordur. Yapılan analizle ilgili olmayan ve tekrarlayan verilerin ortadan kaldırılması ve anlamlı veri analizi yapılabilmesi amacıyla alınan tüm spektrumlara çok değışkenli veri analizi yöntemleri (PCA ve PLS) uygulanmıştır. Bu kemometrik yöntemlerin uygulanmasından önce ise ham verilere ön işlem tekniklerinden bazıları uygulanmış ve modellerden çıkan performans verilerine göre en uygun ön işlem seçilmiştir.

PCA ve PLS veri analizi PLS_Toolbox (Versiyon 7.0, Eigenvector Research Inc., Wenatchee, WA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCA, spektral verileri ortagonal yapılar yoluyla birkaç temel komponente dönüştürerek saf ve tağış yapılmış örnekleri ayırt etmek amacıyla kullanılmıştır. PCA skorları grafiğe geçirildiğinde benzere spektral verilere sahip örnekler bir araya getirilmekte ve kümelenmekte, böylece sınıflandırılacak örnekler grafikte farklı gruplarda gözlemlenebilmektedir.

Antep fıstığı karışımlarındaki tağış oranının belirlenmesi amacıyla PLS kullanılarak kalibrasyon modelleri (bezelye ve ıspanak için 2 farklı model)

geliştirilmiştir. Alınan tüm spektrumlar iki gruba ayrılmıştır; 48 örnek (her konsantrasyon için 10 örnek) kalibrasyon için ve 24 örnek (her konsantrasyon için 5 örnek) validasyon için. Oluşturulan modellerin tahmin performansları kalibrasyon ve validasyon veri setine ait belirleme katsayısı (R^2), kalibrasyonun hataların ortalama karekökü (RMSEC), validasyonun hatalarının ortalama karekökü (RMSEP), tespit limiti (Limit of Detection-LOD) ve tayin limiti (Limit of quantification-LOQ) verilerine bakılarak değerlendirilmiştir.

3.3. Koyun, Keçi ve İnek Sütlerinin Tür Tayini ve Sütlere Uygulanan Isıl İşlemin Belirlenmesi

3.3.1. Süt Örnekleri

İnek, koyun ve keçi sütü örnekleri, Ankara ve ilçelerindeki sadece istenilen türde süt üretimi yapan yerel üreticilerden toplanmıştır. Tüm süt örnekleri çiğ süt şeklinde alınmış ve soğuk zinciri bozulmayacak şekilde 4°C sıcaklıkta laboratuvar ortamına getirilmiştir.

27 adet inek, 27 adet koyun, 27 adet keçi sütü örnekleriyle karışım olarak bu sütlardan hazırlanan 17 adet inek-koyun, 17 adet inek-keçi, 17 adet keçi-koyun ve 17 adet keçi-koyun-inek karışımları analiz için belirlenmiştir. Çiğ sütlar karışım haline getirilmeden 5 dakika vorteks ile karıştırılarak homojen hale getirilmiş daha sonra ikili karışımlar toplam hacim 100 ml olacak şekilde 1:1, üçlü karışımlar ise 1:1:1 oranlarında hazırlanmıştır.

3.3.2. NIR Spektrumlarının Toplanması

Saf süt örnekleri ile karışımlarının NIR spektrumları tez kapsamında geliştirilen reflektans ölçüm moduna ait NIR spektrometresi ile alınmıştır. Spektrumlar NIR sensörünün belirleyebildiği dalga boyu aralığı (908-1676) ve çözünürlüğü (6.2 nm) ile 128 veri olacak şekilde alınmıştır. Örnek başına 10 tekrarlı ölçüm alınmış, ölçümlerin her biri 50 tarama sayısı ile, 11.7 ms süre ile alınmıştır. Tüm ölçümler 3 paralelli olarak yapılmıştır. Her bir süt karışımından 1 ml cam küvete eklenmiş ve analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çiğ halde bulunan saf örnekler ile karışımların NIR reflektans spektrumları alındıktan sonra örneklerin tamamı 65°C'de 30 dakika boyunca su banyosunda

pastörize edilmiştir [68]. Pastörize edilen süt örneklerinin de spektrumları alındıktan sonra veri analizi aşamasına geçilmiştir.

3.3.3. Veri Analizi

NIR spektroskopisi ile yapılan çalışmaların büyük bölümünde spektrumlardan gerekli ve anlamlı verileri çıkarmak amacıyla kemometrik analizlerin yardımına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada süt türlerinin tayini amacıyla PLS-DA metodu, PLS_Toolbox programı kullanılarak uygulanmıştır.

PLS-DA metodu ile yapılacak olan kalitatif çok değişkenli validasyonda ilk adım, örneğin 0 (negatif /kabul edilemez/yok) veya 1 (pozitif/kabul edilir/var) olarak sınıflandırılıp sınıflandırılmayacağını belirlemektir. Modern kalitatif yöntemler bir örneği pozitif veya negatif olarak sınıflandırmak için enstrümental okumalara güvenir ve Bayes teorisinden tahmin edilen eşik limiti sınır değerini kullanarak örneklerin ayrımını gerçekleştirir [33, 69]. Eşik limiti tahmini, tek değişkenliden çok değişkenli yöntemlere özellikle PLS-DA yöntemi için genişletilmiştir [70]. PLS-DA yönteminin temelini oluşturan Bayes teoremi aşağıda kısaca özetlenmeye çalışılmıştır.

Eğitim grubundaki tüm örneklerin önerilen sınıflardan birine, yani A veya B sınıfına ait olduğunu varsayarsak (burada basit anlatım amacıyla iki sınıf olduğu düşünüldü);

$$P\left(\frac{A}{y}\right) + P\left(\frac{B}{y}\right) = 1 \quad \text{Eş. 3.1}$$

Bayes teorisi kullanılarak, bir örneğin A sınıfından olma ihtimalini ($P(A/y)$), verilen belirli bir y değeri kullanılarak aşağıdaki formülden tahmin etmek mümkündür;

$$P\left(\frac{A}{y}\right) = \frac{P\left(\frac{y}{A}\right) * P(A)}{[P\left(\frac{y}{A}\right) * P(A) + P\left(\frac{y}{B}\right) * P(B)]} \quad \text{Eş.3.2}$$

Buradaki $P(A)$ ve $P(B)$ değerleri, sonradan gelecek örneğin A veya B sınıfında gözlemlene ihtimalini temsil etmektedir. Eğer örneğin A veya B sınıfında gözlemlene ihtimali, orijinal eğitim setindeki A ve B grubundaki örnek sayısına eşit olduğu varsayılırsa, formül aşağıdaki gibi sadeleştirilebilir;

$$P\left(\frac{A}{y}\right) = \frac{P\left(\frac{y}{A}\right)}{P\left(\frac{y}{A}\right) + P\left(\frac{y}{B}\right)} \quad \text{Eş.3.3}$$

ve

$$P\left(\frac{B}{y}\right) = \frac{P\left(\frac{y}{B}\right)}{P\left(\frac{y}{A}\right) + P\left(\frac{y}{B}\right)} \quad \text{Eş.3.4}$$

Bu iki dağılım benzersiz bir değerle kesişir, $P(A/y)$ ile $P(B/y)$ 'nin 0.5 olduğu tek bir noktaya gelinir. Bu nokta eşik limiti olarak seçilmiştir.

Eşik limiti belirlendikten sonra, ikinci aşama yanlış pozitif (YP) ve yanlış negatif (YN) örneklerin belirlenmesidir. YP, ait olduğu sınıf yerine diğer sınıfta sınıflandırılmış örneklerin sayısı iken, YN ise bu durumun tam tersine ait örneklerin sayısıdır. YP ve YN değerleri kullanılarak diğer bazı istatistiksel tanımlamalar yapılabilmektedir; Yanlış Negatif Oranı (YNO), Yanlış Pozitif Oranı (YPO), Duyarlılık Oranı (DO), Özgüllük Oranı (ÖO) ve Verim Oranı (VO).

YPO, YP örneklerin YP ile bilinen negatif örneklerin (Gerçek Negatif-GN) sayısının toplamına bölümü olarak tanımlanabilir.

$$YPO = \frac{YP}{YP+GN} \quad \text{Eş. 3.5}$$

Buna benzer olarak, YNO ise YN örneklerin, YN ile bilinen doğru pozitif örnekler (GP) toplamına oranını ifade etmektedir.

$$YNO = \frac{YN}{YN+GP} \quad \text{Eş. 3.6}$$

Duyarlılık oranı, gerçek pozitif örneklerin gerçek pozitifler ile yanlış negatiflerin toplamına oranı olarak tanımlanırken özgüllük oranı ise gerçek negatiflerin gerçek negatiflerle yanlış pozitiflerin oranı olarak tanımlanmaktadır. Verim oranı, YPO ile YNO'nun toplamının 100'den çıkarılmasıyla elde edilmektedir.

$$DO = \frac{GP}{GP+YN} \quad \text{Eş. 3.7}$$

$$\ddot{O}O = \frac{GN}{GN+YP} \quad \text{Eş. 3.8}$$

$$VO = 100 - (YPO + YNO) \quad \text{Eş. 3.9}$$

Kalitatif ve kantitatif validasyonlarda kullanılan bazı başarıml ölçüleri aynı ada sahip olsa da o katsayılara bağılı kavramlar ve bu kavramların değerdendirilmeleri farklıdır. YPO, YNO ve VO kalitatif analizlerin gerçekliğini ifade ederken, DO ve ÖO metodun seçiciliğini tanımlamaktadır [33, 71].

NIR spektrumları alındıktan sonra PLS-DA modeli ile işlenerek öncelikle sùtlere uygulanan ısıl işlemin yapılıp yapılmadığı 2 farklı sınıf oluşturularak belirlenmeye çalışılmış, başarılı model elde edildikten sonra çiğ ve pastörize edilmiş sùtlerin tür tayini yapılmaya çalışılmıştır. Modellerin kurulumu öncesi spektrumlara farklı istatistiksel ön işlemler uygulanarak PLS-DA modellerinin başarımlı artırılmaya çalışılmış ve en uygun ayırımın yapıldığı ön işlem ve gizli değışken belirlenmeye çalışılmıştır.

3.4. Hardal Yağlarında Bulunan Erusik Asit ve Yağlardaki Miktarının Tayini

3.4.1. Yağ Örnekleri

Rafine edilmiş ticari kanola yağı ile soğuk preslenmiş hardal yağı, farklı erusik asit konsantrasyonu içeren karışımlar hazırlanması amacıyla yerel üreticilerden temin edilmiştir. Bu iki yağ farklı oranlarda karıştırılarak 50 farklı yağ örneğı elde edilmiştir. Bu örnekler, geniş erusik asit konsantrasyon aralığı elde edilmesi amacıyla yüksek erusik asit içerdikli hardal yağı ile erusik asit içermeyen kanola yağının gravimetrik olarak karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Klasik metot olarak kabul edilen gaz kromatografisiyle hardal ve kanola yağlarının erusik asit miktarları belirlendikten sonra örnekler hazırlanmıştır. Tüm örnekler analizlerde kullanılmadan önce oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir.

3.4.2. NIR Spektrumlarının Toplanması

Hazırlanan örnekler ait reflektans, transmitans ve transflektans spektrumları geliştirilen 3 farklı ölçüm moduna sahip NIR spektrometreleriyle elde edilmiştir. Tüm ölçüm modlarındaki spektrumlar, 908 ve 1676 nm arasında 6.2 nm çözünürlükle alınmıştır. Ölçümler 3 paralelli, 50 tarama sayısı ve 17.7 ms süre ile alınmıştır. Bu da örnek başına toplamda 0.88 s ölçüm süresi tutmaktadır. Tüm örneklerin spektrumları oda sıcaklığında alınmıştır. 3 farklı ölçüm modu için 3 farklı ölçüm düzeneği kurulmuştur;

Reflektans:

Her yağ örneğinden 2'şer ml alınıp cam küvetlere aktarılmıştır. Reflektans spektrometresinde numune yüzeyindeki sensörün üzerine gelecek şekilde küvetler yerleştirilmiş ve NIR reflektans spektrumları alınmıştır.

Transmitans:

Transmitans spektrometresinde ölçümü alınacak yağ örnekleri, safir camdan yapılan numune haznesine her bir örnekten 2 ml olacak şekilde aktarılmıştır.

Transflektans:

Transflektans spektrometresinde numune yüzeyinde bulunan çukur bölgeye tüm örneklerden 1'er ml alındıktan sonra, modülde bulunan yansıtıcı yüzeyi içeren kapak kapatılarak ölçüm düzeneği kurulmuştur. Yağ örneğinin yansıtıcı yüzey ile temas etmesi sağlanmış, böylece sensör ile yansıtıcı yüzey arasındaki ışık yolu 3 mm olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.4.3. Gaz Kromatografisi Analizi

Yağ örneklerindeki erusik asit miktarı, yağların metil esterlerinin gaz kromatografisi ile belirlenmesine dayanan yöntemle bulunmuştur. Yağ asidi metil esterleri (YAME) IUPAC metot 2.301'deki prosedüre göre hazırlanmıştır [72]. Erusik asidin gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi analizi Agilent Technologies 5977E (Santa Clara, Amerika Birleşik Devletleri) kütle seçici dedektörle birlikte çalışan Agilent Technologies 7820A GC Sistemi ve Agilent Technologies HP-5 (30m x 0.320mm ID, 0.25 µm film kalınlığı) kolonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Erusik asitin tanımlanması, kütle spektrumlarının NIST05 (National Institute of Standards and Technology, US) kütüphanesinden elde edilen verilerle karşılaştırılmasıyla gerçekleştirildi. Erusik asidin metil esterinin alıkonma süresi

39.338 dk'dır. Erusik asidin miktarı, erusik asit metil esterinin tüm yağ asitlerinin esterlerinin içinde yüzde oranı (w/w) hesaplanarak verilmiştir.

3.4.4. Veri Analizi

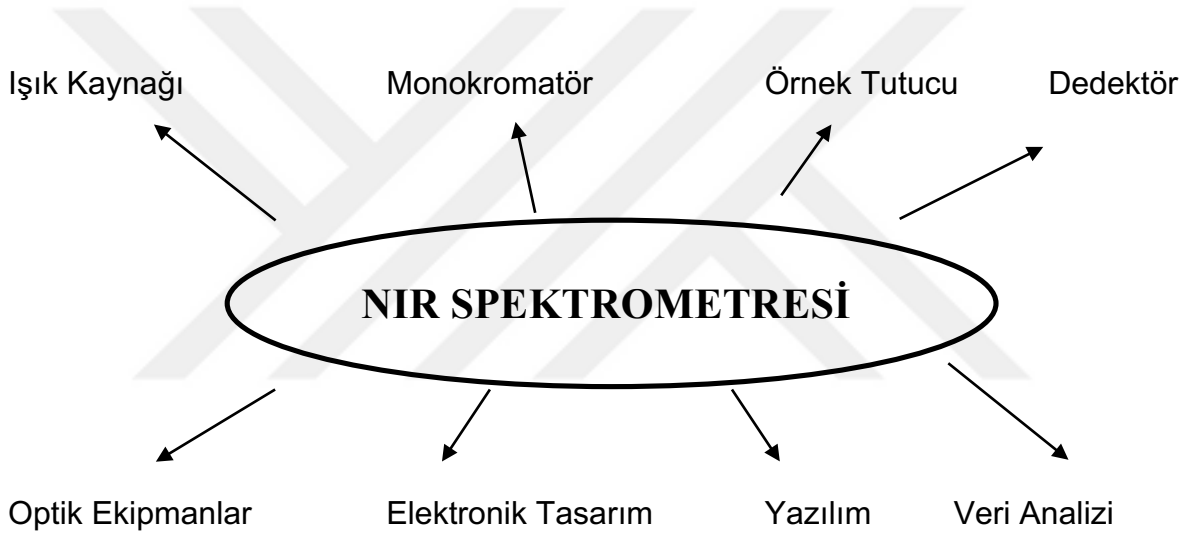
PLS regresyon metodu 3 farklı spektrometreden alınan spektrumlara uygulanmadan önce en iyi tahmin performansına sahip PLS modelini kurmak amacıyla spektrumların tümüne farklı ön işlemler uygulanmış ve sonuçları ayrıca tartışılmıştır. Böylece hem spektrometrelerin hem de ön işlemlerin birbirleriyle karşılaştırılması sağlanmıştır.

PLS metodu, diğer çalışmalarda olduğu gibi PLS_Toolbox yazılımı aracılığıyla kullanılmıştır. Ön işlemler sonucu 3 farklı ölçüm moduna ait 3 farklı PLS modeli, kanola-hardal yağı karışımlarındaki erusik asit miktarını tahmin etme amacıyla kurulmuştur. Bu amaçla alınan 50 spektrumun 33'ü kalibrasyon veri setinde, 17'si validasyon veri setinde kullanılmıştır. Kurulan modellerin başarılarının değerlendirilmesinde önceki çalışmada olduğu gibi RMSEC, RMSEP, RMSECV, R^2 , LOD ve LOQ verileri kullanılmış, tüm parametreler kendi aralarında değerlendirilerek en iyi tahmin performansı olan modelin seçilmesi sağlanmıştır.

4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. NIR Spektrometrelerinin Geliştirilmesi

Tez kapsamında gıda analizlerinde kullanılabilmek amacıyla geliştirilen NIR spektrometresinin ilk aşamada sistemde kullanılacak materyalleri seçilmiş, ardından tasarımı aşamasına geçilmiştir. NIR spektrometresi temel olarak ışık kaynağı, monokromatör, örnek tutucusu ve farklı ölçüm modlarında spektrum alabilecek dedektörden oluşmaktadır [12]. Ancak bu sistemin doğru ve tekrarlanabilir spektrumlar alabilmesi ve bu spektrumların kolay ve hızlıca değerlendirilebilmesi amacıyla uygun optik ekipmanlar, elektronik ve fiziksel tasarım ile kullanıcı dostu yazılıma ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 4.1 NIR spektrometresi bileşenleri

NIR spektrometrelerinde ışık kaynağı olarak, boyutlarının küçük ve uzun ömürlü olmaları nedeniyle genellikle tungsten halojen lambalar kullanılmaktadır. Dedektör olarak ise silikon, kurşun sülfür (PbS) ve indiyum galyum arsenit (InGaAs) dedektörler tercih edilmektedir [73]. Silikon dedektörler hızlı, düşük sesli, küçük ve görünür bölgeden 1100 nm'ye kadar yüksek seçiciliğe sahiptir. PbS dedektörler ise yavaş olmalarına rağmen 1100 ile 2500 nm arasındaki bölgede yüksek sinyal/gürültü oranlarında hassas spektrumlar alabildikleri için oldukça popülerdir. InGaAs dedektörler ise silikon dedektörlerin hızı ile PbS dedektörlerin geniş dalgaboyu aralığında hassas ölçüm alabilme kabiliyetinin bir arada bulunduğu dedektörlerdir [12]. Bu nedenle son zamanlarda geliştirilen NIR sistemlerinde

sıklıkla bu dedektör tercih edilmektedir. Tez kapsamında tercih edilen NIR sensöründe de tungsten halojen lamba ile InGaAs dedektör bulunmaktadır.

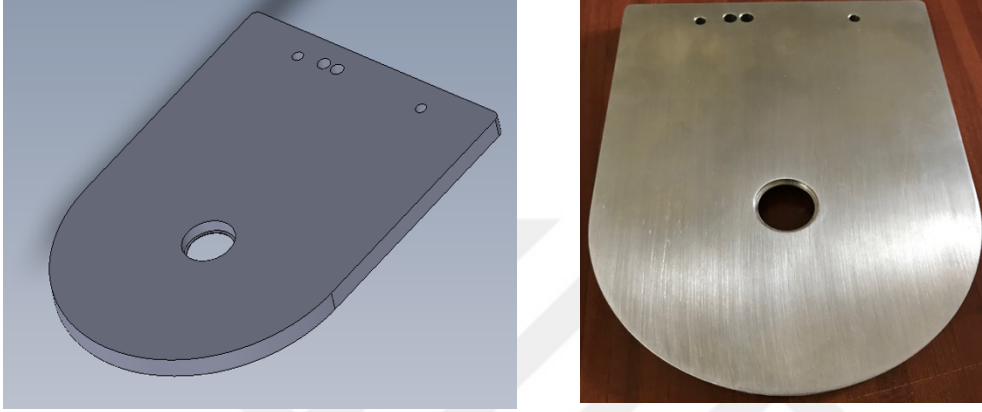
NIR spektrometrelerinde polikromatik NIR spektral bölgesini monokromatik frekanslara ayırmak amacıyla birçok optik konfigürasyonlar kullanılmaktadır. Bunların arasında bulunan kırınım ızgarası (diffraction grating), interferometre, diyot dizisi ve akusto-optik ayarlanabilir filtre bazlı monokromatörler tüm spektral bölgeyi kapsayacak şekilde çalışabilmektedir [6, 7]. NIR sistemlerinin ihtiyaç duyduğu analit duyarlılığı, güvenilirlik, kullanım kolaylığı, kalibrasyon aktarılabilirliği ve uygulama alanlarına göre monokromatörlerin türü önem kazanmaktadır. Tez kapsamında seçilen NIR sensöründe lineer değişken filtre (linear variable filtre) bulunmaktadır. Bu filtre, enerjik fiziksel buhar biriktirme prosesi ile biriktirilmiş, sıcaklık ve zamana karşı kararlı yapıda bulunan ince film tabakasından oluşmaktadır. Filtre, dedektörün üzerine boşluksuz olacak şekilde yerleştirildiği için sistemin hiçbir hareketli parça içermeyen kompakt ve sağlam bir spektrometre üretilmesini sağlayabilmektedir [74].

NIR spektrometresinde sensörde bulunan ışık kaynağı, monokromatör ve dedektörün seçimi ile birlikte bu sistemin birbiriyle uyumlu çalışması amacıyla elektronik ve yazılımsal tasarımın yapılması gerekmektedir. Ayrıca kullanıcının spektrometreyi kolay ve hızlı kullanımı için uygun fiziksel tasarımın ve grafiksel arayüze sahip yazılımın geliştirilmesi aşamaları da başarıyla gerçekleştirilmelidir. Bu amaçla ilk aşamada geliştirilen reflektans, transmitans ve transflektans ölçüm modlarına ait spektrometreler hakkında bilgi verilmiş, ardından elektriksel ve yazılımsal tasarımlar ile spektrometrelerde ortak olarak kullanılan diğer ekipmanlar aşağıdaki bölümlerde açıklanmıştır.

4.1.1. NIR Reflektans Spektrometresi

Reflektans spektroskopisinde örneğe gönderilen ışınlar örneğe difüzlenmekte ve ardından farklı açılarda sensöre doğru yansıma yapmaktadır. Örnekten gelen saçılmanın en uygun şekilde belirlenebilmesi ve reflektans spektrumunun elde edilmesi amacıyla tez kapsamında geliştirilen NIR reflektans spektrometresinin numune yüzeyinin 3B çizimi ve alüminyumdan alınan çıktıları Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

Örnek NIR sensörünün üzerine yerleştirildikten sonra sensörün içerisinde bulunan 2 adet entegre vakum tungsten lambadan çıkan ışınlar örneğe doğru yanlardan gönderilmekte ve örnek tarafından difüzlenmektedir. Örnekten yansıyan difüzlenmiş ışınlar ise sensörün içerisindeki optik malzemeler ile öncelikle LVF filtreye, oradan ise hemen altındaki dedektöre ulaşmaktadır. Sensörden gelen veriler ise entegre seri veri yolu yardımıyla PC'ye aktarılmakta ve geliştirilen yazılım ile spektrum elde edilmektedir.



Şekil 4.2 Numune yüzeyi 3B çizimi ve alüminyum çıktısı

Numune yüzeyinde görülen boşluğa safir cam ve camın hemen altına NIR sensörü yerleştirilmiştir. Böylece sensör ile örnek arasındaki mesafe minimuma indirilerek sensörden gelen ışınların örnekle daha fazla etkileşime girmesi sağlanmıştır. Reflektans spektrometresi için geliştirilen tasarım ve alüminyum çıktısının montajı yapılmış hali Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



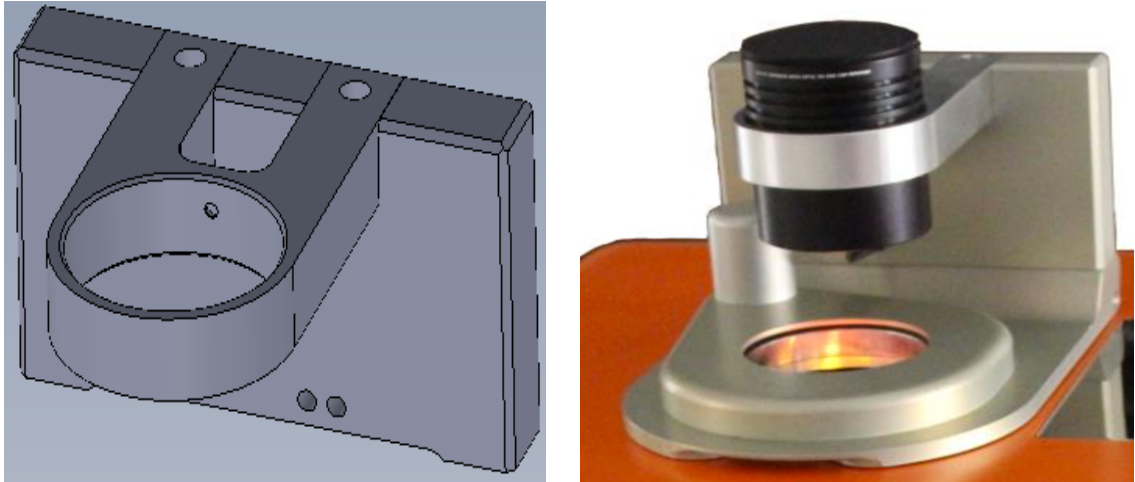
Şekil 4.3 Reflektans spektrometresinin sensör ile örnek haznesinin 3B çizimi ve alüminyum çıktısının montaj yapılmış hali

Kullanılan NIR sensörü numune yüzeyinin altında kaldığı için sistemde sadece NIR sensör yüzeyi görülmektedir. Bu tasarım ile örnek istenildiği takdirde safir camın yüzeyine koyulabildiği gibi geliştirilen silindir yapıdaki örnek haznesine de yerleştirilebilmektedir.

4.1.2. NIR Transmittans Spektrometresi

Geliştirilen transmittans spektrometresinde reflektans spektrometresinde kullanılan numune yüzeyi kullanılmış ve sensör bu numune yüzeyinin altına yerleştirilmiştir. Bu sisteme ek olarak sensör yüzeyinin karşısına kuvarz tungsten-halojen lamba yerleştirilmiştir. Ölçüm esnasında bu ışık kaynağından gelen ışınlar, lamba içerisinde bulunan optik ekipmanlar aracılığıyla doğrusal şekilde örneğe doğru gönderilir. Örneğin içerisinde ilerleyen ışın demeti NIR sensörüne LVF filtresinden geçerek ulaşır ve NIR transmittans spektrumu elde edilir. Burada dikkat edilmesi gereken aşama NIR sensörlerindeki lambaların kapalı durumda olmasıdır.

Transmittans spektrumu alınırken gerekli olan kalibrasyon aşamaları yazılım tarafından kontrol edilmektedir. Lambanın numune yüzeyinin karşısında olmasını sağlayan ayakların 3B çizimi ile bu çizimin alüminyum çıktısının lambaya ve yüzeye montajı yapılmış son hali Şekil 4.4'de gösterilmektedir.



Şekil 4.4. Işık kaynağı tutucusunun 3B çizimi ve alüminyum çıktısının ışık kaynağı ile birlikte montajı yapılmış son hali

4.1.3. NIR Transfleksiyon Spektrometresi

Refleksiyon ve transmittans spektroskopilerinin birleştirilmiş hali olarak da tanımlanabilen transfleksiyon spektrometresi de tez kapsamında geliştirilen spektrometrelerden biridir. Bu spektroskopik ölçüm modu, NIR sensöründe bulunan lambadan çıkan ışınların örnek içerisinden geçtikten sonra sensörün karşısına yerleştirilen yansıtıcı yüzeyden geri dönmesi ve tekrar örneğe girerek sensöre ulaşması prensibine dayanmaktadır.

Geliştirilen spektrometrede NIR sensörünün bulunduğu yer, diğer 2 spektrometrede olduğu gibi numune yüzeyinin hemen altında olacak şekilde tasarlanmıştır. Transfleksiyon modunun çalıştırılabilmesi için örneğin üzerine gelecek şekilde bir kapak tasarlanmış ve bu kapağa paslanmaz çelikten yapılmış yansıtıcı yüzey yerleştirilmiştir. Ölçüm alınabilmesi için numune yüzeyine örnek konulmakta, ardından kapak kapatılarak şekil 4.5’de gösterilen düzenek kurulabilmektedir. NIR sensöründen gelen ışınlar örnekler etkileştikten sonra yansıtıcı yüzeye çarparak geri dönmekte ve tekrar örnek üzerinden dedektöre ulaşmaktadır. Bu şekilde ışığın ilerlediği yol iki katına çıkarak örnek hakkında diğer 2 ölçüm moduna göre daha farklı bilgiler alınabilmektedir. şekil 4.5’de tasarlanan transfleksiyon modölüne ait çıktılar sisteme montajı yapılmış halde gösterilmektedir.



şekil 4.5. Transfleksiyon modölünün kapak açık ve kapalı hali

Bu tasarımda yansıtıcı yüzeyin hemen arkasına küçük bir peltier eklenmiştir. Bu peltierin sisteme montajının amacı, safir yüzey ile yansıtıcı arasında kalan örneğin sıcaklığının, sonraki bölümlerde anlatılacak olan örnek ısıtma haznesindeki küvetlerde bulunan örneklerin sıcaklığı ile aynı kalmasını sağlamaktır. Böylece ölçüm süresince örneğin sıcaklığı haznede bulunduğu sıcaklığıyla aynı tutulacak ve istenilen sıcaklıkta NIR spektrumu alınmış olacaktır. Bu kapakta bulunan peltierin sıcaklığı örnek ısıtma haznesindeki sıcaklıkla aynı olacak şekilde yazılım yardımıyla ayarlanabilmektedir.

4.1.4. Spektrometrelerde Kullanılan Diğer Parçalar

Geliştirilen 3 farklı NIR spektrometresi için kullanılan ana kasanın tasarımı öncelikle 3B çizim halinde hazırlanmış, son haline getirildikten sonra akrilonitril bütadien stiren (ABS) materyalinden çıktısı alınmıştır. Geri kalan tüm parçaların montajı bu ana kasaya yerleştirilerek sistemler çalışır hale getirilmiştir.

Numune yüzeyi sistemin kasanın üst kısmında, örnek ısıtma haznesi ise hemen yanında konumlandırılmıştır. Elektronik aksamın tümü sistemin iç kısmına yerleştirilirken bu aksamın kontrolü ve ölçümlerin yapılması amacıyla geliştirilen yazılımın çalıştırıldığı tablet PC ise ön tarafa eğimli olacak şekilde yerleştirilmiştir.

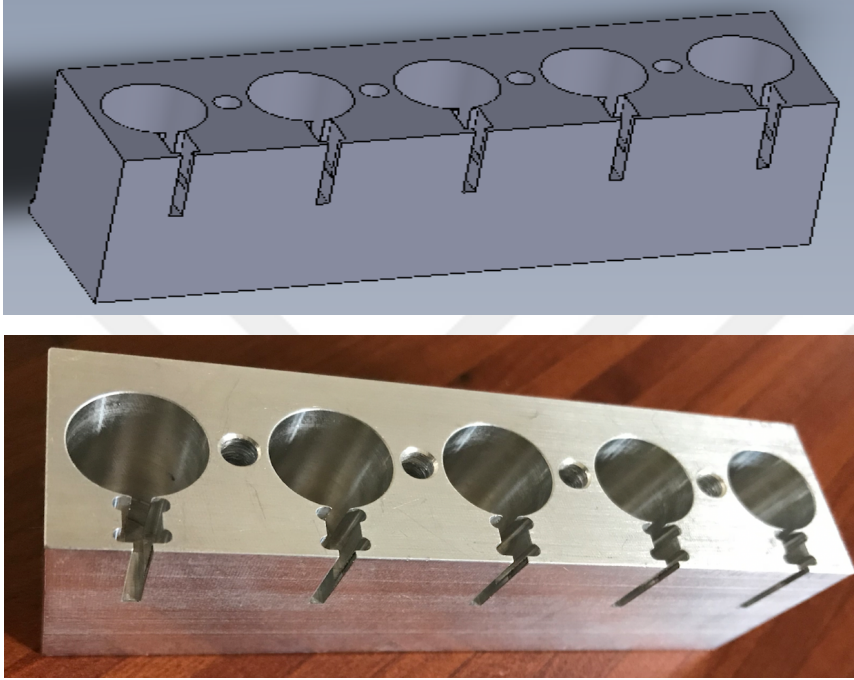
Örnek Haznesi ve Hazne Motoru

Reflektans ve transmitans spektrometreleri için katı ve sıvı örneklerin konulabileceği 38 ml hacmine sahip, kenarları metal silindir şeklinde, tabanı 5 cm çapında safir camdan oluşan örnek haznesi tasarlanmıştır. Bu örnek haznesi reflektans ve transmitans modülünde kullanılırken, transflektans modülünde örneğin numune yüzeyinde bulunması ve yansıtıcı yüzeyi bulunduran kapağın örneğin üzerine kapatılması gerektiğinden dolayı kullanılamamaktadır.

Kullanıcının, örneğin farklı bölgelerinden spektrum almasını sağlamak amacıyla örnek haznesini belirli bir hızda döndüren motor tasarımı yapılmıştır. Bu motor ve motorun kontrol edilebildiği yazılım sayesinde kullanıcının istediği sürede istediği sayıda spektrum alınması sağlanabilmektedir. Numune yüzeyinin üzerine montajı yapılacak şekilde tasarlanan motor modülünün 3B çizimi ve paslanmaz çelik çıktısının montajı yapılmış hali reflektans spektrometresi bölümünde Şekil 4.3'de gösterilmiştir.

Örnek Isıtma Haznesi

Geliştirilen her 3 sisteme de kullanıcının örneklerini ısıtması gerektiği durumlarda kullanmak üzere numune yüzeyinin yanına 5 adet küvetin yerleştirilebileceği örnek ısıtma haznesi tasarlanmıştır. Haznenin 3B çizimi ve tasarım sonrası alınan paslanmaz çelik çıktısının fotoğrafı Şekil 4.6'de gösterilmektedir.



Şekil 4.6. Örnek ısıtma haznesinin 3B çizimi ve alüminyumdan alınmış çıktısı

Örnek ısıtma haznesinin her iki yanına yerleştirilen peltierler ile alüminyum plakanın ısıtılması ve dolayısıyla haznedeki yuvalara yerleştirilen küvetteki örneklerin ısıtılması sağlanmaktadır. Geliştirilen yazılım üzerinden kullanıcının örneğini istenilen sıcaklığa getirmesi sağlanmaktadır. Ancak peltierlerin uzun süreli çalışabilmesi amacıyla örneklerin çıkartılabileceği maksimum sıcaklık yazılım üzerinden 80°C'ye ayarlanmıştır. Küvetlerin yanındaki lambalar ile küvetin hazneye tam olarak oturduğu uyarısı yapılmakta, yazılım üzerinde ise küvetin ısınma süresi gösterilmektedir. Yapılan çalışmalar ile 4°C'de tutulan 1 ml süt örneğinin sıcaklığının 40°C'ye 3 dk. içerisinde çıktığı gözlemlenmiştir.

Sensör Sıcaklık Kontrol Ünitesi Tasarımı

Sistemde kullanılan NIR sensörünün sıcaklığının artmasıyla aynı örneğe ait NIR spektrumlarının değiştiği yapılan ön denemelerde görülmüştür. Aynı örneğin spektrumlarının sensör sıcaklığının artmasıyla yükselmesi sistemin hatalı veriler üretmesine sebep olmakta ve alınan spektrumlarla yapılacak analizler de dolayısıyla hatalı sonuçlar üretmektedir.

NIR spektrumlarından alınan bilgiyi işleyerek anlamlı kalitatif ve kantitatif analizler yapılmasını sağlayan PLS ve PCA gibi kemometrik metotlarda spektrumlardaki küçük bir farklılık, modellerin performansında büyük değişikliklere sebep olabilmektedir. Bu nedenle sistemdeki NIR sensörünün sıcaklığının her zaman aynı sıcaklıkta bulunması ve doğru, tekrarlanabilir, sıcaklıkla değişmeyen spektrumlar üretilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla geliştirilen NIR spektrometrelerinde bu sorunu çözecek sensör sıcaklık kontrol ünitesi tasarlanmıştır.

İlk aşamada sensör haznesinin etrafını tamamen kapatacak sıcaklık kontrol ünitesinin 3B çizimi gerçekleştirilmiş ve alüminyum formunun üretimi yapıldıktan sonra sensör haznesinin etrafına montajı gerçekleştirilmiştir. İkinci aşama olarak ünitenin sıcaklığının kontrolünün sağlanması amacıyla tasarımın arka düz yüzeyine peltier ısıtıcı/soğutucu yerleştirilmiş, peltierin hemen arkasına da bilgisayar işlemcilerinin soğutulmasında kullanılan sıvı soğutmalı işlemci soğutucusunun yüzeyi yerleştirilmiştir.



Şekil 4.7. Sıvı soğutma sistemi ve peltier yerleştirilmiş sıcaklık kontrol ünitesinin montajı yapılmış hali

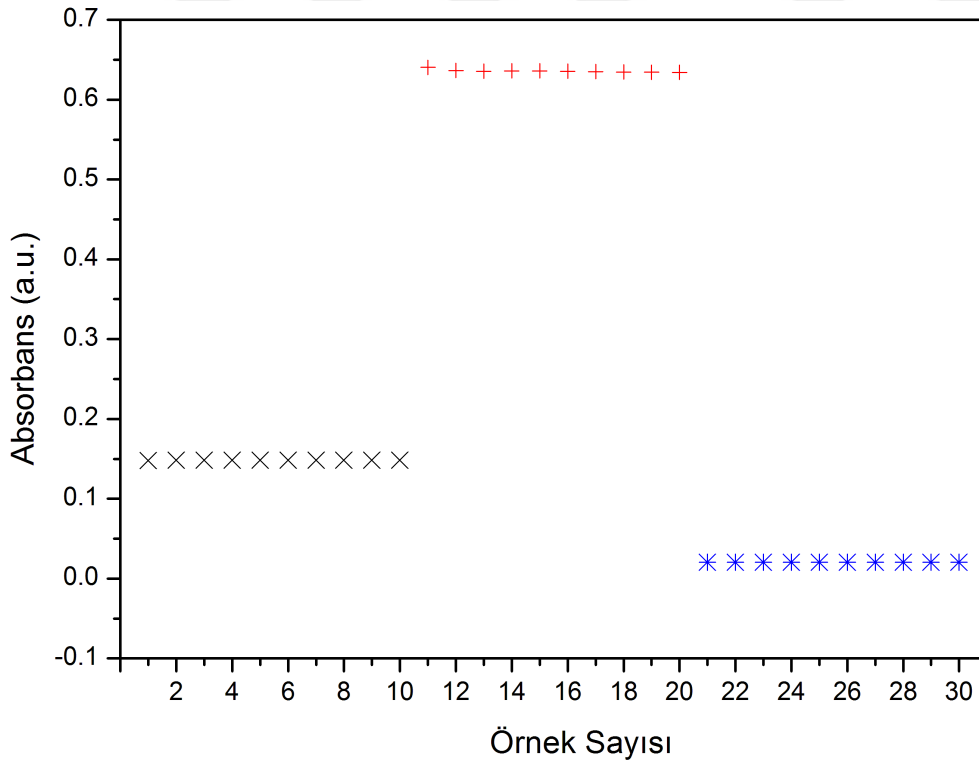
Kurulan sistem ile hem NIR sensörünün sıcaklığı kendi sıcaklık sensörü ile hem de sıcaklık kontrol ünitesinin iç sıcaklığı iç yüzeye yerleştirilen sıcaklık sensörü ile takip edilebilmektedir. Sistemin açılışıyla NIR sensörünün sıcaklığının hızlıca istenilen değere gelmesi için peltierin ısıtılması sağlanmakta ve ortam sıcaklığı yükseltilmektedir. Sensör sıcaklığı istenildiği sıcaklığa geldikten sonra ortamın sıcaklığı sıvı soğutma sisteminin devreye girmesiyle dengeye getirilmekte ve sensörün aynı örneğe doğru ve tekrarlanabilir spektrumlar üretmesi sağlanmaktadır.

Spektrometrelerden Alınan Spektrumların Karşılaştırılması

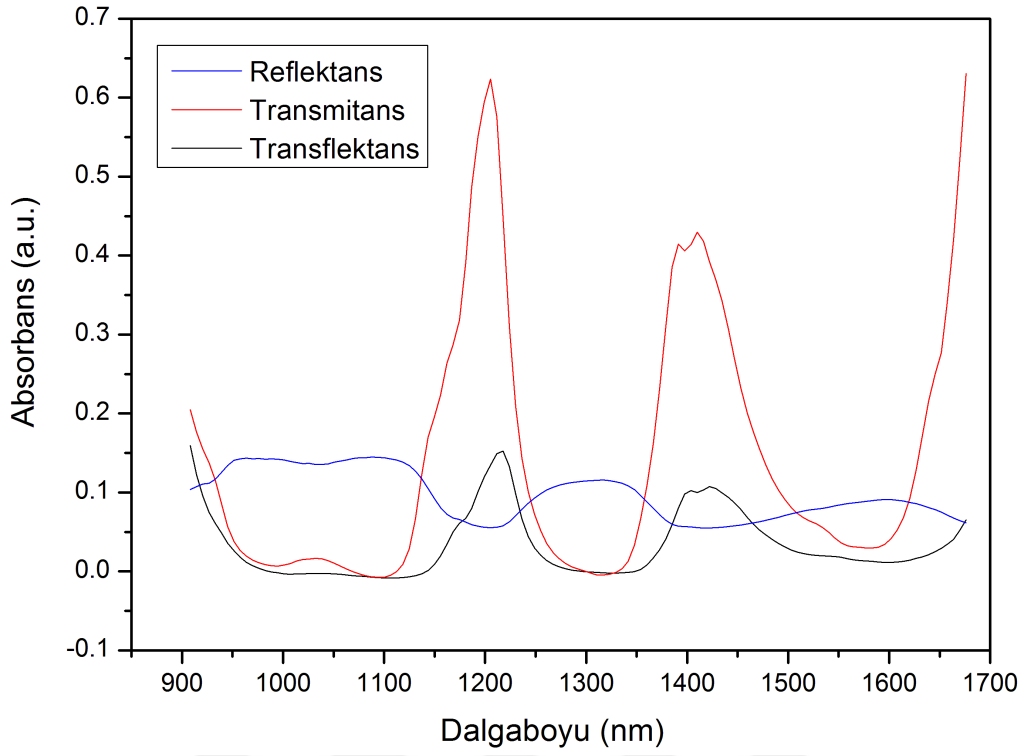
NIR spektrumlarındaki gerekli bilgiyi almak ve bu bilgiyi uygun şekilde değerlendirmek amacıyla sıklıkla kullanılan kemometrik metotlarda spektrumlardaki en ufak değişikliklerin sonucu değiştirdiği bilinmektedir. Bu nedenle geliştirilen reflektans, transmitans ve transflektans spektrometrelerinin stabil, doğru ve tekrarlanabilir spektrumlar üretebilmesi çok önemlidir. Bu amaçla yapılan çalışmada örnek olarak seçilen hardal yağının 3 farklı NIR sistemiyle 1 saat boyunca arka arkaya 10'ar adet spektrumu alınmış ve maksimum sinyal yüksekliği bulunan bant olarak seçilen 1210 nm bandının yükseklikleri

hesaplanarak örnek sayısına karşı Şekil 4.8’de grafiğe geçirilmiştir. Bant yüksekliklerinin ortalamaları reflektans, transmitans ve transflektans spektrometreleri için sırasıyla 0.0205, 0.6359 ve 0.1484 bulunurken standart sapmaları ise 0.000039, 0.001823 ve 0.000107 olarak hesaplanmıştır. Sistemlere ait bağıl standart sapma değerleri (relative standard deviation, RSD) ise sırasıyla % 0.072, % 0.2867 ve % 0.1936 olarak hesaplanmıştır. Ölçümlerin tekrarlanabilirliğini gösteren RSD değerleri ile her 3 ölçüm modunun da kabul edilebilir seviyede tekrarlanabilir sinyal şiddeti verdiği gösterilmiştir [75, 76]. Şekilden ve hesaplanan standart sapma değerlerinden de görülebileceği gibi sistemlerin tek bir örnekte arka arkaya aldığı spektrumlar arasında fark olmadığı gözlenmiştir.

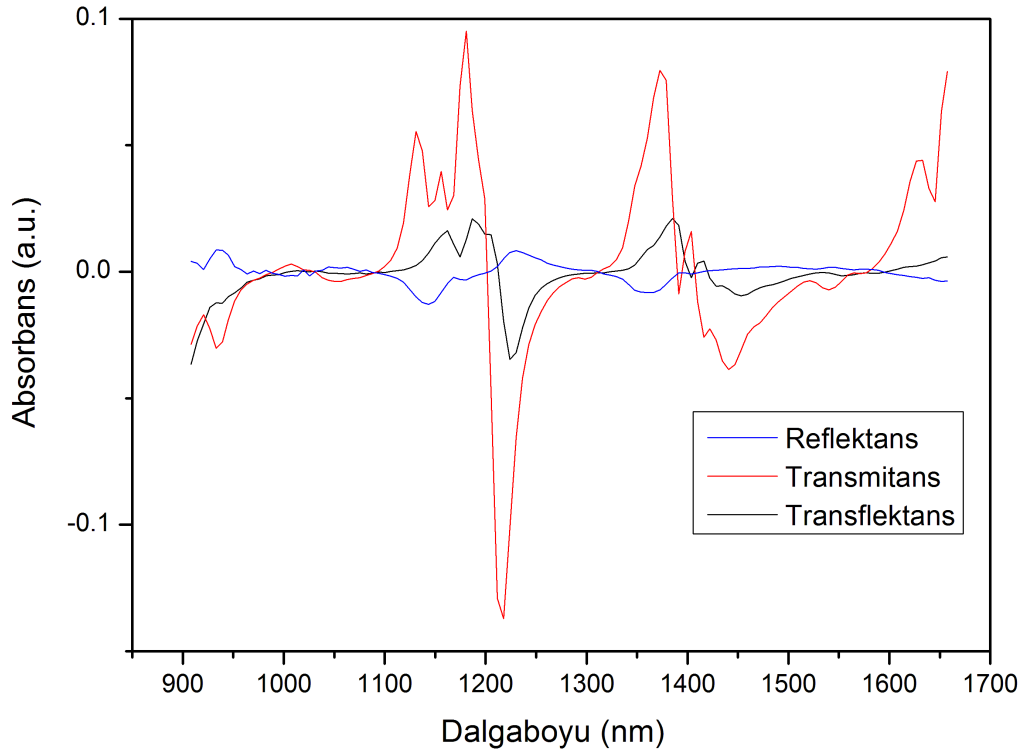
Bu çalışmayla birlikte 3 farklı NIR spektrometresinin aynı örneğe verdiği spektrumların karşılaştırılması ve değerlendirilmesi amacıyla Şekil 4.9’da gösterilen grafik çizilmiştir. Reflektans spektrumu, karşılaştırmanın düzgün yapılabilmesi amacıyla absorbansa ($\log(1/R)$) çevrilmiştir. Bu spektrumların farklılaşmalarının daha ayrıntılı incelenmesi amacıyla da spektrumların 1. türevleri alınmış ve Şekil 4.10’da grafiğe geçirilmiştir.



Şekil 4.8. Reflektans (*), transmitans (+) ve transflektans (x) spektrometreleriyle alınan hardal yağı spektrumlarındaki 1210 nm bandının absorbans değerine karşı paralel spektrum sayısına ait grafik



Şekil 4.9. Hardal yağının 3 farklı NIR spektrometresiyle alınmış reflektans, transmitans ve transflektans spektrumları



Şekil 4.10. Hardal yağının 3 farklı NIR spektrometresiyle alınmış reflektans, transmitans ve transflektans spektrumlarının 1. türev alınmış hali

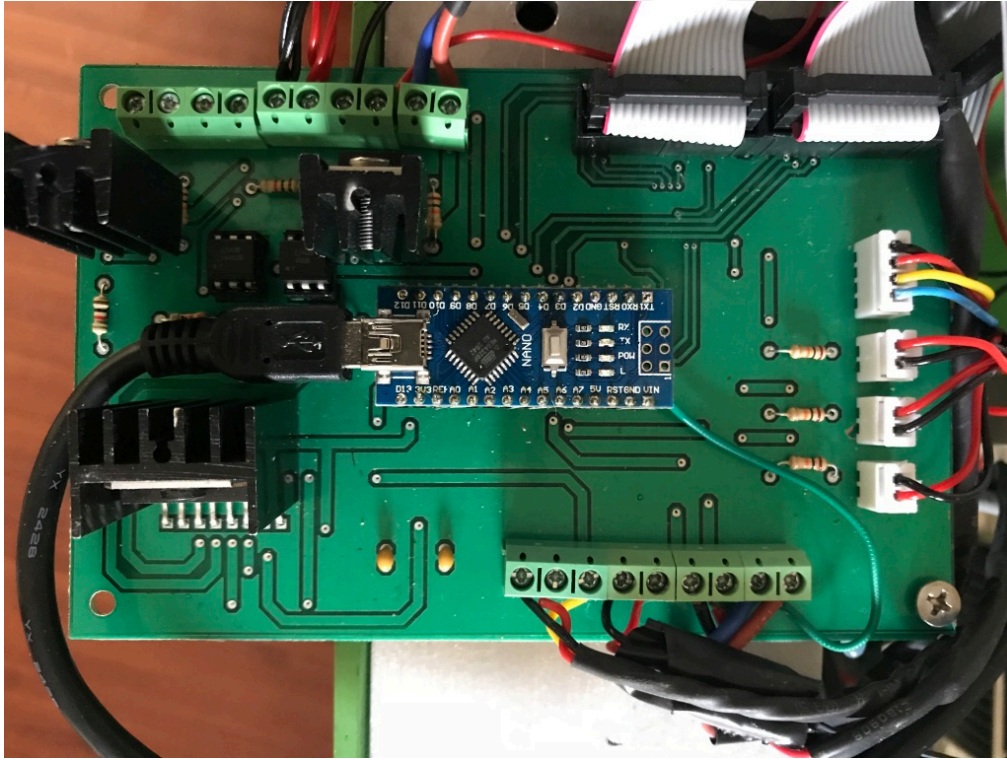
NIR spektroskopisinde ölçümü alınan örneğin opak olması durumunda gönderilen ışığın büyük bölümü yansımaktadır. Örnekteki transparanlık arttıkça ışığın bir kısmı yansımakta bir kısmı da örneğin içerisinden geçmektedir. Bu nedenle örnekten alınacak veri yoğunluğu, örneğin içerisinden geçen ve kaybolan ışıkla birlikte azalmaktadır [6, 77]. Ham spektrumlara ait grafiğe bakıldığında hardal yağının saydamlığının yüksek olmasından dolayı reflektans spektrometresinden elde edilen verilerin daha farklı bölgelerde ve çok daha düşük şiddette olduğu görülmektedir. Transmittans spektrumunun sahip olduğu 3 bandın transflektans spektrumu ile benzer olduğu ancak çok yüksek sinyal şiddetine sahip olduğu görülmektedir. Bununla birlikte 1025 nm’de transflektans spektrumunda bulunmayan bir bandın da transmittans spektrumunda bulunduğu gözlenmektedir. Transflektans spektrumunda ise transmittans spektrumunda bulunmayan, 1210 nm’deki pikin şiddetinin yüksek olmasından dolayı kaybolmuş 1160 nm civarında bir bandının bulunduğu söylenebilir. Spektrumların 1. türevlerine ait spektrumlara bakıldığında ise çoğu bandın birbirine benzer yerlerde çıktığı görülmekte ancak ham spektrumlara göre çok daha fazla bant elde edildiği görülmektedir.

Bu iki grafiğe bakılarak farklı NIR ölçüm modlarının örneğe ait farklı bilgiler verebildiği, verdiği sinyal şiddetine göre bazı bantların gözlemlenmeyip bazı bantların ise ortaya çıktığı söylenebilmektedir. Aernouts ve ark. çiğ süt analizinde Vis/NIR reflektans ve transmittans ölçüm modlarının sütteki protein, yağ ve laktoz miktarını tahmin etmedeki performanslarını incelemiş, reflektans spektrumlarıyla kurulan PLS modelleriyle yağ ve protein miktarını 0.95 üzeri R^2 değerleriyle tahmin edebilirken laktoz miktarı için 0.75’den daha düşük R^2 değerleri elde etmişlerdir. Ancak transmittans spektrumlarıyla kurulan modeller ise yağ ve proteini daha kötü bir performansla ($R^2 > 0.90$) tahmin edebilirken laktoz miktarını reflektans modellerine göre daha iyi şekilde ($R^2 = 0.88$) tahmin edebilmektedir [78]. Cayuela ve Garcia ise zeytinyağındaki skualen içeriğini transmittans ve transflektans ölçüm modlarını kullanarak tahmin etmek istemiş, elde edilen PLS modellerinde transmittans ölçüm modunda 0.76 R^2 değeri elde ederken transflektans ölçüm modunda kurulan PLS modeli daha iyi bir performans ($R^2 = 0.86$) göstermiştir [79]. NIR spektrumlarından elde edilen bilgilerin kemometrik metotlar ile işlenmesiyle kurulacak kalitatif ve kantitatif modellerin her 3 NIR ölçüm modunda farklı sonuçlar çıkarabileceği hem literatürdeki çalışmalardan hem de yukarıda gösterilen spektrumlardan görülebilmektedir. Bu nedenle NIR spektroskopisi ile yapılacak

olan çalışmalarda farklı ölçüm modlarının performanslarının incelenmesi büyük önem taşıtmaktadır.

4.1.5. NIR spektrometrelerinin Elektronik Tasarımı

Sistemde bulunan elektronik parçaların birbiriyle uyumlu ve stabil çalışması amacıyla mikrobilgisayar tasarlanması gerekmiştir. NIR sensörü, transmittans modülünde kullanılan ışık kaynağı, sıvı soğutma sistemi, sensör baca haznesi, örnek ısıtma haznesi ve transflektans modülü kapağında bulunan tüm peltierler ile örnek haznesi motorunun kontrolünün tek bir mikrobilgisayardan kontrolü için elektronik devre kartı tasarımı yapılmıştır. Tüm sistemle uyumlu alışacan güç kaynağı sisteme entegre edilerek yazılım ile çalışır hale getirilmiştir. şekil 4.11'de geliştirilen ve sistemin temelini oluşturan baskı devre kartının tüm bağılantıları yapılmış hali gösterilmiştir.



şekil 4.11. Tüm sistemin elektronik kontrolünü sağılayan baskı devre kartı

4.1.6. NIR Spektrometrelerinin Yazılım Tasarımı

Geliştirilen NIR spektroskopisinin kullanıcı tarafından kolay ve hızlı şekilde kullanımı amacıyla grafiksel kullanıcı ara yüzüne sahip bir yazılım geliştirilmiştir.

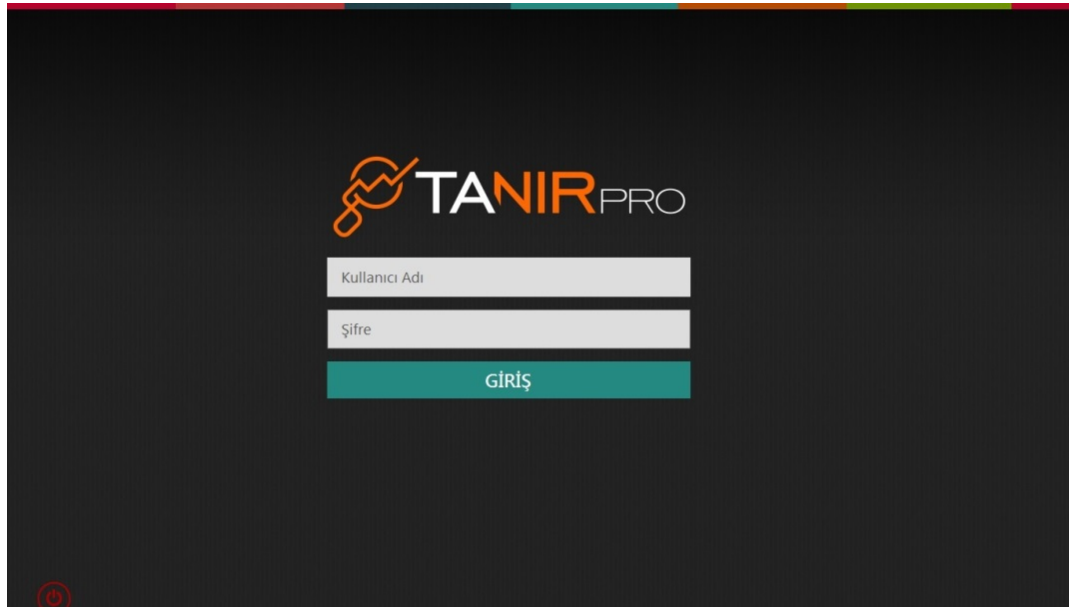
Kullanıcının NIR spektrumlarını alması ve değerlendirmesi aşamasında kullanılacak yazılımın kod yazımı ve geliştirilmesi “Visual Studio 2015” geliştirici yazılımı kullanılarak C# dilinde yapılmıştır.

4.1.6.1. Grafikselle Kullanıcı Arayüzü (GUI, Graphical User Interface) Tasarımı

NIR spektroskopisinin geliştirilen her 3 ölçüm modunda kullanıcının kolay ve hızlıca kullanabileceği, sisteme entegre edilen tablet PC’de çalıştırılacak ve sistemdeki tüm bileşenlerin kontrol edilebileceği GUI tasarımına sahip yazılım geliştirilmiştir. Fiziksel ve elektriksel tasarımın tamamlanmasının ardından tüm ekipmanların montajı gerçekleştirilmiş ve tablet PC’de geliştirilen bu yazılımla tüm cihazın kontrolü kullanıcıya sunulmuştur.

Yazılım Giriş Ekranı

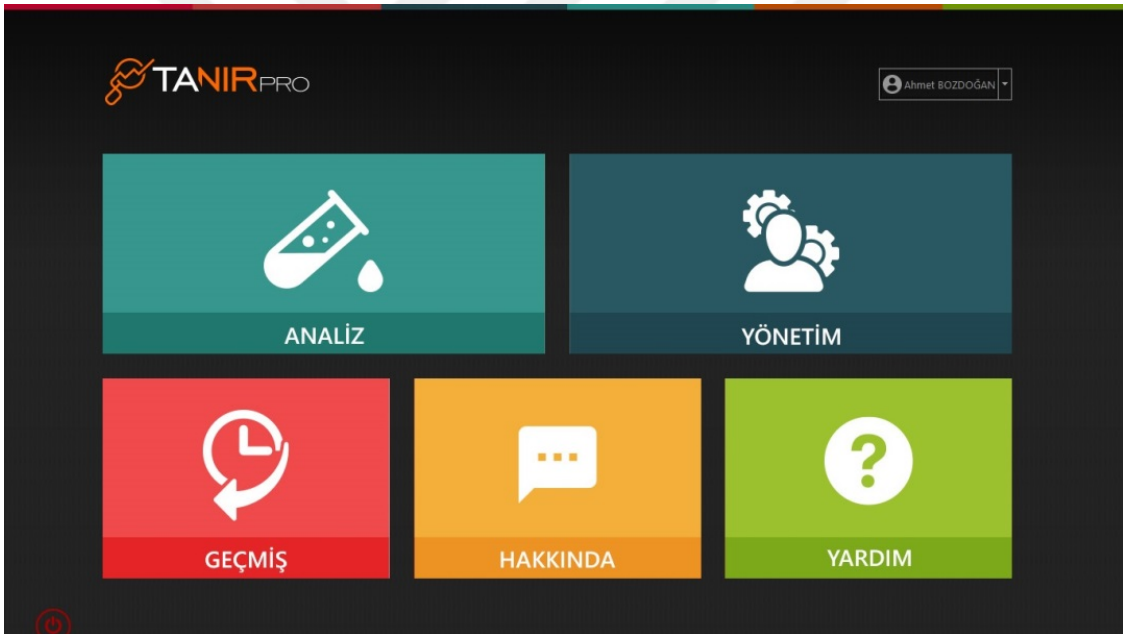
Cihazın açılmasıyla birlikte ilk aşamada Windows işletim sistemi, ardından sistemin yazılımı olan TANIRPRO açılmaktadır. İlk açılış ekranı Şekil 4.12’de gösterilmektedir. Sistemin kullanacağı iki farklı kullanıcı rolü tanımlanmıştır; admin ve kullanıcı. “Admin” olan kullanıcı sistemin tüm ayarlarını kontrol edecek kişi olarak tanımlanırken, sistemin sadece admin tarafından izin verilen kısmını kullanacak olanlar için ise “kullanıcı” rolü belirlenmiştir.



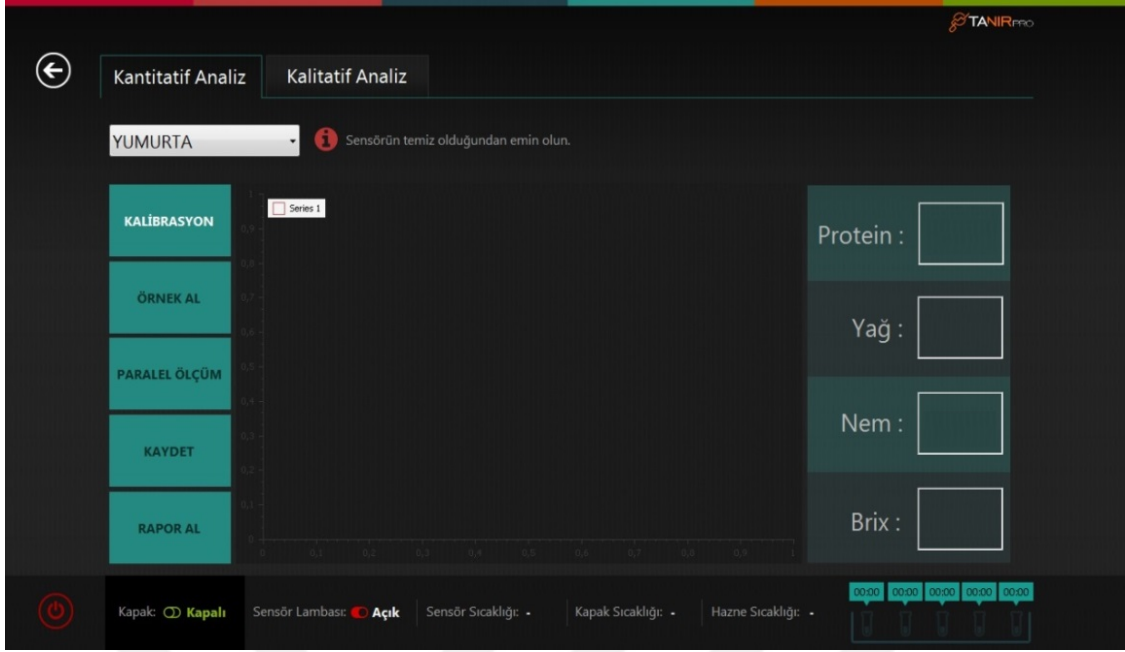
Şekil 4.12. TANIRPRO yazılımının giriş sayfası

Yazılım ana sayfası

Yazılımın ana sayfasının tasarımı Şekil 4.13’de gösterilmiştir. Bu ekranda 5 farklı seçenek bulunmaktadır; Analiz, Yönetim, Geçmiş, Hakkında ve Yardım. Admin olmayan kullanıcılar, Yönetim ekranına giremeyecekleri için sadece Analiz, Geçmiş, Hakkında ve Yardım ekranlarını görüntüleyebilmektedir. “Analiz” sayfasında reflektans, transflektans ya da transmitans spektrumları alınabilmektedir. “Yönetim” sayfasında yönetici rolü tanımlanan kullanıcının NIR ölçümleri ile ilgili ayarları değiştirebildiği, kullanıcı listesini güncelleyebildiği vb. ayarları gerçekleştirdiği bölüm bulunmaktadır. “Geçmiş” sayfasında farklı kullanıcıların daha önceden almış olduğu NIR spektrumlarının izlenebileceği bölüm bulunmaktadır. “Hakkında” sayfasında cihaz hakkında bilgiler bulunmakta iken “Yardım” sayfasında sistemle ilgili karşılaşılan sorularla ilgili çözümlerin bulunduğu bölüm yer almaktadır.



Şekil 4.13. TANIRPRO yazılımı ana sayfası



Şekil 4.14. TANIRPRO analiz sayfası

“Analiz” tuşuna basılarak girilen bölümde açılan sayfanın görüntüsü Şekil 4.14’de gösterilmiştir. Sayfanın sol üstünde kullanıcının daha önceden “Yönetim” sayfasından belirlediği ölçüm parametrelerinin kayıtlı olduğu metotları seçebileceği açılır menü bulunmaktadır.

Sayfanın solunda, ölçüm yapılabilmesi için gerekli olan aşamalara ait tuşlar yer almaktadır. Sayfanın sağında daha önceden PLS modeli geliştirilmiş ve Model Exporter yazılımı aracılığıyla sisteme entegre edilmiş, yazılımın kalite parametrelerini tahmin ettiği modelin sonuçlarının gösterildiği kutular bulunmaktadır. Analiz aşamaları ve model tahmin aşaması sonraki bölümlerde anlatılacaktır. Sayfanın alt kısmında ise sistemle ilgili bilgilerin gösterildiği sütun yer almaktadır. Bu aşamada;

- Transfektans kapağı açık/kapalı uyarısı
- NIR sensörü lamba açık/kapalı uyarısı
- Hazne motoru açık/kapalı uyarısı (reflektans ve transmitans modülünde)
- NIR sensörünün sıcaklığı,
- Kapak peltier sıcaklığı (transfektans modülünde)
- Sensör baca haznesi sıcaklığı
- Örnek ısıtma haznesi sıcaklığı

gibi bilgiler bulunmaktadır. Buradaki bilgiler izlenerek sistemin stabil ve sorunsuz çalıştığı görülebilmektedir.

Analiz Aşaması

NIR spektrumunun elde edilebilmesi için öncelikle NIR sensörünün kalibrasyonunun yapılması gerekmekte, ardından örneğin spektrumunun alınması aşamasına geçilebilmektedir. Kalibrasyon aşamasında sisteme minimum ve maksimum NIR reflektans, transmitans ve transflektans değerlerinin tanımlanması gerekmekte ve her sistem için ayrı bir yol izlenmektedir. Ardından yapılacak analizler de farklı ölçüm modlarında alınacağı için bu aşamalar ayrı başlıklar içerisinde anlatılacaktır.

NIR Reflektans Spektrumunun Alınması

Reflektans spektrumunun alınmasından önce örnek haznesinin içerisine Spectralon® adı verilen reflektans standardı yerleştirilmekte ve örnek haznesi döner tablanın içerisine konulmaktadır. Kalibrasyon tuşuna basıldığında sistem otomatik olarak öncelikle lamba açık şekilde standardın % 100 spektrumunu kaydetmektedir. Bu standart üzerine gelen ışınların % 99.9'unu geri göndermektedir. Ardından sistem lamba kapalı şekilde % 0 spektrumunu sisteme kaydetmektedir. Her iki spektrum alındıktan sonra örnek al tuşu aktif hale gelmekte ve ölçüm alınması için sistem hazır hale geçmektedir.

Sistemin kalibrasyonunun yapılmasının ardından katı ve sıvı örnekler, örnek haznesinin yüzeyi kapatılacak şekilde yerleştirilmektedir. Örnek haznesi döner hazneye yerleştirildikten sonra "Örnek Al" tuşuna basılarak sistemin belirli sürede ve sayıda spektrum alması sağlanmaktadır. Bu aşamada reflektans spektrumu aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır;

$$\text{Reflektans (\%)} = \frac{(\text{Örnek Spektrumu} - \%100 \text{ spektrumu})}{(\%100 \text{ Spektrumu} - \%0 \text{ Spektrumu})} \times 100 \quad \text{Eş. 4.1}$$

Reflektans spektrumu hesaplandıktan sonra 908 ile 1676 nm arasındaki NIR reflektans spektrumu, dalgaboyuna karşılık gelecek şekilde grafiğe geçirilmekte ve ekranın ortasındaki bölümde gösterilmektedir. Kullanıcı yaptığı ölçüme paralel bir ölçüm almak isterse "Paralel Ölçüm" tuşuna basarak aynı prosedürü

tekrarlayabilmektedir. Spektrumları kaydetmek istediği durumda ise “Kaydet” tuşuna basarak hem örneğin hesaplanmış reflektans spektrumunu hem de kalibrasyon aşamasında kaydedilen % 0 ve % 100 spektrumlarını Excel formatında bilgisayardaki istediği klasöre kaydedebilmektedir. “Rapor Al” tuşuna basılarak yapılan ölçümün hangi saat ve tarihte yapıldığı, sensör sıcaklığı, hazne sıcaklığı ve model tahmin değerleri (eğer sisteme entegre PLS modeli varsa) PDF formatına kaydedilebilmektedir.

NIR Transmittans Spektrumunun Alınması

NIR transmittans ölçümü öncesinde kalibrasyon aşamasının yapılması gerekmektedir. Bu amaçla örnek haznesi döner tablaya yerleştirilmekte ve kalibrasyon tuşuna basılmaktadır. % 100 spektrumunun alınması için üstte bulunan lamba açık şekilde spektrum kaydedilmektedir. % 0 spektrumu için ise tüm lambalar kapatılmakta ve spektrum kaydedilmektedir.

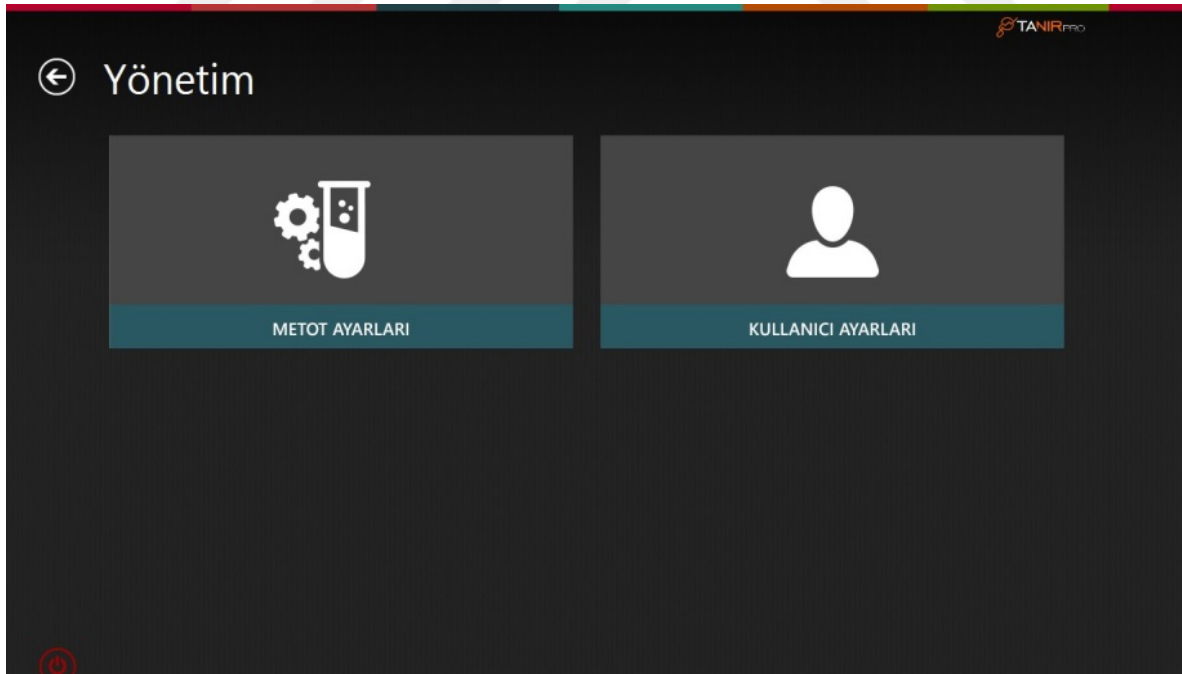
Transmittans spektrumunun alınması için örnek haznesine katı ya da sıvı örnek yerleştirilmektedir. Burada önemli olan ışık kaynağı ile örneğin arasındaki mesafenin tüm ölçümü yapılacak örnekler için aynı olmasıdır. Sıvı örneklerde kullanıcı istediği NIR transmittans spektrumunu elde edebilmek için sıvı örneğini örnek haznesine istediği miktarda koyarak en uygun miktarı bulabilmektedir. Katı örneklerde ise örneğin fiziksel yapısı hesaba katılarak sıkı ve düz bir yüzey oluşturulması gerekmektedir. Bu amaçla kullanıcının katı örneği tablet haline getirmesi önerilmektedir. Tablet halindeki örnek istenirse örnek haznesi içerisine istenirse de örnek haznesiz safir camın üzerine yerleştirilebilmektedir. Ancak burada dikkat edilmesi gereken husus, örnek safir cam üzerinde ölçümü alınacaksa kalibrasyon aşamasında örnek haznesiz şekilde ölçümlerin alınması gerekmektedir.

Kalibrasyon aşaması sonrası örnekler döner tablaya uygun şekilde yerleştirildikten sonra ölçüm al tuşuna basılarak spektrum elde edilmektedir. Spektrumlar absorbans ($\log(1/R)$) formatında kaydedilmekte ve absorbansa karşılık dalga boyu grafiğe geçirilerek NIR transmittans spektrumu ekranda gösterilmektedir. Diğer tüm aşamalar reflektans modülüyle aynı şekilde yapılmaktadır.

NIR Transfleksiyon Spektrumunun Alınması

Transfleksiyon spektrumunun alınması aşamasında ilk yapılması gereken diğeri NIR ölçüm modlarında olduğu gibi kalibrasyon aşamasıdır. Bu sistemde kalibrasyon değerlerinin alınması için safir yüzeyin üzerine örnek konulmadan yansıtıcı yüzeyin bulunduğu kapağın kapatılması gerekmektedir. % 100 spektrumunun alınması için kapak kapalıyken NIR sensörü açılmakta ve spektrum kaydedilmektedir. Hemen ardından kapak kaldırılmadan NIR sensörü kapalıyken sistem otomatik şekilde % 0 spektrumunu kaydetmektedir.

Kalibrasyon sonrasında örnek, safir yüzeye pipet yardımıyla uygun miktarda yerleştirilmektedir. Ardından kapak kapatılmakta ve “ölçüm al” tuşuna basılmaktadır. Burada dikkat edilmesi gereken yansıtıcı yüzey ile örneğin temas edip etmemesidir. Çalışılan örneğe göre spektrumlar değişeceği için sıvı miktarı değiştirilerek spektrumların alınması ve en uygun sıvı miktarının belirlenmesi gerekmektedir. Transfleksiyon spektrumları genellikle absorbanz şeklinde gösterildiği için grafikte absorbanza karşılık dalga boyu çizilerek ekranda gösterilmektedir.



Şekil 4.15. TANIRPRO yönetim sayfası

Yönetici Ayarları Sayfası

Ana sayfadan yönetici sayfası ikonuna tıklayınca açılan yönetici ayarları sayfasında admin rolünde olan kullanıcı, “Metot Ayarları” seçeneğini tıklayarak açılan sayfada sistemin farklı ölçüm parametrelerini kullanabilmektedir. “Kullanıcı ayarları” seçeneği tıklaması halinde ise farklı metotları farklı kullanıcılara atayabileceği, şifrelerin değiştirileceği sayfaya gidebilecektir.

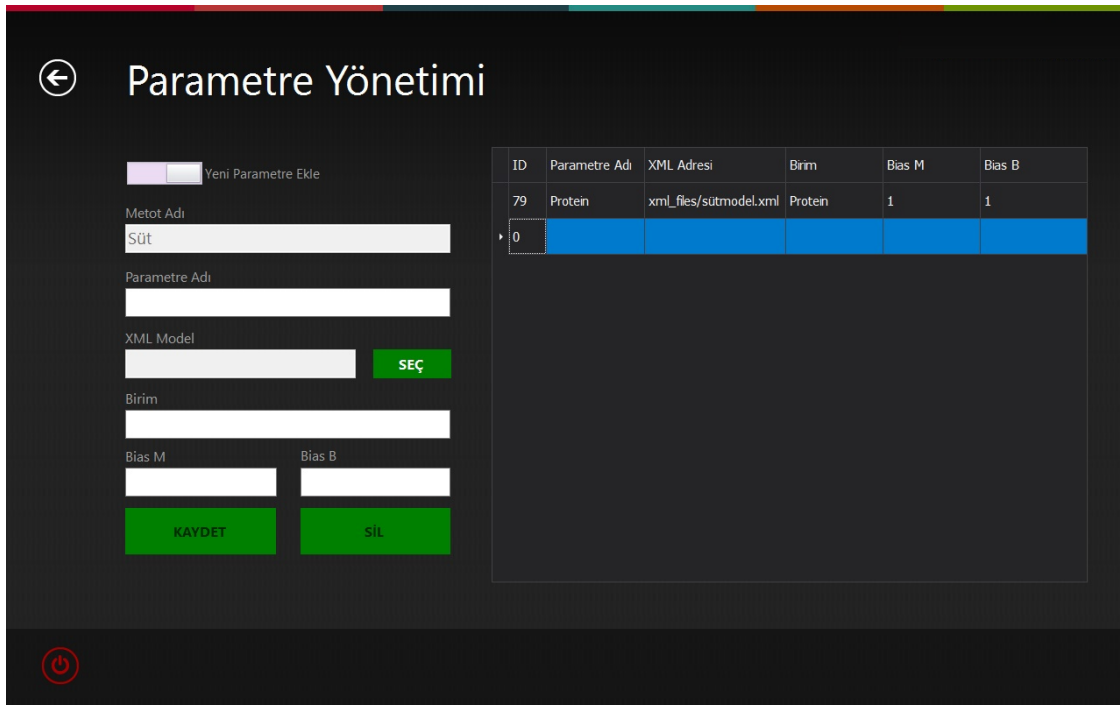
The screenshot shows the 'Metot Oluştur' (Method Creation) interface of the TANIRPRO system. The interface is dark-themed with a red header bar. On the left, there is a sidebar with a back arrow and the title 'Metot Oluştur'. The main area contains a form for creating a method. The form includes a dropdown menu for 'Reflektans' (Reflector) with 'Reflektans' selected. Below this are three input fields: 'Ölçüm Sayısı' (Measurement Count), 'Ölçüm Süresi' (Measurement Duration), and 'Sıcaklık' (Temperature). There are two buttons: 'ANLIK ÖLÇÜM' (Instant Measurement) and 'OTOMATİK ÖLÇÜM' (Automatic Measurement). Below these is a large green button labeled 'ÖLÇÜM AL' (Take Measurement). Further down are two buttons: 'REFERANS' (Reference) and '%0'. Below these are three checkboxes: 'Döner Tabla' (Rotating Table), 'Hazne Isıtıcısı' (Heating Chamber), and 'Kapak Isıtıcısı' (Cover Heating), each with 'Kapalı' (Closed) and 'Açık' (Open) options. A 'Metot Adı' (Method Name) input field is followed by a green button labeled 'METODU KAYDET' (Save Method). To the right of the form is a line graph showing a temperature curve over time. On the far right, there is a list of 'Ölçüm' (Measurement) items from 01 to 06. At the bottom, there is a status bar with a power button icon, 'Kapak: Kapalı' (Cover: Closed), 'Sensör Lambası: Açık' (Sensor Lamp: Open), and various temperature readings: 'Sensör Sıcaklığı: -', 'Kapak Sıcaklığı: -', and 'Hazne Sıcaklığı: -'. There are also five small green buttons with '00:00' labels.

Şekil 4.16. TANIRPRO metot oluşturma-değiştirme sayfası

Şekil 4.16'dan da görülebileceği gibi “Metot oluşturma” sayfasında kullanıcının farklı ölçüm sayısı, ölçüm süresi ve ölçüm sıcaklıklarını ayarlayabileceği küçük bölmeler oluşturulmuştur. Aynı zamanda döner tabla, hazne ısıtıcısı ve kapak ısıtıcısının açık-kapalı ayarının yapılacağı seçenekler de sunulmuştur. Admin rolü olan kullanıcı bu ayarları değiştirerek farklı çalışmalarda sistemini kullanmak amacıyla ayarlarını farklı isimlerde metot olarak kaydedebilmektedir. Bu ayarlarla birlikte kullanıcının geliştirmiş olduğu PLS modelinin sisteme entegre edilmesi için gerekli ayarların yapıldığı bölüm de bulunmaktadır.

Geliştirilen PLS Modelleri ile Sistemin Parametreleri Tahmin Edebilmesi

Tez kapsamında geliştirilen yazılım ile kullanıcı, daha önceden PLS_Toolbox yazılımını kullanarak kurduğu PLS modellerinin tahmin yeteneğini kullanabilmektedir. Kullanıcı geliştirilen NIR sistemlerin biri ile yaptığı çalışma sonucu aldığı NIR spektrumlarını kullanarak geliştirdiği PLS modelini Model Exporter yazılımı ile XML formatındaki dosyaya dönüştürebilmektedir. Bu XML formatındaki modeli “Yönetici” sayfasındaki model ekleme sayfasından sisteme Şekil 4.17’deki gibi yerleştirip, tahmin edilen parametrenin ismini bu sayfada yazması gereklidir.



The interface is titled "Parametre Yönetimi" (Parameter Management). On the left, there is a form for adding new parameters with the following fields and buttons:

- Yeni Parametre Ekle** (Add New Parameter) button
- Metot Adı** (Method Name) field: Süt
- Parametre Adı** (Parameter Name) field: (empty)
- XML Model** field: (empty) with a **SEÇ** (Select) button
- Birim** (Unit) field: (empty)
- Bias M** field: (empty)
- Bias B** field: (empty)
- KAYDET** (Save) button
- SİL** (Delete) button

On the right, there is a table with the following columns: ID, Parametre Adı, XML Adresi, Birim, Bias M, and Bias B.

ID	Parametre Adı	XML Adresi	Birim	Bias M	Bias B
79	Protein	xml_files/sütmodel.xml	Protein	1	1
0					

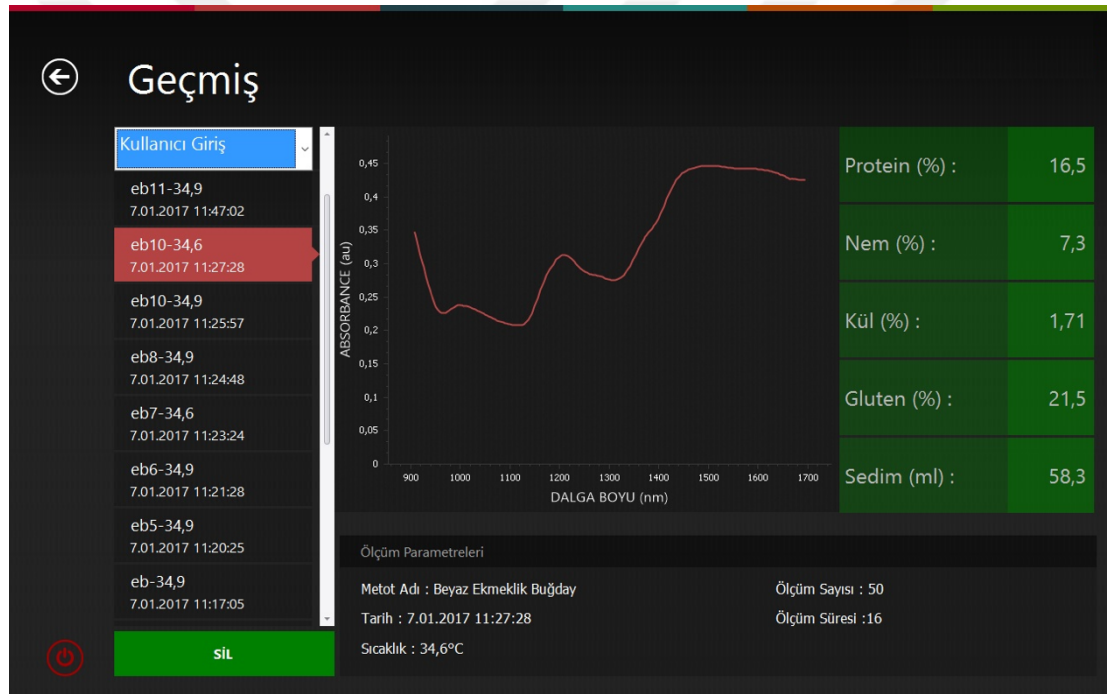
Şekil 4.17. TANIRPRO parametre yönetimi sayfası

Geliştirilen modelin yeni bir NIR spektrumu geldiğinde bu spektrumu işleyerek istenilen parametreyi tahmin etmesi amacıyla TANIRPRO yazılımının içerisine Model Exporter yazılımıyla birlikte gelen “Interpreter” (Yorumlayıcı) adlı kod yerleştirilmiştir. Bu kod yardımıyla NIR spektrometrelerinin istenilen parametreleri tahmin etmesi ve yazılım ana sayfasında spektrumun sağ tarafında tahmin değerlerini göstermesi sağlanmıştır. Şekil 4.14’de gösterildiği gibi farklı parametrelere ait birden fazla model sisteme yüklenebilmekte ve aynı anda tek bir spektrumdan farklı birçok tahmin değeri elde edilebilmektedir.

Yönetici ayarları sayfasındaki bir diğer bölüm olan “Kullanıcı Ayarları” kısmında admin olan kullanıcı, diğer kullanıcılara farklı metotları atayabilmekte, şifrelerini değiştirebilmekte ya da kullanıcı ekleyip silebilmektedir.

Geçmiş Sayfası

Sisteme tanımlı kullanıcıların geçmişte aldığı tüm spektrumların ve tahmin değerlerinin kayıtlı olarak tutulduğu ve incelenebildiği geçmiş sayfasının görüntüsü Şekil 4.18’de gösterilmiştir. Ekranın sağında alınan spektrum, soldaki açılan menüde spektrumun kayıtlı ismi ve hangi tarihte spektrumun alındığı gösterilmektedir. Ölçüm parametreleri ise ekranın aşağısında gösterilmektedir.



Şekil 4.18. TANIRPRO geçmiş sayfası

Hakkında ve Yardım Sayfası

Yazılım ana sayfasındaki hakkında ve yardım sayfalarında sisteme ait kullanım kılavuzu ile cihazla ilgili karşılaşılabilecek muhtemel sorunlara ait çözümlerin anlatıldığı bölüm bulunmaktadır.

4.1.7. Sonuç ve Tartışma

Tez kapsamında laboratuvar ortamında kullanımı hızlı ve kolay, ergonomik fiziksel tasarıma sahip ve 3 farklı ölçüm modunda hassas spektrumlar elde edebilen 3 adet NIR spektrometresi başarıyla geliştirilmiştir. Araştırmacıların NIR spektrometresinde sıklıkla kullandığı reflektans ve transmitans ölçüm modlarının yanında sıvı örneklerde başarılı sonuçlar alındığı literatürdeki örneklerle bilinen transflektans ölçüm moduna ait spektrometre de bu çalışma ile geliştirilmiştir.



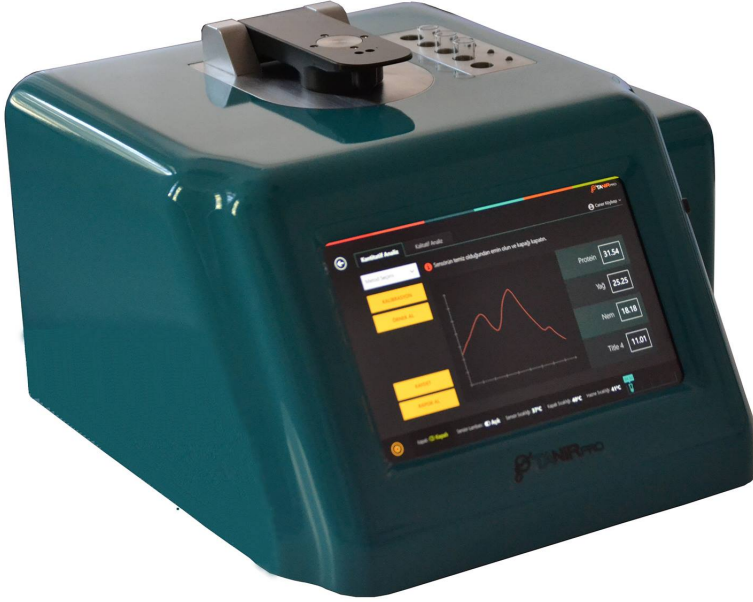
Şekil 4.19. Geliştirilen NIR reflektans spektrometresi

Geliştirilen NIR reflektans spektrometresi ile katı veya sıvı örneklerin doğru ve tekrarlanabilir spektrumları hızlı ve kolay şekilde alınabilmektedir. Yapılan tasarım ile örnekler safir cam üzerine yerleştirilebildiği gibi örnek haznesine istenildiği miktarda konulabilmekte ve farklı miktarda örneğin reflektans spektrumundaki değişimi gözlenebilmektedir. Sisteme entegre edilen örnek haznesi motoru ile örneğin farklı bölgelerinden istenildiği süre ve sayıda spektrumlar alınabilmekte ve bu spektrumların işlenebilmesiyle örneğe ait daha doğru ve kesin spektrumlar elde edilebilmektedir.



Şekil 4.20. Geliştirilen NIR transmitans spektrometresi

Katı veya sıvı örneklerin absorbladığı NIR bölgesindeki spektrumu elde edebilmek amacıyla geliştirilen NIR transmitans spektrometresi Şekil 4.20’de gösterilmiştir. NIR reflektans spektrometresinin tasarımına eklenen kuvarz tungsten-halojen lamba ile uygun yükseklikten NIR transmitans spektrumları kolaylıkla alınabilmektedir. Örnek haznesi motoru bu spektrometreye de eklenmiş ve farklı bölgelerden gelecek absorbans spektrumları da ortalamaya alınabilmektedir. Örnek haznesine eklenecek katı ya da sıvı miktarı ayarlanarak transmitans spektrumunda etkili olan ışık yolu da değiştirilebilmekte ve spektrumdaki değişiklikler geliştirilen yazılım ile kolaylıkla izlenebilmektedir.



Şekil 4.21. Geliştirilen NIR transflektans spektrometresi

Geliştirilen NIR transflektans spektrometresi ile kullanıcılara ışık yolunun iki katına çıkartılarak transflektans spektrumlarını elde edebilme ve çalışabilme olanağı sunulmuştur. Reflektans spektrometresine eklenen bir kapak ve kapağın altındaki yansıtıcı yüzey ile tasarımı yapılan transflektans spektrometresi, örneğin absorbladığı ışığın iki kat yol alabilmesini sağlamaktadır. Yansıtıcı yüzey ile safir cam arasında bırakılan numune yüzeyine eklenen örnek miktarının değiştirilmesiyle spektrumlarda oluşan fark yine yazılım sayesinde kolaylıkla takip edilebilmektedir.

Her 3 sistemde kullanılabilmek üzere farklı birçok özellik de sistemlere entegre edilmiştir. NIR sensörlerinin sıcaklığın artmasıyla spektrumlarda farklılaşmaya sebep olmasını engellemek ve bu sıcaklığın kontrolünü sağlamak amacıyla sıcaklık kontrol ünitesi geliştirilmiş, peltier ve sıvı soğutma sistemi yardımıyla NIR sensörünün sıcaklığının sabitlenmesi sağlanmıştır. Böylece sensör sıcaklığı sabitlenmiş ve spektrometrelerin doğru ve tekrarlanabilir spektrumlar üretebilmesi sağlanmıştır. Numune yüzeyinin yanına yerleştirilen etrafı peltierlerle çevrili örnek ısıtma haznesi ile kullanıcıların örneklerini belli sıcaklığa kadar birkaç dakika

içerisinde ısıtılması ve bu sıcaklıkta ölçüm alabilmesi sağlanmıştır. Fiziksel ve elektriksel tasarımın tamamlanmasının ardından yazılım aşamasına geçilmiş, hızlı ve kullanımı basit grafiksel arayüze sahip yazılım geliştirilmiştir. Bu yazılım ile sistemdeki tüm parametrelerin kontrolü yapılabilmekte, sensör ve ısıtma haznesi sıcaklıkları kolaylıkla değiştirilebilmektedir. Alınan NIR spektrumları incelendikten sonra Excel formatında çıktısı alınabilmekte ve analize hazır hale getirilmektedir.

Geliştirilen yazılım ile kullanıcı, NIR spektrometrelerinden aldığı spektrumları kullanarak PLS_Toolbox yazılımı ile kuracağı PLS modellerini spektrometrelerde test etme imkânı bulabilecektir. Kurulan tüm modeller, ilk aşamada TANIRPRO yazılımına yüklenecek ve ardından farklı bir örneğin spektrumu alınacaktır. Bu alınan spektrum, yazılım aracılığıyla PLS modeline gönderildikten sonra modelin tahmin ettiği değer ekranda gösterilebilecektir. Yazılıma örnek için kurulmuş birden fazla model de yüklenebilmekte ve sonuçlar yine tek ekranda gösterilebilmektedir. Böylece geliştirilen 3 farklı spektrometre ile hem örneğe ait spektrumlar kolaylıkla alınabilmekte, hem de PLS modelleri ile kantitatif analizde kullanılabilmektedir.

Yapılan çalışma ile 3 farklı NIR ölçüm modunun birbirinden farkı özetle gösterilmiş, geliştirilen spektrometreler ile örnek olarak seçilen hardal yağına ait farklı bantlarda farklı bilgiler spektrumlarda gösterilmiştir. Reflektans spektrometresinden elde edilen spektrumların bantları yüksek sinyal gücüne sahip olmasa da örneğe difüzlenen ışığın yansımaları spektrum halinde verdiği için diğer 2 ölçüm moduna göre farklı bilgiler içermektedir. Transmittans ölçüm modunun da transreflektans moduna göre daha yüksek sinyal gücüne sahip olduğu görülmüş ancak bazı bantların spektrumda kaybolduğu da gösterilmiştir. Bu nedenle örneğin türüne göre farklı ölçüm modlarında farklı bilgiler edinilebileceği görülmüş ve tez kapsamında geliştirilen NIR spektrometreleri ile bu karşılaştırmanın rahatlıkla yapılabildiği gösterilmiştir.

4.2. Geliştirilen NIR Spektrometreleriyle Gerçekleştirilen Gıda Analizleri

Tez kapsamında yapılması planlanan 3 farklı ölçüm moduna ait NIR spektrometrelerinin başarıyla geliştirilip üretimi tamamlanmasından sonra sistemlerin gıda analizlerindeki başarılarının ölçülmesi amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Hem sistemin başarılı spektrumlar alabildiğini göstermek hem

de literatürde bulunmayan bazı gıda analizlerine yönelik metot geliştirebilmek amacıyla 3 farklı çalışma üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalar;

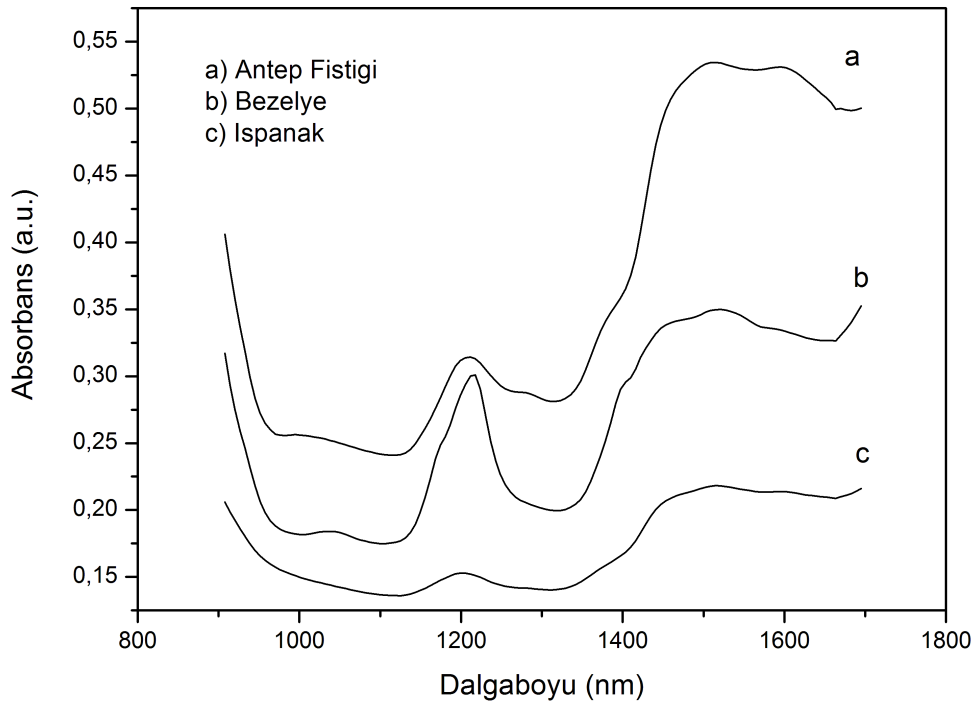
- Antep fıstığı yerine tağşiş amaçlı kullanılan bezelye ve ıspanağın NIR reflektans spektrometresiyle belirlenmesi
- Sütte ısıtılmanın ve farklı karışımların NIR reflektans spektrometresiyle belirlenmesi
- Kanola yağlarında bulunmaması gereken erusik asitin NIR reflektans, transmitans ve transflektans spektrometreleriyle belirlenmesi

olmuştur.

4.2.1. Bezelye ve Ispanak Kullanılarak Yapılan Antep Fıstığı Tağşişinin NIR Reflektans Spektrometresi ile Kalitatif ve Kantitatif Tayini Çalışmasına Ait Sonuçlar

4.2.1.1. Örneklerin Spektrum Analizi

Antep fıstığı, bezelye ve ıspanak granüllerine ait saf NIR reflektans spektrumları 908 ile 1675 nm arasında alınmıştır. Şekil 4.22'de görüldüğü üzere tüm saf örnekler 1100 ile 1600 nm arasında birbirinden ayrılabilir. Tüm örnekler 1200 nm civarında aynı banda sahip olmasına rağmen farklı intensitelere sahip olduğu gözlemlenebilmektedir. Ancak bezelye granülleri, diğer saf örneklerden 1050 nm'de, antep fıstığı ise 1590 nm'deki bant ile diğerlerinden ayrılmaktadır.



Şekil 4.22 Bezelye (a), antep Fıstığı (b) ve Ispanak (c) örneklerinin NIR reflektans spektrumları

Reflektans spektrumlardaki karakteristik bantlar ve bu bantların hangi yapıya denk geldiğine dair bilgiler literatür araştırmasıyla tanımlanmıştır. Antep fıstığına ait spektrumda 1666.6 ile 1769 nm arasında bulunan bant, kombine bantlar ile C-H bağlarının ilk overtonlarıdır. Bu çalışmada kullanılan spektrum aralığı 1675 nm’de bitmesinden dolayı bu bandın sadece bir kısmı görülebilmektedir. 1392.7 ile 1413.6 nm arasında bulunan bantlar C-H kombinasyon bandı ile ilişkilendirilmektedir. 1111.1 ile 1250 nm arasında bulunan metilenik germe titreşimleri ile ilişkilendirilen bantlar ise antep fıstığı taşışının belirlenmesi amacıyla spektrumdan anlamlı verilerin çıkarılması aşamasında büyük önem taşımaktadır [80].

Bezelyeye ait spektrumda 1450 ve 1950 nm’de bulunan bantların su absorpsiyon bantları olduğu, 1520-1570 nm arasındaki bantların ise bezelyenin yüksek miktarda sahip olduğu karbohidratlar ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir [81]. Ispanakta bulunan klorofil, antosiyanin ve karotenoid yapılarıyla ilişkilendirilen bantlar, sırasıyla 690-720, 510-520 ve 540-560 nm aralığında gözlemlendiği için geliştirilen NIR spektrometreleriyle incelenmesi mümkün olmamıştır [82]. 1200 ve 1400 nm etrafındaki bantların metilenik germe titreşimi ve su absorpsiyon bantları olduğu ve diğer antep fıstığı ve bezelye spektrumlarından sinyal şiddeti farkı ile ayrıldığı görülmektedir.

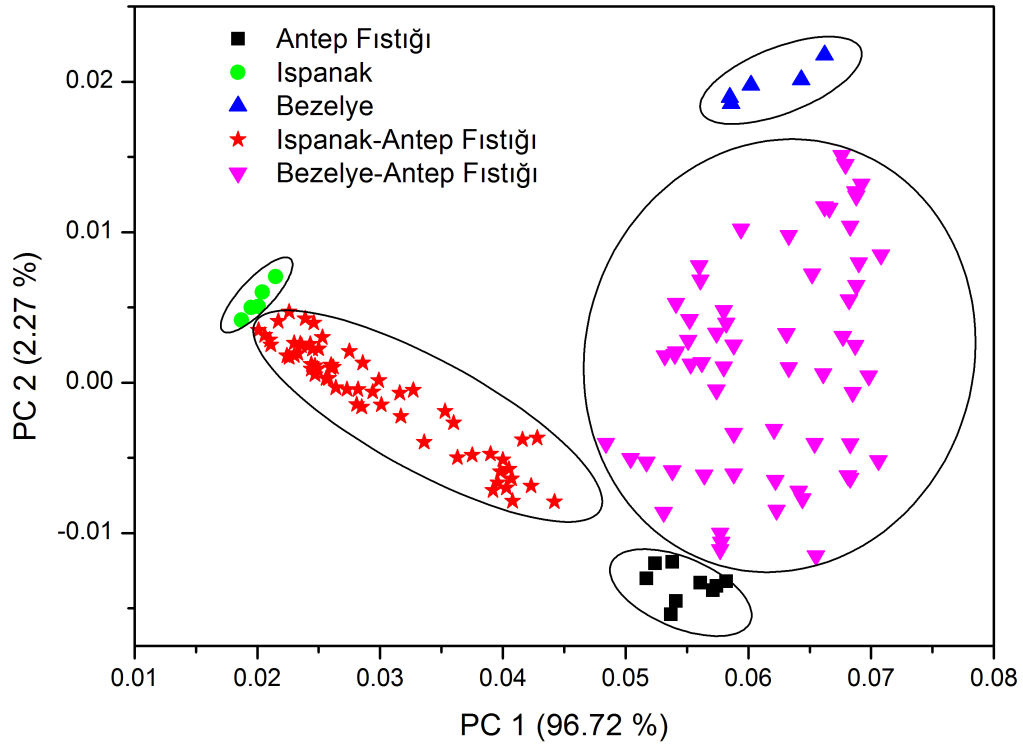
NIR spektrumlarındaki farklılıklar, genel olarak örneklerin sahip olduğu lipid ve proteinlerin farklı miktarlarda bulunmasından, özellikle antep fıstığının yüksek lipid içeriğinden kaynaklanmaktadır [83]. Türkiye’deki antep fıstıklarının toplam yağ miktarı ortalama olarak ağırlıkça % 56.9 civarındadır. Yağ asitlerinin içeriğinde ise palmitik asit (16:0), stearik asit (18:0), oleik asit (18:1) ve linoleik asit (18:2) bulunmaktadır [84].

4.2.1.2. Veri İşleme

PCA ve PLS modelleri, spektral parmak izlerini saf örnekler ile taşış edilmiş örneklerin birbirinden ayrılması ve taşış miktarının tahmin edilmesi ile ilişkilendirilmek amacıyla kullanılmıştır. Modellerin kurulmasından önce standart

normal değişken, de-trend, çoğaltıcı saçılma düzeltme, 1. ve 2. türev, pürüzsüzleştirme ve boşluk-segment türev ön işlemleri kullanılmıştır.

Ön işlemlerin PCA modelleri üzerinde etkilerinin incelenmesi sonucunda boşluk-segment türev ön işlemi dışındaki ön işlemler ve denemesi yapılan tüm temel bileşen sayılarında kurulan PCA modelleri ile grupların birbirinden ayrılmadığı görülmüştür. Boşluk segment türevi (mesafe: 5, genişlik: 5, değişken sayısı birimi cinsinden) ön işlemi tek PCA modelinde 5 farklı grubun birbirinden düzgün şekilde ayrılmasında en iyi performansı gösteren ön işlem olmuştur. Geliştirilen PCA modeline ait skor değerleri Şekil 4.23'de grafiğe geçirilmiştir.



Şekil 4.23. Saf örnekler ile karışımlara ait temel bileşen skor grafiği

Antep fıstığı, bezelye, ıspanak ve tağış edilmiş karışımlar arasındaki sınıflandırma, bütün NIR spektral aralığı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCA modelinin kurulumunda 2 temel bileşen kullanılırken, ilk temel bileşen toplam varyansın % 96.72'sini, ikinci temel bileşen ise % 98.99'unu ifade etmektedir. PCA skor grafiği, saf antep fıstığı, bezelye ve ıspanak örnekleri arasında büyük bir mesafe olduğunu ve farklı 2 tür karışımın da bu saf örnekler arasında belirgin bir şekilde yerleştiğini göstermektedir.

Bezelye ve ıspanak ile tağış edilmiş antep fıstığı örneklerindeki tağış miktarının kantitatif analizi, geliştirilen 2 farklı PLS modeli ile gerçekleştirilmiştir. PLS metodu

ile spektral verinin tağşış oranı ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır. İlk aşamada saf ve tağşış yapılmış örneklere ait spektrumlar, örneklerin içerdęi bezelye ve ıspanak oranları % 0'dan % 100'e doğru olacak şekilde sıralanmıştır. Sonrasında minimumdan maksimum tağşış oranına doğru her 3 spektrumdan biri seçilmiş ve validasyon veri setine dahil edilmiştir. Geri kalan spektrumlar ise kalibrasyon veri setini oluşturmuş ve her iki tağşış türü için PLS modelleri kurulmuştur.

Geliştirilmiş tüm modellerin performanslarını karşılaştırmak ve tahmin yeteneklerinin değerlendirilmesi amacıyla RMSEC, RMSECV, RMSEP değerleriyle birlikte kalibrasyon ve validasyon modellerinin belirtme katsayıları, LOD ve LOQ değerleri kullanılmıştır. RMSEC değeri, kalibrasyon modelindeki hatanın değerlendirilmesi ve gerçek ile tahmin edilen değerler arasındaki ortalama farkın ölçülmesini sağlarken, RMSEP ve RMSECV değeri ile validasyon veri setinin sahip olduğu regresyon eğrisinin kalitesinin değerlendirilmesi ve gelecek olan yeni örneklerdeki kalibrasyon modelinin başarısının incelenmesi gerçekleştirilmektedir [50, 76]. Cuadrado ve ark. regresyon yönteminin başarısının gerçek ve tahmin edilen değerlerin birbirine olan yakınlığı ile belirlendiğini bildirmiştir [85]. Shenk ve ark. 'nın yayınlarında kalibrasyon ve validasyon sonuçlarının karşılaştırılmasında belirleme katsayısı değerlerinin (R^2) uygun bir değerlendirme yöntemi olduğunu bildirmektedir [86].

Yüksek tahmin edebilme kabiliyetine sahip bir kalibrasyon modeli kurulabilmesi amacıyla düşük RMSEC, RMSECV ve RMSEP değerleriyle birlikte yüksek belirleme katsayısına (R^2) sahip en iyi gizli değişken sayısına sahip PLS modelinin seçilmesi gerekmektedir. Bu değerlerle birlikte kalibrasyon modelinin validasyon veri seti üzerindeki tespit ve tayin limitlerinin de belirlenip diğer tüm katsayılarla birlikte değerlendirilme yapılması gerekmektedir. Çalışmada bu LOD ve LOQ değerleri Gondal ve ark. tarafından yayınlanan formüllere göre hesaplanmıştır [87].

7 farklı ön işleme bezelye ve ıspanakla tağşış amaçlı kurulmuş PLS modellerinin en düşük RMSEC, RMSECV ve RMSEP değerleriyle ve en yüksek kalibrasyon ve validasyon belirtme katsayılarının olduğu ait veriler Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Modellerinin seçilmesinin ardından validasyon veri setine ait LOD ve LOQ değerleri de hesaplanıp bu çizelgeye eklenmiştir.

Çizelge 4.1 Antep fıstığı tağışının belirlenmesi amacıyla farklı ön işlemlerle kurulan PLS kalibrasyon ve validasyon modellerine ait istatistiksel veriler

Tağış Türü								
Bezelye	TBS	RMSEC	RMSECV	RMSEP	R ² Kal.	R ² Val.	LOD %	LOQ %
1.türev	5	6.229	7.747	5.234	0.997	0.994	3.29	16.42
2.türev	4	7.425	8.517	6.445	0.992	0.993	2.41	12.04
PRZ	5	7.894	9.856	5.817	0.995	0.998	2.10	10.49
DTND	4	7.888	9.059	6.359	0.995	0.998	2.67	13.37
SND	3	8.478	9.179	7.361	0.986	0.997	1.15	5.74
BST	6	5.670	6.858	5.459	0.997	0.997	7.23	36.13
ÇSD	3	8.488	9.185	7.399	0.992	0.995	1.05	5.27
Ispanak	TBS	RMSEC	RMSECV	RMSEP	R ² Kal.	R ² Val.	LOD	LOQ
1.türev	7	7.063	8.936	8.221	0.990	0.981	4.55	22.76
2.türev	11	5.175	8.727	5.324	0.998	0.991	0.19	0.95
PRZ	9	7.774	9.407	7.638	0.991	0.976	0.57	2.85
DTND	10	5.581	8.465	5.708	0.997	0.989	3.32	16.61
SND	5	7.062	8.011	6.943	0.993	0.984	1.20	6.01
BST	8	7.246	9.269	7.027	0.993	0.986	2.08	10.4
ÇSD	11	6.669	11.536	6.703	0.994	0.994	5.01	25.05

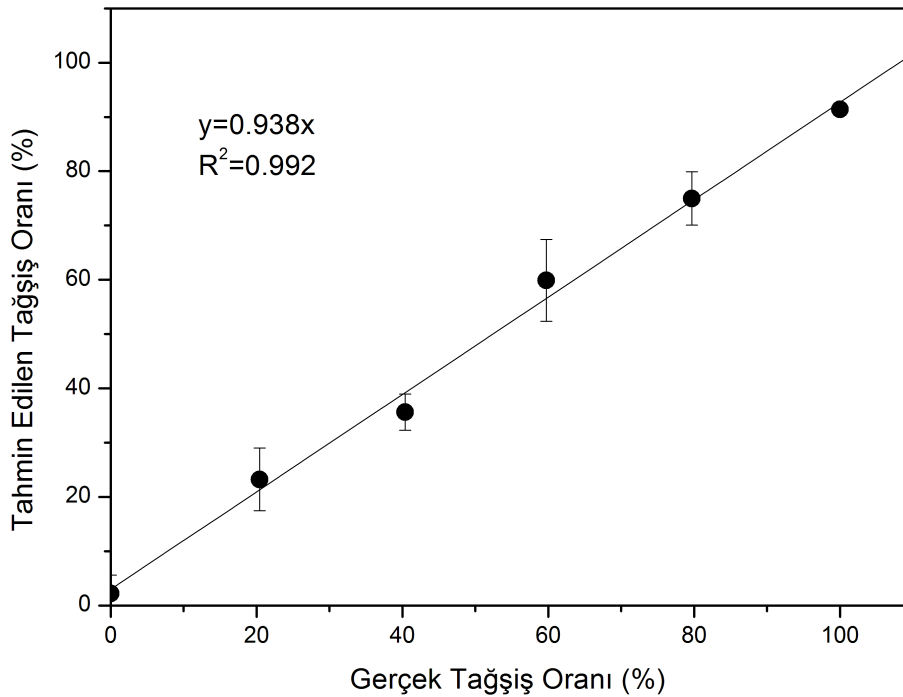
PRZ: Pürüzsüzleştirme, DTND: De-trend, SND: Standart Normal Değişken, BST: Boşluk-Segment Türev, ÇSD: Çoğaltıcı Saçılma Düzeltme

Antep fıstığının bezelye ile tağışının belirlenmesi amacıyla kurulan modellere bakıldığında farklı ön işlemlerin farklı performanslara sahip olduğu görülebilmektedir. 3 ile 6 temel bileşen sayısına sahip modellerin farklı ön işlemlerde en uygun modeli oluşturduğu ve tüm modellerin kalibrasyon ve validasyon belirtme katsayılarının 0.992'nin üzerinde olduğu görülmektedir. RMSEC, RMSECV ve RMSEP değerlerine bakıldığında tüm ön işlemlerde büyük bir dalgalanmanın görülmediği ve kurulan modellerin performanslarının birbirine

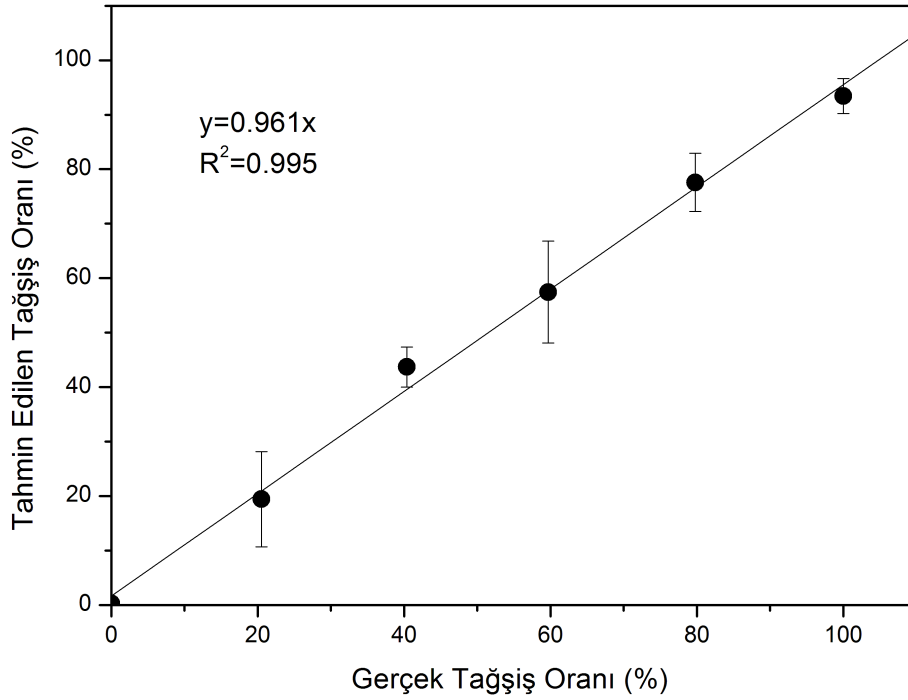
yakın olduğu söylenebilmektedir. Ancak validasyon veri setine ait LOD ve LOQ değerleri birbirinden çok farklı sonuçlar vermektedir.

Ön işlemler arasında en düşük RMSECV ve RMSEP değerine sahip 1. türev ön işlemiyle kurulan model, % 3.29 ve % 16.42 gibi yüksek LOD ve LOQ değerlerine sahiptir. Bu nedenle en uygun ve performansı en yüksek modelin seçiminde LOD ve LOQ değerleri dikkate alınmış ve ÇSD ön işleminin kullanıldığı model bezelye tağışının tayini amacıyla seçilmiştir.

Kurulan model Çizelge 4.1'den de görülebileceği gibi 3 temel bileşen sayısı ile kurulmuştur. Modelin sahip olduğu RMSEC, RMSECV ve RMSEP değerleri sırasıyla 8.488, 9.185 ve 7.399 bulunmuştur. Şekil 4.24 ve şekil 4.25'de kurulan modele ait 0.992 ve 0.995 R^2 değerlerine sahip kalibrasyon ve validasyon grafikleri gösterilmiştir.



Şekil 4.24. Bezelye ile yapılan tağışın belirlenmesi için kurulan kalibrasyon modelinde tahmin edilen tağış oranlarına karşı gerçek tağış oranı değerlerinin karşılaştırılması

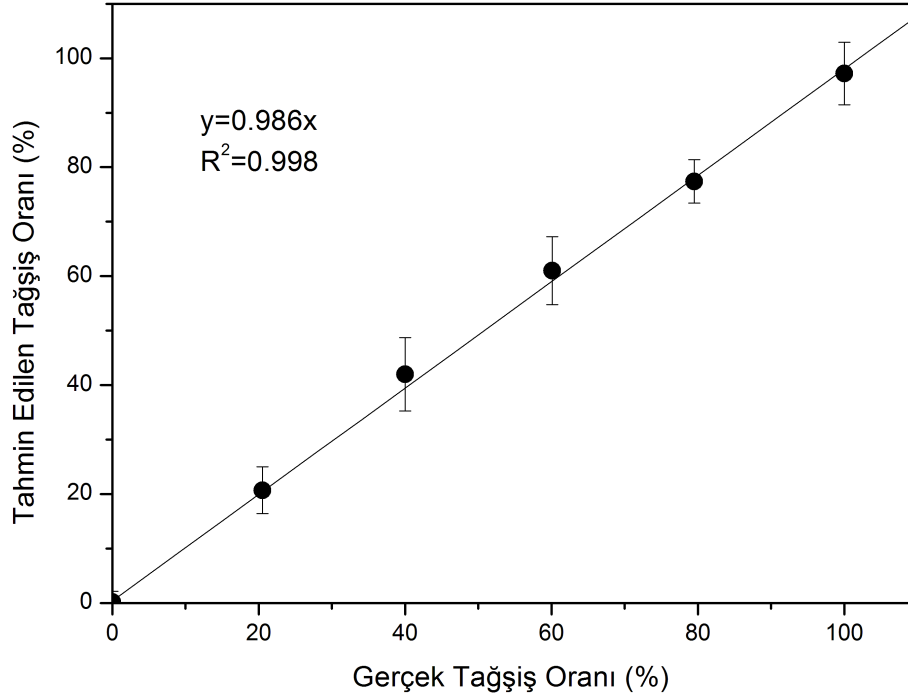


Şekil 4.25. Bezelye ile yapılan tağışın belirlenmesi için kurulan validasyon modelinde tahmin edilen tağış oranlarına karşı gerçek tağış oranı değerlerinin karşılaştırılması

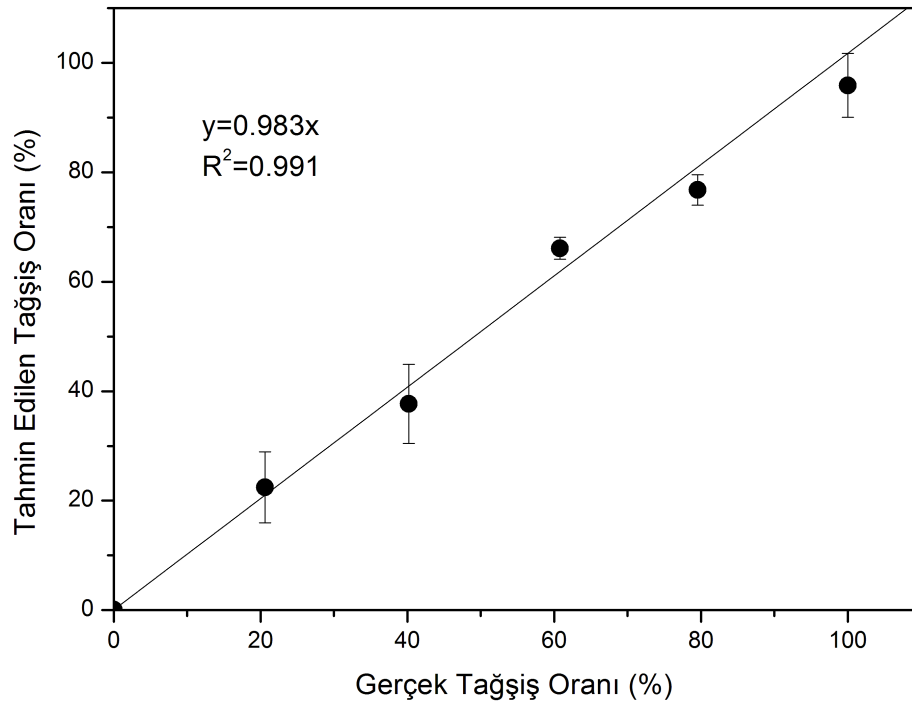
Antep fıstığının ıspanak örnekleriyle yapılan tağışının belirlenmesi için farklı ön işlemlerle kurulan modellere bakıldığında performansı en yüksek bulunan modellerin 5 ile 11 arasında temel bileşen sayısına sahip olduğu söylenebilmektedir. RMSEC, RMSECV ve RMSEP değerleri arasında çok büyük bir fark olmadığı, kalibrasyon ve validasyon R^2 değerlerinde de yüksek sonuçlar aldığı görülmektedir. Bezelye tağışının belirlenmesinde olduğu gibi antep fıstığının ıspanak ile tağışının belirlenmesi için kurulan model LOD ve LOQ değerlerine bakılarak 2. türev ön işlemiyle kurulan model seçilmiştir.

Antep fıstığının ıspanak ile tağışının belirlenmesi amacıyla kurulan bu PLS modelinde temel bileşen sayısı 11 gibi yüksek bir değerde olmasına rağmen RMSEC (5.175) ve RMSEP (5.324) değerleri diğer ön işlemlerle kurulan modeller arasında en düşük değerler olmuş, RMSECV değeri ise en düşük değerlerden biri olarak ön plana çıkmıştır. Belirtme katsayıları ise kalibrasyon ve validasyon için sırasıyla 0.998 ve 0.991 çıkmış ve grafikleri Şekil 4.26 ve Şekil 4.27’de

gösterilmiştir. Modele ait LOD ve LOQ değerleri ise % 0.19 ve % 0.95 gibi çok düşük değerler olarak bulunmuştur.



Şekil 4.26. Ispanak ile yapılan taşıyıcının belirlenmesi için kurulan kalibrasyon modelinde tahmin edilen taşıyıcı oranlarına karşı gerçek taşıyıcı oranı değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.27. Ispanak ile yapılan taşıyıcının belirlenmesi için kurulan validasyon modelinde tahmin edilen taşıyıcı oranlarına karşı gerçek taşıyıcı oranı değerlerinin karşılaştırılması

4.2.1.3. Sonuç ve Tartışma

Bu çalışma, kemometrik yöntemlerle birlikte çalıştırılan NIR reflektans spektroskopisinin, bezelye ve ıspanakla yapılan antep fıstığı tağışışının belirlenmesinde hızlı ve tahribatsız bir analiz yöntemi olduğunu göstermektedir. Boşluk-segment türevinin tüm spektral bölgede ön işlem olarak kullanılmasıyla geliştirilen PCA modeli, antep fıstığı, bezelye, ıspanak ve bunların ikili karışımlarını tek modelde sınıflandırmada önemli ölçüde başarılı olmuştur.

Geliştirilen farklı ön işlemler ile kurulan regresyon modellerine ait sonuçlara bakıldığında, PLS modellerinin tahmin edebilme kabiliyetleri her iki tağışış türü için tatmin edici değerlerde bulunduğu görülmüştür. Antep fıstığı yerine bezelye ve ıspanak kullanılması üreticiye kar getirmesi amacıyla yapılan bir tağışış türüdür. Bu nedenle tağışış oranı geliştirilen modellere ait LOD ve LOQ değerlerinden daha yüksek olmalıdır. Elde edilen bu kalite parametrelerine göre, tez kapsamında geliştirilen NIR sistemiyle birlikte çalıştırılan kemometrik metotların her iki tağışış türü için düşük oranlardaki tağışış oranının belirlenmesinde yeterli ve başarılı olduğunu göstermektedir.

NIR reflektans spektroskopisi ile antep fıstığının tağışışının tahribatsız ve hızlı bir şekilde nitel ve nicel analizinin gıda güvenliğinin orjinalliği ve özgünlüğü hakkında başarılı sonuçlar veren bir metot olduğu gerçekleştirilen bu çalışma ile gösterilmiştir.

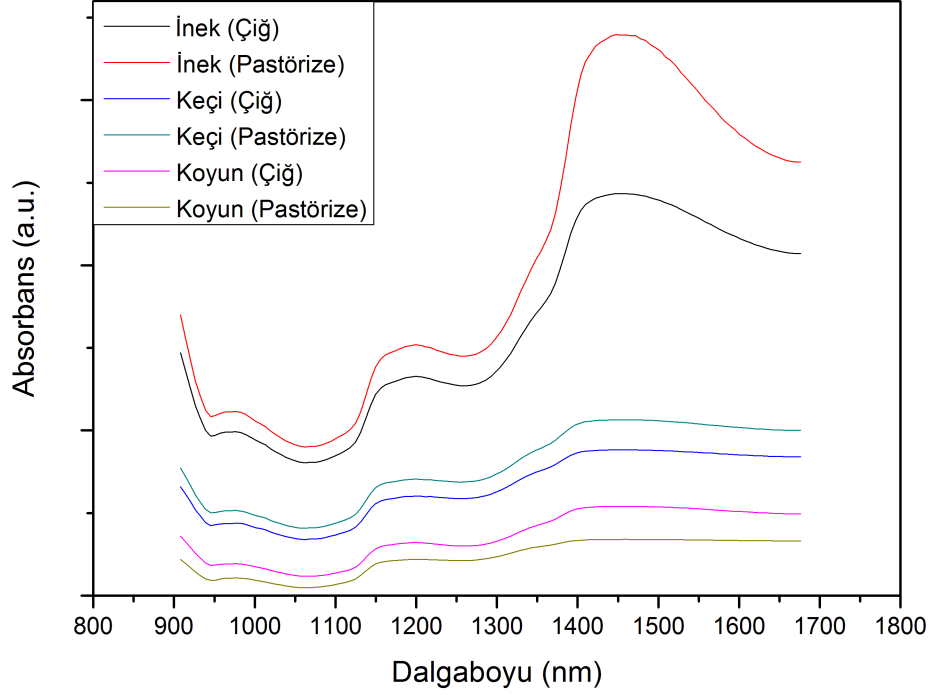
4.2.2. NIR Reflektans Spektroskopisi Kullanılarak Koyun, Keçi ve İnek Sütleri ile Karışımlarının Tanımlanması ve Sütlere Isıl İşlem Uygulanıp Uygulanmadığının Belirlenmesi

4.2.2.1. Örneklerin Spektrum Analizi

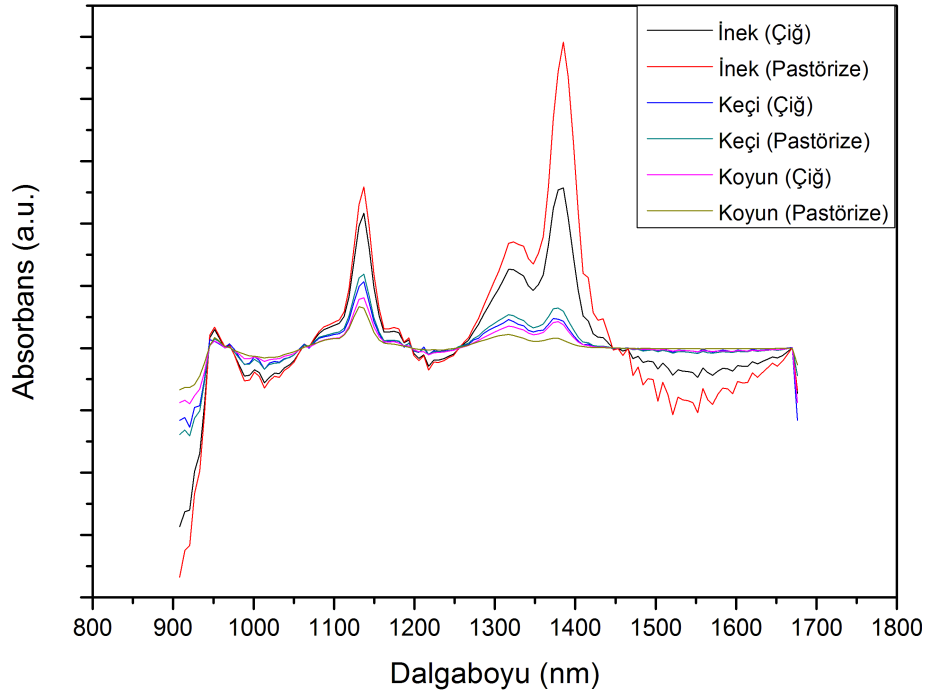
Süt örnekleri saf örnekler ile bu saf örneklerin ikili ve üçlü karışımları olarak analiz edilmiştir. Her bir örnekten 1'er ml alınmış ve NIR spektrumları tez kapsamında geliştirilmiş NIR spektrometresi ile reflektans modunda elde edilmiştir. Şekil 4.28'de çiğ ve pastörize saf süt örneklerinin NIR spektrumları ile Şekil 4.29'da aynı spektrumların 1. türev uygulanmış hali gösterilmektedir.

Süt spektrumlarına bakıldığında 970 ve 1450 nm'de O-H bağının birinci ve ikinci overton titreşimlerinin karakteristik bantları gözlemlenmektedir. 1195 nm ve 1210 nm'nin etrafındaki bantlarda yağ asidi ve yağ bileşimiyle ilgili maddelerle

ilişkilendirilebilecek C-H bağlarının farklı birçok ikinci overton titreşim bantları bulunmaktadır [88, 89]. Spektrumun 1333.3 ile 1428.6 nm arasındaki bölgesi genel olarak O-H, N-H ile C-H kombinasyon bantlarının birinci overtonlarından oluşmaktadır [90]. 1726 ve 1760 nm’de gözlemlenen bantlar, C-H germe titreşim bandıyla ilişkilendirilmektedir [40].



Şekil 4.28. Çiğ ve pastörize saf süt örneklerinin NIR reflektans spektrumları



Şekil 4.29. Çiğ ve pastörize saf süt örneklerinin 1.türev sonrası NIR spektrumları

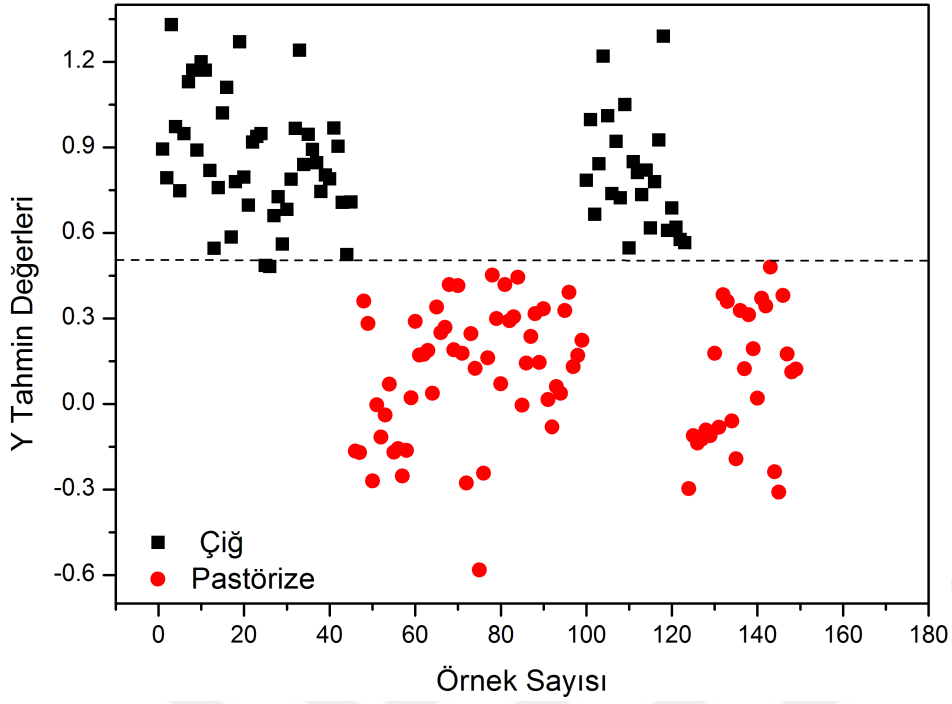
Kalitatif düzeyde spektrumlar incelendiğinde tüm spektrumların birbirine büyük oranda benzediği, özellikle inek ve keçi sütünde benzerliğin yüksek olduğu gözlemlenmektedir. Koyun sütünde ise az miktarda kantitatif farklılıklar gözlemlenmiştir. Ancak bu spektrumlardaki farklılıkların matematiksel olarak işlenmeden ayrılması ve sınıflandırılması mümkün değildir. Bu nedenle farklı süt ve süt karışımlarına ait spektrumlar kemometrik yöntemler aracılığıyla ayrılmaya çalışılmış ve PLS-DA yöntemi yardımıyla başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

PLS-DA metodu, geliştirilen NIR sistemiyle 908.1'den 1676.2 nm'ye kadar olan NIR bölgesindeki tüm spektrumun üzerinde uygulanmıştır. Çalışmadaki amaç spektral çeşitlenmeleri kullanarak öncelikle süte uygulanan ısı işlem olup olmadığını belirlemek ve ardından sütlerin hayvansal orjinini tayin etmektir.

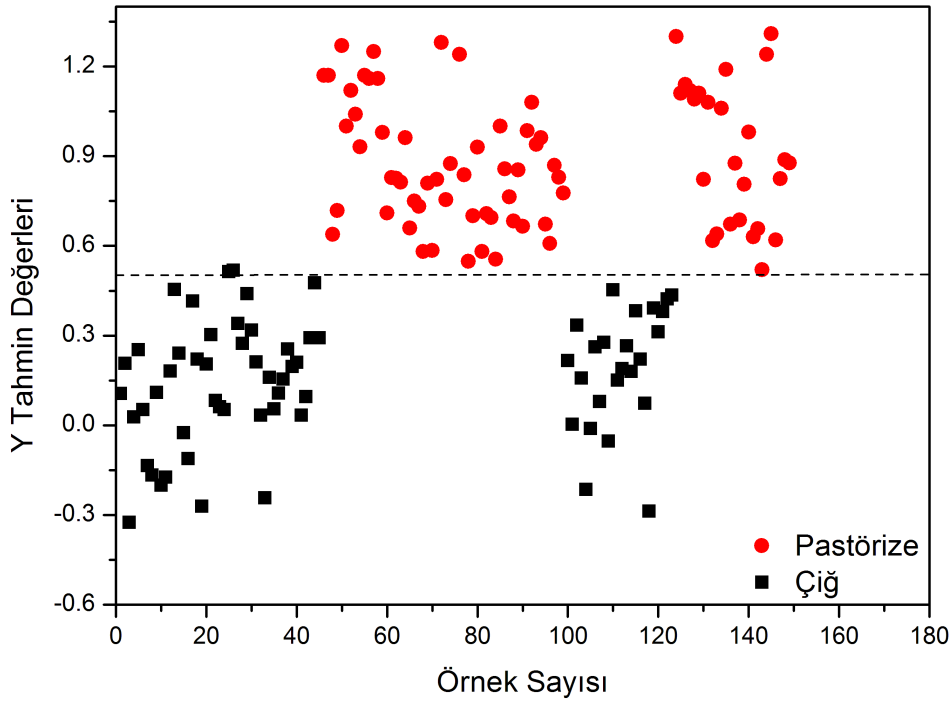
4.2.2.2. Sütlerle Uygulanan Isıl İşlemin Belirlenmesi

Üreticiye gelen süt örneğinin öncelikle ısı işlemine tabi tutulup tutulmadığını belirlemek için laboratuvar ortamında ısı işlem uygulanan süt örnekleriyle çiğ süt örneklerine ait NIR spektrumları ile çalışılmıştır. 50 adet çiğ ve 50 adet pastörize süt örneğine ait spektrumlar PLS-DA modelinin kalibrasyon aşamasında kullanılırken 25 adet çiğ ve 25 adet pastörize süt spektrumları da validasyon aşamasında kullanılmıştır.

Model kurulmadan önce ortalama merkezleştirme (mean center), Savitzky-Golay algoritmasıyla 1. ve 2. türev, otomatik ölçeklendirme ön işlemleri tek başına ya da ikili şekilde spektrumlara uygulanmış ve en uygun ayrımın gözlemlendiği model otomatik ölçeklendirme ön işleminin tek başına spektrumlara uygulanmasıyla bulunmuştur. Şekil 4.30 ve Şekil 4.31'de çiğ ile pastörize süt örneklerinin birbirinden net şekilde ayrıldığı gösterilmektedir.



Şekil 4.30. Çiğ süt örneklerinin pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği



Şekil 4.31. Pastörize süt örneklerinin çiğ süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

Elde edilen model, 9 gizli değişken kullanılarak kurulmuştur. PLS-DA modeli kurulumu esnasında ayrımı yapılmak istenilen grup sayısı kadar sınıf belirlendiği için o kadar sayıda grafik ve alt model oluşmaktadır. Eşik değer çizgisinin üzerinde sol tarafta bulunan noktalar, o grubun kalibrasyon veri setine ait y tahmin değerlerini oluştururken sağ tarafındaki noktalar ise validasyon veri setinin y tahmin değerlerinden oluşmaktadır. Aynı durum ayrılmak istenilen diğer grup için de geçerlidir ve eşik değerinin altında kalibrasyon ve validasyon veri setine ait y tahmin değerleri gösterilmektedir. Elde edilen y tahmin değerleri tek bir grupta da gösterilebilmektedir ancak tüm modelin kalibrasyon ve validasyon veri setinin daha ayrıntılı incelenebilmesi amacıyla örnek sayısına karşılık tüm y tahmin değerleri grafiğe geçirilerek gösterim sağlanmıştır.

Şekillerden de görülebileceği gibi geliştirilen modelin bir sütün çiğ ya da pastörize olup olmadığını ayırmada başarılı olduğu söylenebilmektedir. Çiğ süt örneklerinden kalibrasyonda kullanılan 2 adet örneğin tahmin değerleri eşik değerinin altında kalarak pastörize sütlerin grubuna geçmiştir. Ancak test örneklerine bakıldığında kurulan modelin tüm örnekleri doğru ve başarılı sınıflandırdığı görülmektedir.

Çizelge 4.2. Çiğ ve pastörize süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri

Veri Seti	DO (%)	YNO (%)	ÖO (%)	YPO (%)	VO (%)
Çiğ Süt					
Kalibrasyon	95.6	4.4	100.0	0.0	95.6
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Pastörize Süt					
Kalibrasyon	100.0	0.0	95.6	4.4	95.6
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0

DO: Duyarlılık Oranı, YNO: Yanlış Negatif Oranı, ÖO: Özgüllük Oranı, YPO: Yanlış Pozitif Oranı, VO: Verim Oranı

Modelin kalibrasyon ve validasyon verileri için tahmin edilen başarımlar ölçüsü değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Kalibrasyon veri seti için çiğ ve pastörize sütlere ait duyarlılık oranlarının sırasıyla % 95.6 ve 100 bulunması yüksek oranda

gerçek pozitif örneklerin bulunduğunu göstermektedir. Özgüllük oranının ise sırasıyla % 100 ve 95.6 bulunması da yanlış pozitif örneklerin miktarının çok düşük olduğunu göstermektedir.

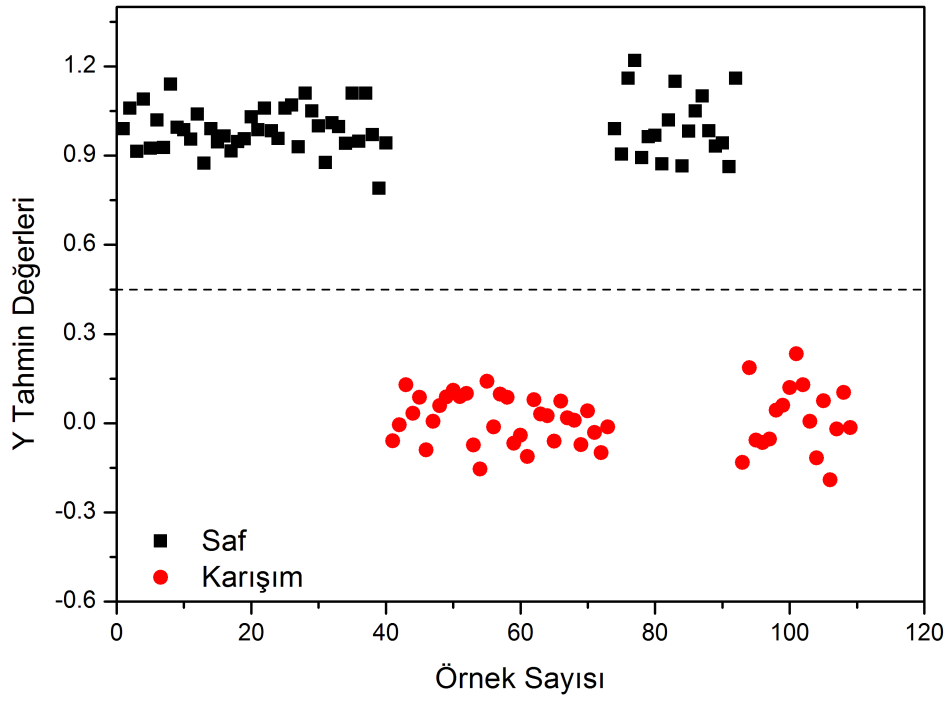
Validasyon veri setinin de verilerine bakıldığında duyarlılık oranı sırasıyla % 100 ve 95.6, özgüllük oranı % 100 ve 100 bulunmuştur. Bu verilerin sonucunda bir diğer başarımlık ölçüsü olan verim oranı ise her iki tür süt için kalibrasyon verilerinde % 95.6, validasyon verilerinde % 100 olarak hesaplanmıştır. Grafiklere ve tabloda bulunan verilere göre kurulan PLS-DA modelinin saf ve karışım halinde bulunan sütlerin pastörize edilip edilmediğinin başarılı şekilde ayrıldığı görülmektedir.

Bu aşamadan sonra çiğ ve pastörize süt örneklerinin ayrımı iki grupta incelenmiştir. Çiğ sütlerin ayrımı amacıyla kurulan ilk modelde saf ve karışımlar birbirinden ayrılmış, ardından saf ve karışım halindeki sütler iki ayrı modelle sınıflandırılmaya çalışılmıştır. Pastörize edilmiş sütlerin ayrımı için ise tek bir model kurularak 3 farklı saf süt türü ile 4 farklı karışımın birbirinden ayrımı başarıyla gerçekleştirilmiştir.

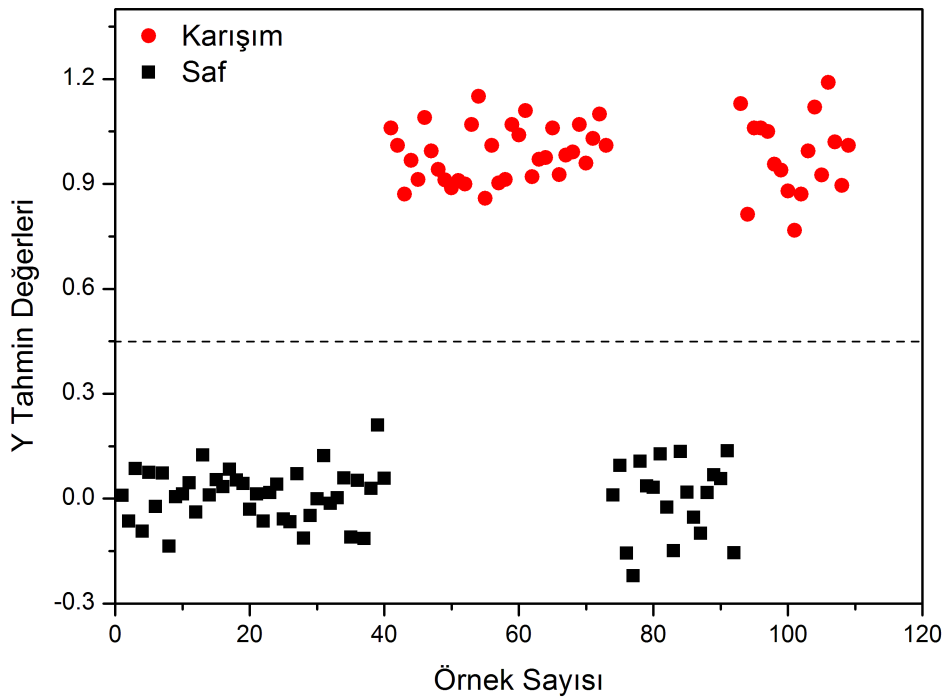
4.2.2.3. Saf ve Karışım Halde Bulunan Çiğ Sütlerin Birbirinden Ayrılması

Saf çiğ süt türlerinin her biri için 12'şer adet süt örneğine ait NIR spektrumu ile karışımlardan koyun-keçi, koyun-inek, keçi-inek ve 3'lü karışım olan koyun-keçi-inek karışımlarından 8'er adet spektrum kalibrasyon aşamasında kullanılmıştır. Validasyon amacıyla saf çiğ örneklerinin her birinden 6'şar adet kullanılırken, karışımlardan alınan örnek spektrum sayısı her bir grup için 4 adet olmuştur. Örneklerin kalibrasyon ve validasyon veri setine dağılımı her üç örnekten birinin validasyona, ikisinin de kalibrasyona seçilmesiyle yapılmıştır.

Model kurulumuna geçilmeden önce yapılan ön işlem uygulamasında, ısıl işlem tayini aşamasında kullanılan ön işlemlere ek olarak genelleştirilmiş en küçük kareler ağırlıklandırması (GEKA; Generalized Least Squares Weighting) yöntemi denenmiş ve en uygun sınıflandırmanın bu GEKA (alfa değeri: 0.015) ön işlemiyle yapıldığı belirlenmiştir. Şekil 4.32 ve Şekil 4.33'de çiğ saf örnekler ile karışımların birbirinden ayrıldığı gösterilmektedir.



Şekil 4.32. Çiğ saf süt örneklerinin çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği



Şekil 4.33. Çiğ karışım süt örneklerinin çiğ saf süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

Kurulan PLS-DA modeli 2 gizli değişken ile kurulmuş ve hem kalibrasyon örneklerinin hem de validasyon örneklerinin net bir şekilde ayrımını sağlamıştır. Her iki gruba ait örneklerin sahip olduğu y tahmin değerleri eşik değerinden çok uzakta gruplandığı için ayrımın başarılı olduğu hem grafiklerden hem de aşağıdaki başarımlar ölçüsü verileri tablosundan (Çizelge 4.3) görülmektedir.

Geliştirilen model ile çiğ süt olduğu önceki model ile bulunan bir sütün saf ya da karışım halde olduğu başarıyla belirlenebilmektedir. Böylece ilk aşamada çiğ süte herhangi bir tağşişin yapıp yapılmadığı, tağşişin türü bilinmeden söylenebilmektedir. Tağşişin türünün belirlenmesi için ise ayrı bir çalışma yapılmış ve geliştirilen diğer modellerle sütün hangi tür karışımda olduğu belirlenebilmiştir.

Çizelge 4.3. Saf ve karışım halde bulunan çiğ süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri

Veri Seti	DO (%)	YNO (%)	ÖO (%)	YPO (%)	VO (%)
Saf Süt					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Karışım Süt					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0

DO: Duyarlılık Oranı, YNO: Yanlış Negatif Oranı, ÖO: Özgüllük Oranı, YPO: Yanlış Pozitif Oranı, VO: Verim Oranı

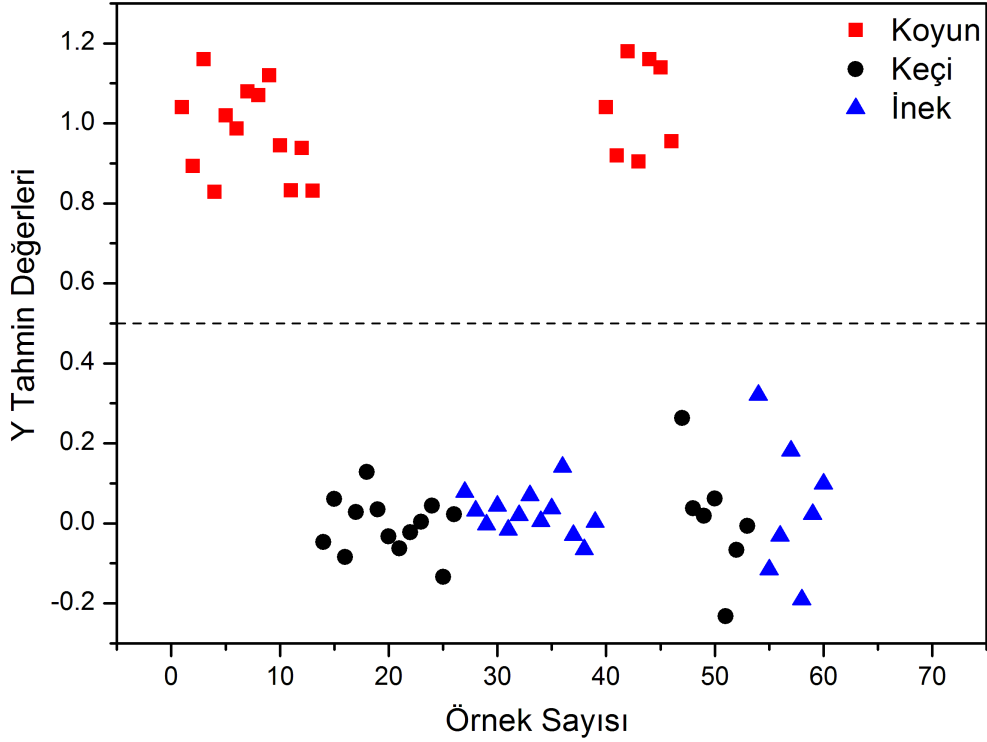
Saf ve karışımların ayrılması amacıyla kurulan modelden önce yapılan çalışmalarla saf ve karışım haldeki tüm grupların tek bir model ile ayrımı amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmiş ancak kurulan modellerin başarılı olmadığı anlaşılmıştır. Bu nedenle bir sonraki aşamada saf ve karışımların ayrı iki modelde belirlenmesi için çalışılmıştır.

4.2.2.4. Saf Çiğ Süt Örneklerinin Birbirinden Ayrılması

Saf ve karışımların ayrımında kullanılan koyun, keçi ve inek sütlerinin spektrumları, başka bir modelde kendi aralarında sınıflandırma yapmak için

kullanılmıştır. Kalibrasyon veri seti için 12'şer spektrum, validasyon seti için 6'şar spektrum her bir süt türünün sınıflandırılması amacıyla kullanılmıştır.

Model kurulumu öncesi yapılan ön işlemlerden GEKA ön işlemi (alfa değeri: 0.08) en iyi performansı veren ön işlem olarak seçilmiş ve model 3 gizli değişken kullanılmasıyla kurulmuştur. Şekil 3.13'de koyun sütünün, Şekil 3.14'de keçi sütünün ve Şekil 3.15'de inek sütünün diğer saf sütlerden başarıyla ayrıldığı gösterilmektedir.

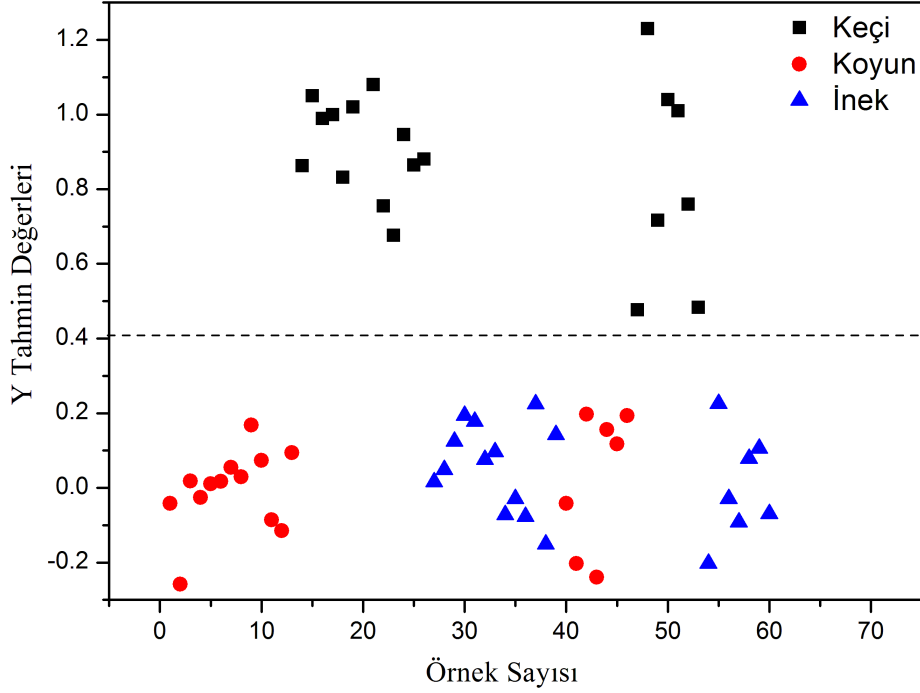


Şekil 4.34. Saf çiğ koyun sütü örneklerinin diğer çiğ saf süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

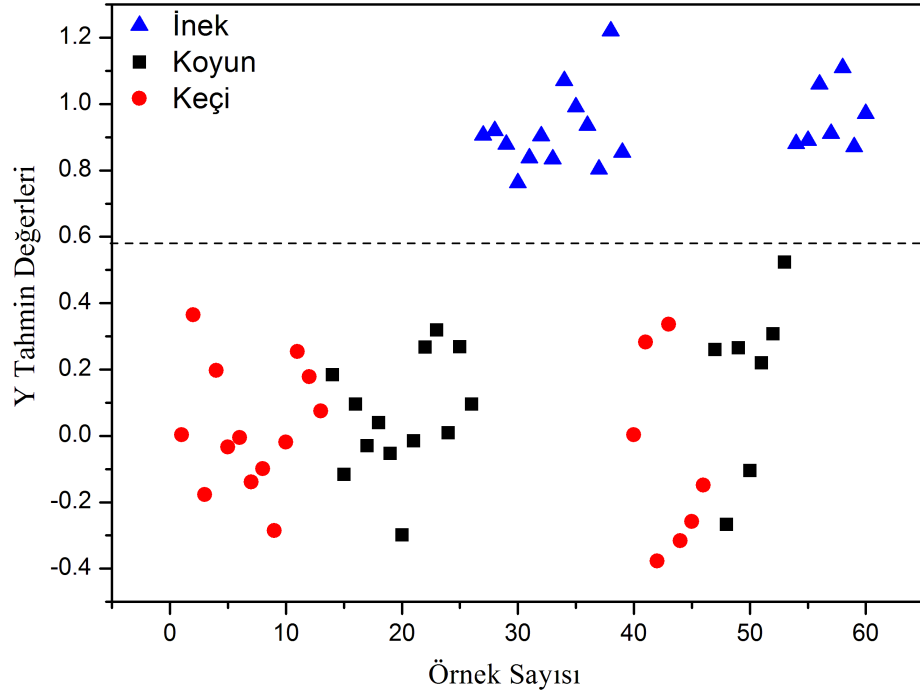
Şekil 4.34'de görüldüğü gibi koyun sütlerine ait kalibrasyon ve validasyon y tahmin değerleri eşik değerinin üzerinde, diğer tüm saf süt örneklerinin y tahmin değerleri ise eşik değerinin altında bulunmaktadır. Keçi ve inek sütlerinde validasyon veri setinde bulunan birer süt örneğinin eşik değerine yakın çıkmasına rağmen eşik değerini aşmamasından dolayı koyun örneklerinin diğer saf sütlerden başarıyla ayrıldığı görülmektedir.

Keçi sütlerine ait grafiğe bakıldığında validasyon için ayrılan örneklerden sadece ikisinin y tahmin değerleri eşik değerine yakın olarak bulunmuş ancak ayrımı etkilemediği görülmüştür (Şekil 4.35). İnek sütlerine ait Şekil 4.36'daki PLS-DA grafiğinde validasyon için kullanılan keçi örneklerinden birinin y tahmin değerinin

eşik değeriyle neredeyse aynı noktada olduğu ancak sınıflandırmayı etkilemediği gösterilmektedir.



Şekil 4.35. Saf çiğ keçi sütü örneklerinin diğer çiğ saf süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği



Şekil 4.36. Saf çiğ inek sütü örneklerinin diğer çiğ saf süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

Saf çiğ süt örneklerinin sınıflandırılmasında geliştirilen bu PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri Çizelge 4.4’de verilmiştir. Bu model ile tüm saf çiğ süt örnekleri hem kalibrasyon kurulumu aşamasında hem de kurulan modelin validasyonu aşamasında başarılı sonuçlarla sınıflandırılabilir. Bu model sonrasında karışım halde bulunan çiğ süt örneklerinin sınıflandırılması aşamasına geçilmiştir.

Çizelge 4.4. Saf çiğ süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri

Veri Seti	DO (%)	YNO (%)	ÖO (%)	YPO (%)	VO (%)
Koyun Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Keçi Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
İnek Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0

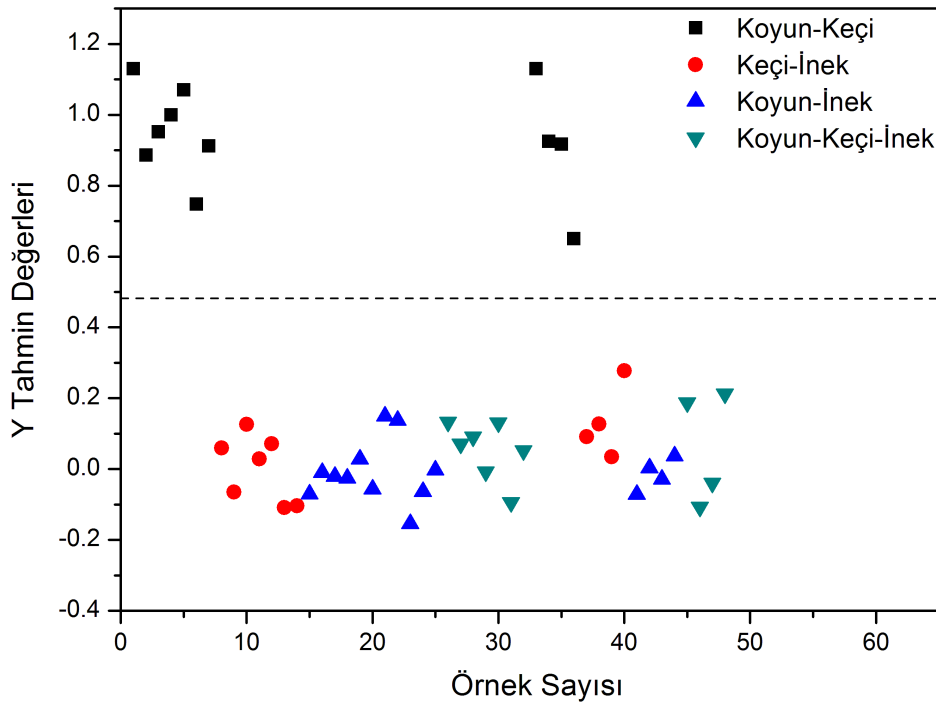
DO: Duyarlılık Oranı, YNO: Yanlış Negatif Oranı, ÖO: Özgüllük Oranı, YPO: Yanlış Pozitif Oranı, VO: Verim Oranı

4.2.2.5. Karışım Halde Bulunan Çiğ Süt Örneklerinin Sınıflandırılması

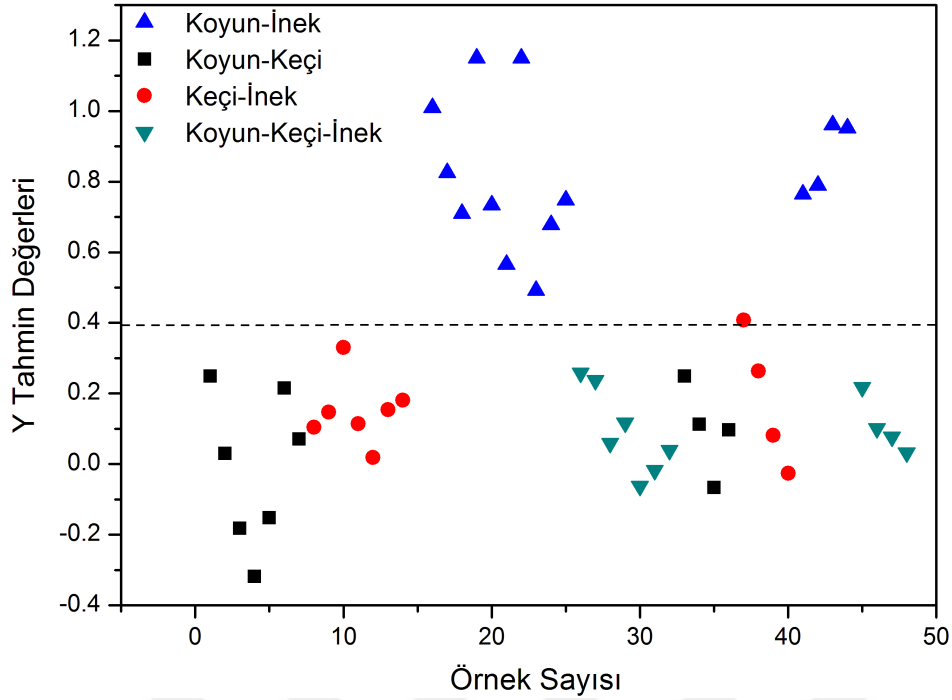
Saf halde bulunan sütlerin tür tayinlerinin yapılmasının ardından bu sütlerin belli oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen karışım çiğ süt örneklerinin belirlenmesi amacıyla PLS-DA modeli kurulmuştur. Saf halde bulunan koyun, keçi ve inek sütleri ile hazırlanan koyun-inek, koyun-keçi, keçi-inek ve koyun-keçi-inek karışımlarından 7’şer adet alınarak kalibrasyon veri seti oluşturulmuştur. Validasyon veri seti için ise 4’er adet spektrum kullanılmıştır. Önceki çalışmada olduğu gibi veri setleri her üç spektrumdan birinin validasyona, ikisinin de kalibrasyona seçilmesiyle oluşturulmuştur.

Model kurulumu öncesinde önceki çalışmalarda bahsedilen ön işlemler denenmiş ve en uygun ön işlemin GEKA (alfa değeri: 0.07)'nin kullanılmasıyla elde edildiği görülmüştür. 3 gizli değişken kullanılarak kurulan model ile karışım halde bulunan 4 grubun başarıyla ayrıldığı görülmüştür.

Koyun ve keçi sütlerinin 1:1 hacimsel oranda karıştırılmasıyla elde edilen örneklerin diğer karışımlardan ayrılması amacıyla elde edilen PLS-DA grafiği Şekil 3.16'da gösterilmektedir. Hem kalibrasyon hem de validasyon örneklerinin diğer karışımlardan başarıyla ayrıldığı eşik değerinin üzerinde başka bir örneğe ait y tahmin değerinin bulunmamasından anlaşılmaktadır. Koyun-keçi örneklerine ait başarımlar ölçüsü verileri Çizelge 4.5'de verilmiştir.



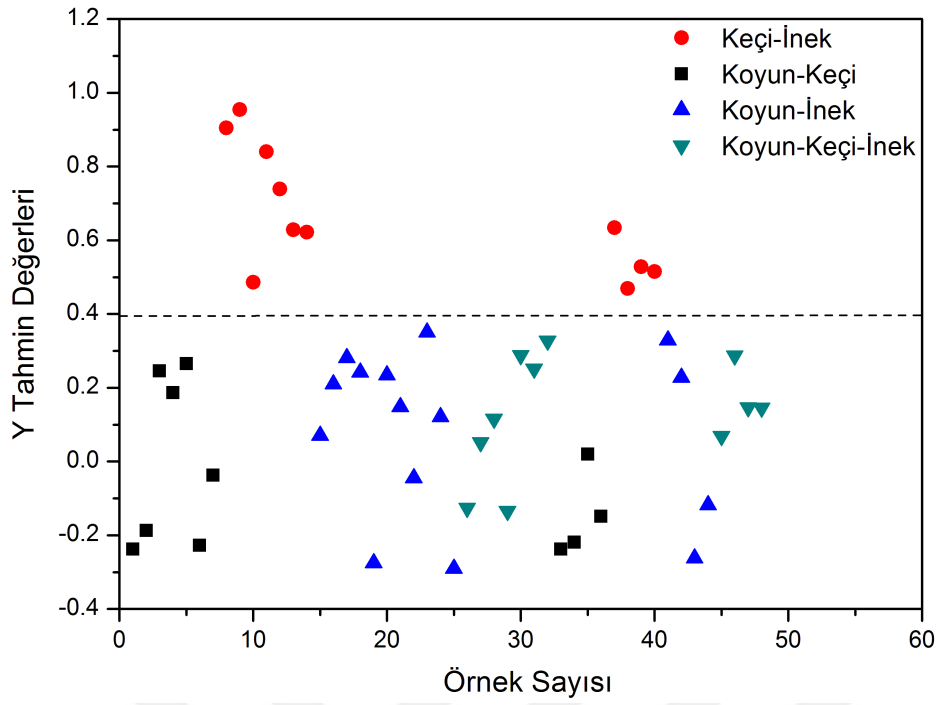
Şekil 4.37. Çiğ koyun-keçi sütü örneklerinin diğer çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği



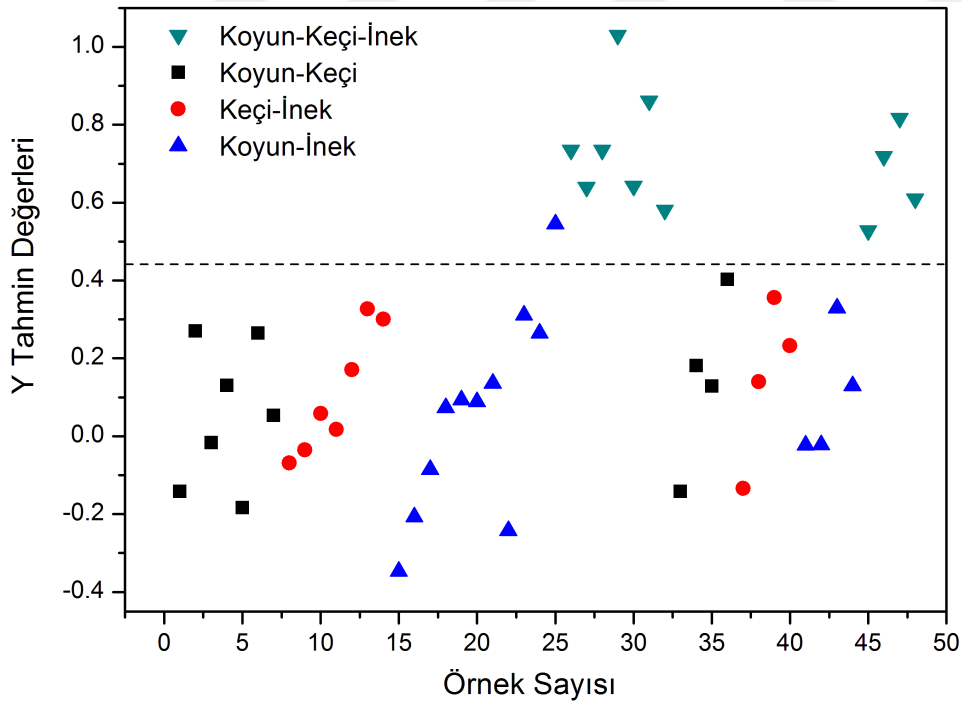
Şekil 4.38. Çiğ koyun-inek sütü örneklerinin diğer çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

1:1 hacimsel oranda karıştırılmış koyun-inek sütü örneklerinin ayrımı için elde edilmiş PLS-DA grafiği Şekil 4.38’de gösterilmektedir. Kalibrasyon ve validasyonda kullanılan sütlerle ait y tahmin değerleri eşik değerinin üzerinde olmasına rağmen keçi-inek karışımlarından elde edilen 1 örnek eşik değerinin üzerinde çıkmış ve koyun-inek karışımı gibi davranmıştır. Bu hatalı örnek, modelin özgüllüğünü gösteren doğru negatif oranı değerini % 91.7’ye düşürerek modelin başarısını olumsuz yönde bir miktar etkilemiştir.

Bu hatalı örneğin koyun-inek sütü sınıfında çıkmasının, örnekte kullanılan koyun sütünün fiziksel ve kimyasal kompozisyonunun keçi sütlerine benzer olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ancak Çizelge 4.5’deki başarımlar ölçüsü verilerine de bakıldığında genel olarak kurulan modelin koyun-inek karışımlarını diğer karışım haldeki sütlerden ayırabildiği söylenebilmektedir.



Şekil 4.39. Çiğ keçi-inek süt örneklerinin diğer çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği



Şekil 4.40. Çiğ koyun-keçi-inek 3'lü karışım süt örneklerinin diğer çiğ karışım süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

İkili karışımların sonuncusu olan keçi-inek karışımlarının sınıflandırılmasına ait PLS-DA grafiği Şekil 4.39'de gösterilmektedir. Şekilden de görülebileceği gibi kalibrasyon veya validasyon veri setinde kullanılan süt örneklerine başka bir süt karışımı girişim yapmamaktadır. Modelin başarıyla keçi-inek sütlerini sınıflandırabildiği Çizelge 4.5'deki başarımlar ölçüsü verilerinden görülebilmektedir. 1:1:1 hacimsel oranla karıştırılarak elde edilen 3'lü süt örneklerine ait spektrumlar PLS-DA ile işlenerek yukarıdaki grafik elde edilmiştir. Şekil 4.40'da görüldüğü gibi kalibrasyon için kullanılan 3'lü karışım y tahmin değerlerine 1 adet koyun-inek karışım örneği karışmış ve özgüllük oranını % 96'ya düşürmüştür. Bununla birlikte validasyon örneklerinden koyun-keçi karışımından 1 örneğin eşik değerine çok yakın bir değere sahip olduğu görülmektedir. Grafiğe bakılarak koyun sütlerinin, 3'lü karışımlara ait y tahmin değerlerini en fazla etkileyen süt türü olduğu söylenebilir. Ancak modelin 3'lü karışımları başarıyla diğer karışımlardan ayırdığı görülmektedir. Modele ait başarımlar ölçüsü değerleri Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Karışım halde bulunan çiğ süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri

Veri Seti	DO (%)	YNO (%)	ÖO (%)	YPO (%)	VO (%)
Koyun-Keçi Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Koyun-İnek Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	91.7	8.3	91.7
Keçi-İnek Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Koyun-Keçi İnek Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	96.0	4.0	96.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0

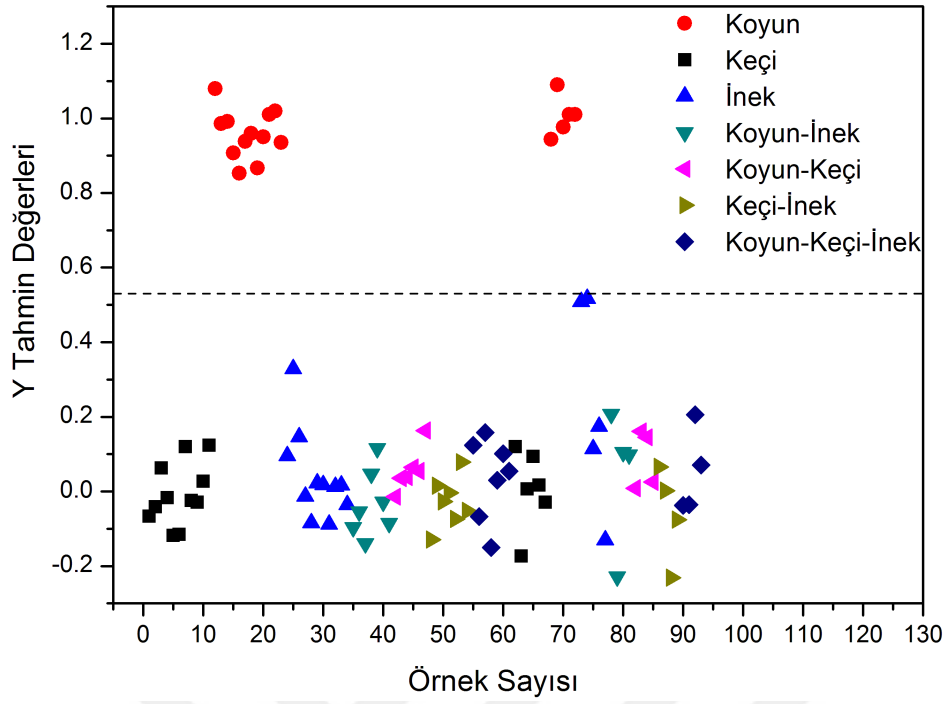
DO: Duyarlılık Oranı, YNO: Yanlış Negatif Oranı, ÖO: Özgüllük Oranı, YPO: Yanlış Pozitif Oranı, VO: Verim Oranı

4.2.2.6. Pastörize Saf Ve Karışım Süt Örneklerinin Birbirinden Ayrılması

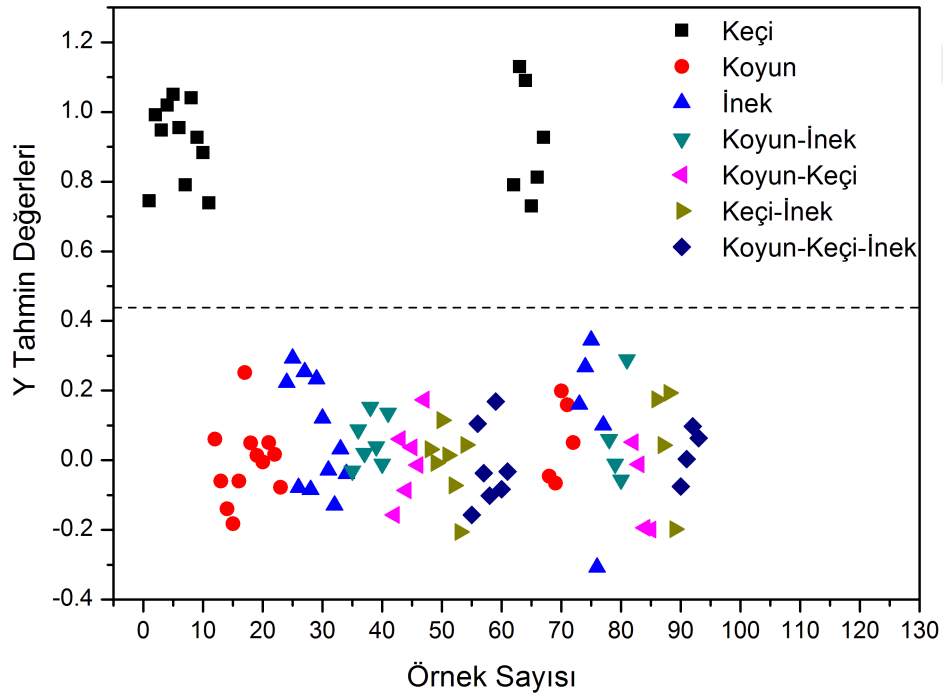
Pastörize süt örneklerinin birbirinden ayrılması için yapılan çalışmalar sonucunda tek bir model ile 3 farklı saf süt türü ile 4 farklı karışım gruplarının birbirinden ayrılması başarıyla gerçekleştirilmiştir. Saf pastörize süt türlerinin her biri için 12'şer adet spektrum ile ikili ve 3'lü karışımlardan 7'şer adet spektrum modelin kalibrasyonunda kullanılmıştır. Validasyon amacıyla saf pastörize süt örneklerinden 5'er adet, karışım örneklerinden 4'er adet spektrum kullanılmıştır. Spektrumların kalibrasyon ve validasyon veri setine dağılımı, önceki çalışmada olduğu gibi her üç örnekten birinin validasyona, ikisinin kalibrasyona yerleştirilmesiyle yapılmıştır.

Model kurulumundan önce spektrumlardan maksimum bilgiyi en uygun gizli değişken sayısı ile elde etmek amacıyla önceki çalışmada bahsedilen ön işlemler uygulanmış ve en uygun ön işlem kombinasyonunun ortalama merkezleştirme ve GEKA (alfa değeri: 0.07) ön işlemlerinin birlikte kullanılması olduğu bulunmuştur. Kurulan modelde 9 gizli değişken kullanılmıştır.

Koyun sütlerinin diğer saf ve karışım örneklerinden başarıyla ayrıldığı Şekil 4.41'de gösterilmektedir. Sadece inek sütlerinden ikisinin eşik limitine çok yakın bir yerde y tahmin değerlerine sahip olduğu, ancak kurulan modelin başarısını etkilemediği Çizelge 4.6'daki duyarlılık ve özgüllük oranlarından belli olmaktadır.

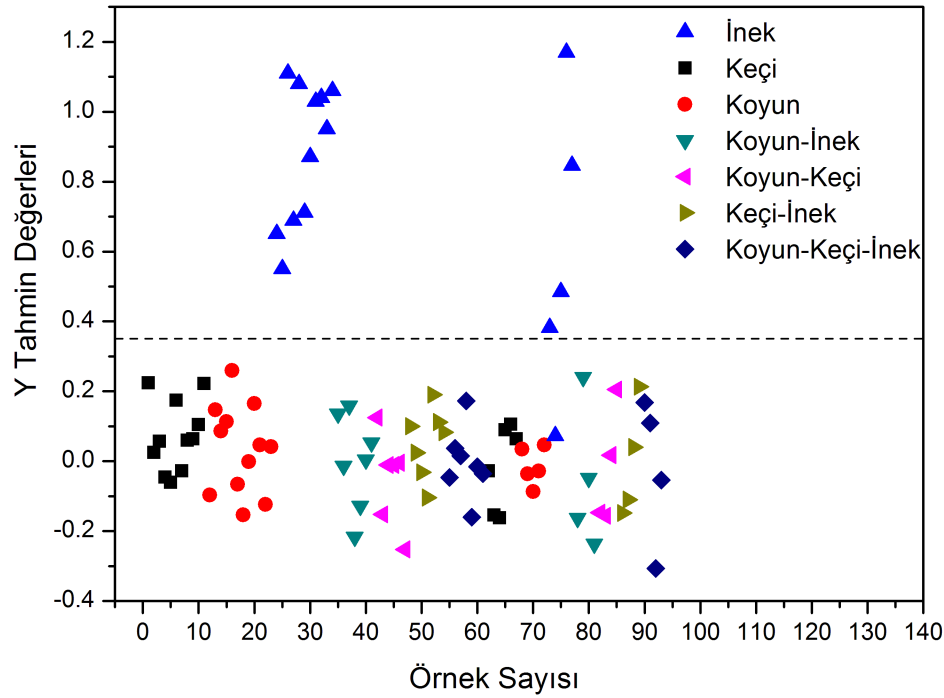


Şekil 4.41. Pastörize koyun süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği



Şekil 4.42. Pastörize keçi süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

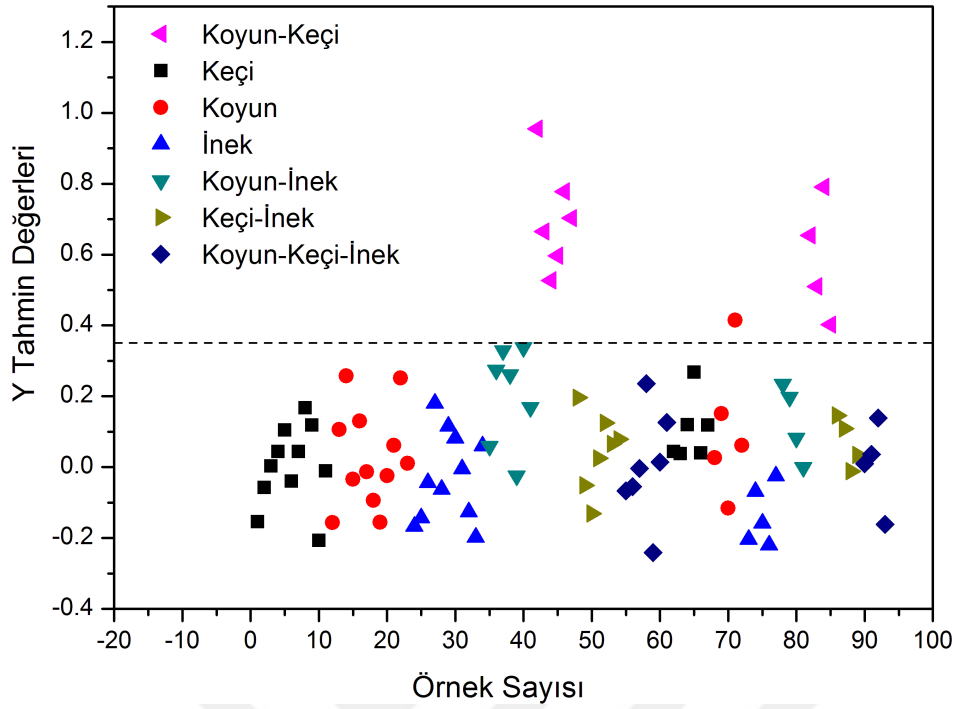
Keçi sütlerinin diğer sütlerden ayrımı için elde edilen grafik Şekil 4.42’de gösterilmektedir. Kalibrasyon ve validasyon veri setindeki tüm örneklerin başarıyla belirlenebildiği gözlenmiştir.



Şekil 4.43. Pastörize inek süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

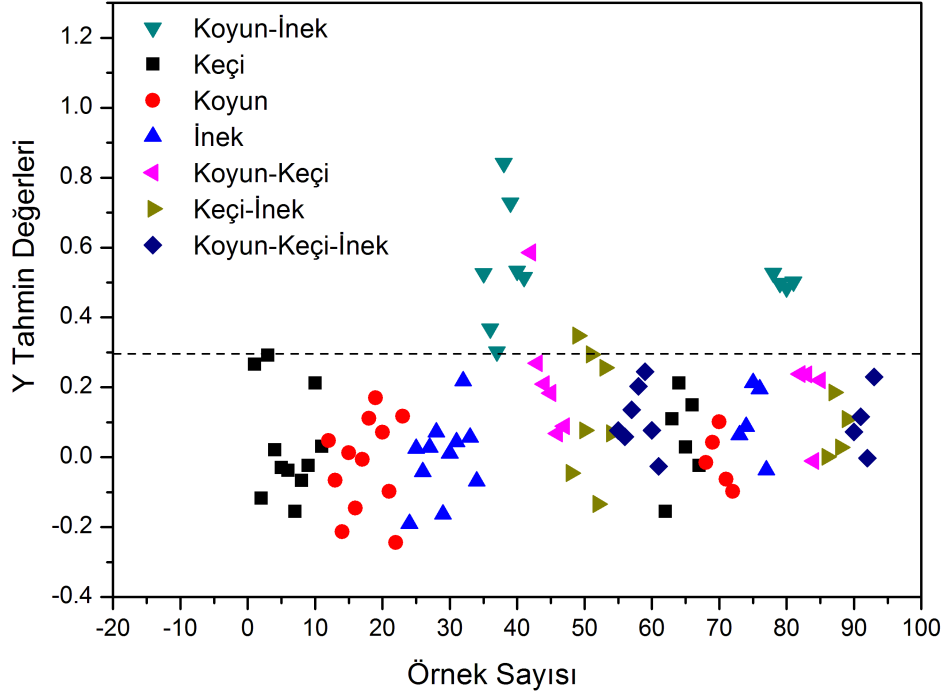
Geliştirilen PLS-DA modeli ile koyun ve keçi sütlerinin sınıflandırılması başarılı olsa da inek sütü için ayırmada az da olsa hatalı sonuç verdiği Şekil 4.43’de görülmektedir. Validasyon veri setinde kullanılan 1 adet inek sütü örneğinin sahip olduğu y tahmin değeri, diğer sültere ait sınıfta yer almıştır. Bu da sistemin özgüllük oranının 0.80 gibi düşük bir değer almasına sebep olmuştur. Bununla birlikte validasyon veri setinde bulunan 2 süt örneğinin de eşik değerinin hemen üzerinde bulunması da sistemin inek sütünü sınıflandırma yeteneğinin fazla başarılı olamadığını göstermektedir.

İnek sütünün daha yüksek özgüllük oranı ile belirlenmesi amacıyla farklı ön işlemler ve ön işlem kombinasyonlarıyla modeller kurulmasına rağmen en iyi başarımlar ölçüsü değerlerine bu modelle ulaşılmıştır. Çizelge 4.6’da bu değerlere yer verilmiştir.



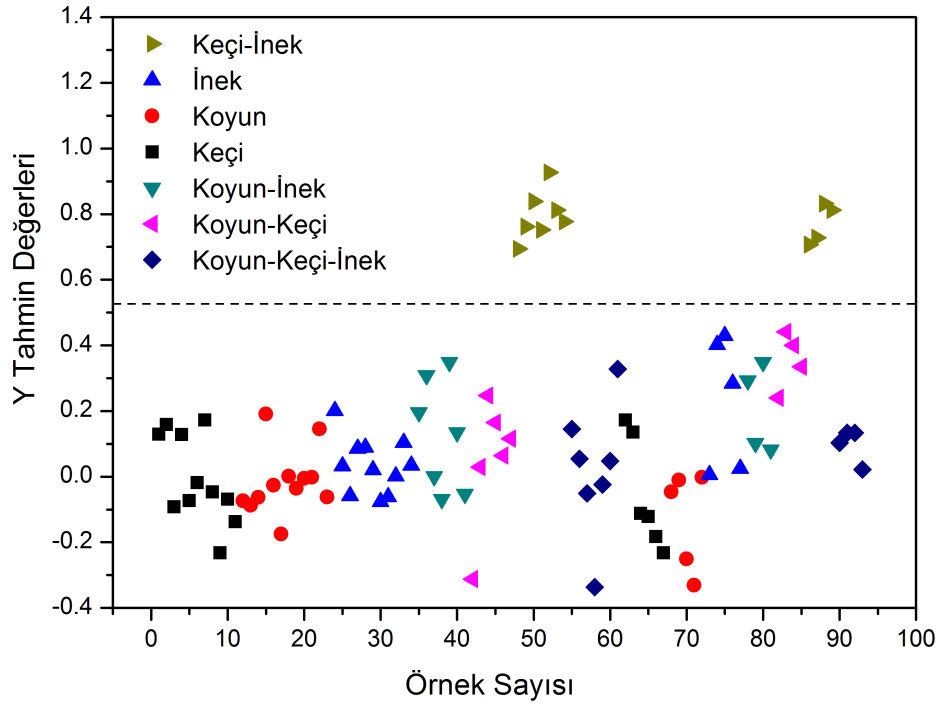
Şekil 4.44. Pastörize koyun-keçi karışım süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

Pastörize koyun-keçi süt örneklerinin sınıflandırılmasıyla ilgili elde edilen grafik Şekil 4.44'de gösterilmektedir. Kurulan model validasyon veri setinde kullanılan koyun keçi örneklerini başarıyla tahmin etse de validasyon veri setinde bulunan 1 adet koyun sütünü de koyun-keçi sütü gibi sınıflandırmış ve modelin özgüllük değerini % 96.4'e düşürmüştür. Bununla birlikte 2 adet koyun-inek karışımının da y tahmin değerinin neredeyse eşik değeriyle aynı değeri aldığı görülmektedir. Bu sonuçlara bakılarak koyun sütünün NIR spektrumlarında inek ve keçi sütlerine göre daha baskın olduğu söylenebilmektedir. Tüm bu benzerliklere rağmen geliştirilen modelle başarıyla koyun-keçi sütlerinin ayrımının yapılabildiği görülmektedir. Modele ait diğer başarımlar ölçüsü verileri Çizelge 4.6'da özetlenmiştir.

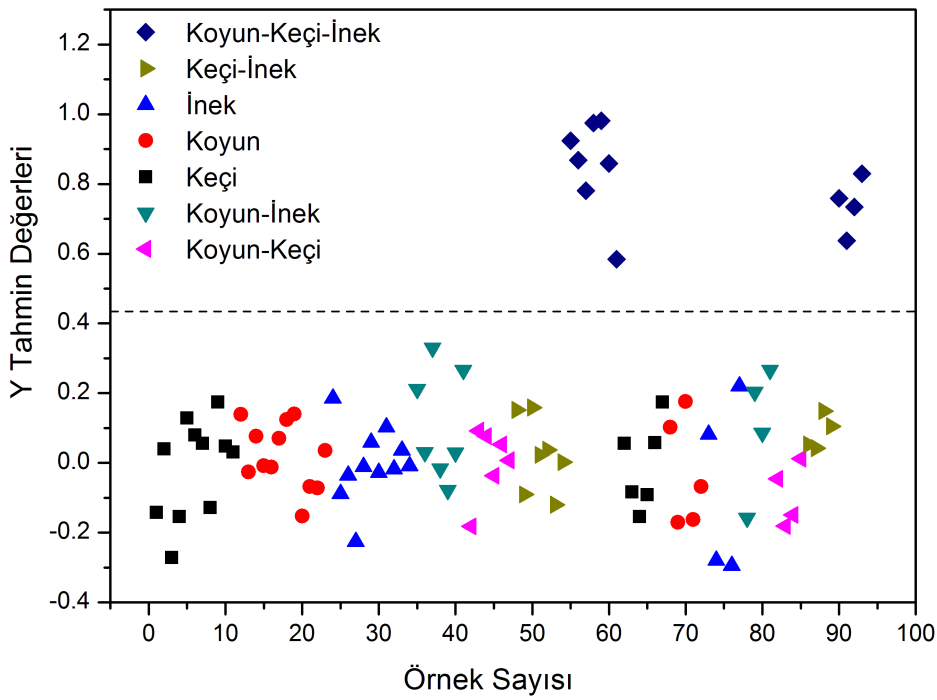


Şekil 4.45. Pastörize koyun-inek karışım süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

Koyun-inek sütü karışımlarının diğer sütlerden ayrıldığı modelin grafiği Şekil 4.45’de gösterilmektedir. Kurulan modellere arasında kalibrasyon performansı en düşük model koyun-inek sütü örneklerinin ayrımında gözlenmiştir. Kalibrasyon veri setlerinde bulunan koyun-keçi karışımlarından 1 adet, keçi-inek karışımlarından ise 2 adet örnek, koyun-inek karışımı gibi yanlış sınıflandırılmıştır. Koyun-keçi sütlerinin ayrımına ait modelde ise validasyon veri setinde koyun sütlerinden 1 adet örnek, koyun-keçi gibi sınıflandırılmıştır. Eşik değerinin üzerine çıkan örnekler bakıldığında koyun ve koyun-keçi karışımlarındaki koyun sütünün NIR spektrumlarındaki etkisini göstermektedir. Keçi-inek karışımlarından 2 adet örneğin ise eşik değerinin hemen üzerinde çıkması da karışımlardaki inek sütünün modelin kalibrasyon performansını düşürdüğü düşünülmektedir. Kalibrasyon veri setindeki tüm yanlış sınıflandırmalara rağmen validasyon veri setindeki duyarlılık ve özgüllük oranlarının yüksek oluşu ve her karışım için kullanılan validasyon veri setindeki 4’er örneğin de doğru sınıflandırması ile modelin düşük bir performansla başarılı olduğu gösterilmektedir.



Şekil 4.46. Pastörize keçi-inek karışım süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği



Şekil 4.47. Pastörize koyun-keçi-inek 3'lü karışım süt örneklerinin diğer pastörize süt örneklerinden ayrılmasını gösteren PLS-DA modeli grafiği

Çizelge 4.6. Saf ve karışım halde bulunan pastörize süt örneklerinin birbirinden ayrılması için kurulan PLS-DA modeline ait başarımlar ölçüsü verileri

Veri Seti	DO (%)	YNO (%)	ÖO (%)	YPO (%)	VO (%)
Koyun-Keçi Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	96.4	3.6	100.0
Koyun-İnek Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	91.7	8.3	91.7
Keçi-İnek Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Koyun-Keçi İnek Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	96.0	4.0	96.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Koyun Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Keçi Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
İnek Sütü					
Kalibrasyon	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
Validasyon	80.0	20.0	100.0	0.0	80.0

DO: Duyarlılık Oranı, YNO: Yanlış Negatif Oranı, ÖO: Özgüllük Oranı, YPO: Yanlış Pozitif Oranı, VO: Verim Oranı

Keçi-inek karışımlarına ait model grafiği Şekil 4.46'da koyun-keçi-inek karışımlarına ait model grafiği ise Şekil 4.47'de gösterilmektedir. Her iki grafiğe bakıldığında, kalibrasyon ve validasyon veri setlerinde kullanılan tüm örneklerin diğer örneklerden başarıyla ayrıldığı görülmektedir. Çizelge 4.6'daki başarımların ölçüsü değerlerine de bakılırsa her iki süt karışımının diğer süt tür ve karışımlarından ayrı sınıfta değerlendirildiği söylenebilmektedir.

4.2.2.7. Sonuç ve Tartışma

Tez kapsamında yapılan bu çalışmada, geliştirilen NIR sistemi ile bir süt örneğinin öncelikle herhangi bir pastörizasyon işleminden geçip geçmediği belirlenebilmekte, ardından süte yapılan taşıma ile bazı üretim süreçlerinde kullanılan süt karışımlarının türleri geliştirilen PLS-DA modeli ile tayin edilebilmektedir. Koyun, keçi ve inek sütleri ile bu sütlerin belli oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen süt örneklerinin geliştirilen NIR reflektans spektrometresiyle spektrumlarının alınmasının ardından sınıflandırmada sıklıkla kullanılan PLS-DA analiz yöntemi ile süt türleri birbirinden ayrılmaya çalışılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında herhangi bir süt örneğine ısıtma işlemi uygulanıp uygulanmadığını belirlemek amacıyla saf ve karışım halde bulunan tüm sütlerin spektrumları kullanılarak PLS-DA modeli kurulmuştur. Tüm örneklerin çiğ ya da pastörize süt olduğu geliştirilen model ile başarıyla belirlenmiş ve ardından bu sütlerin türlerinin tayini için ikinci aşamaya geçilmiştir. Çiğ ve pastörize örneklerin tek bir model ile birbirinden ayrılması zor olacağından iki farklı yol izlenmiştir. Öncelikle çiğ süt türleri birbirinden ayrılmış, ardından pastörize sütlerin sınıflandırılması amacıyla farklı bir çalışma yürütülmüştür.

Çiğ saf süt türleri ile karışımlarının tek bir model ile birbirinden ayrılması amacıyla yapılan çalışmada başarılı olunamadığından dolayı saf ve karışım haldeki süt örnekleri PLS-DA modeli ile ayrılmaya çalışılmış ve türü bilinmeyen herhangi bir çiğ sütün karışım ya da saf halde olup olmadığı bu model ile belirlenebilmiştir. Özellikle taşıma amaçlı keçi ya da koyun sütüne katılan inek sütünün varlığı bu model ile başarıyla ayırt edilebilmiştir.

Saf ya da karışım halde bulunan çiğ sütlerin tür tayini amacıyla 2 farklı model kurulmuş ve 7 farklı grup yüksek başarımların ölçüsü değerleriyle birbirinden ayrılabilmiştir. Koyun-inek karışımı olan sütlerin sınıflandırılmasında validasyon veri setinde 1 örnek, koyun-keçi-inek 3'lü karışım olan sütlerin ayrımında ise

kalibrasyon veri setinde 1 örnek diğer gruba aitmiş gibi davranmıştır. Bu örnekler iki modelin performansını etkilese de genel anlamda çığ saf ve karışım halindeki sütler, geliştirilen 3 PLS-DA modeli ile başarıyla sınıflandırılabilmiştir.

Pastörize süt örneklerinin ayrımında ise tek bir PLS-DA modeli ile 7 farklı grup birbirinden başarıyla ayrılmıştır. Modele ait grafiklere ve başarımlar ölçüsü tablosuna bakıldığında koyun-keçi karışımlarına ait validasyon veri setine 1 adet örnek karışmış ve az da olsa modelin performansını olumsuz etkilemiştir. Aynı şekilde koyun-inek karışımlarına ait kalibrasyon veri setine farklı tür sütler karışmış ancak validasyon veri setinde % 100'lük özgüllük oranına sahip olduğu görülmüştür. 2 farklı süt karışımı grubunda performans kaybı yaşansa da pastörize olduğu bilinen sütlerin hangi türde ya da hangi karışımda bulunduğu tek bir PLS-DA modeli ile belirlenebildiği görülmüştür. Yapılan çalışma ile geliştirilen NIR reflektans spektrometresinin süt türlerinin ısıtma işlem uygulanıp uygulanmadığının ve bu sütlerin taşıdığı edilebilirlik edilemediğinin belirlenmesinde yüksek oranda başarılı olduğu gösterilmiştir.

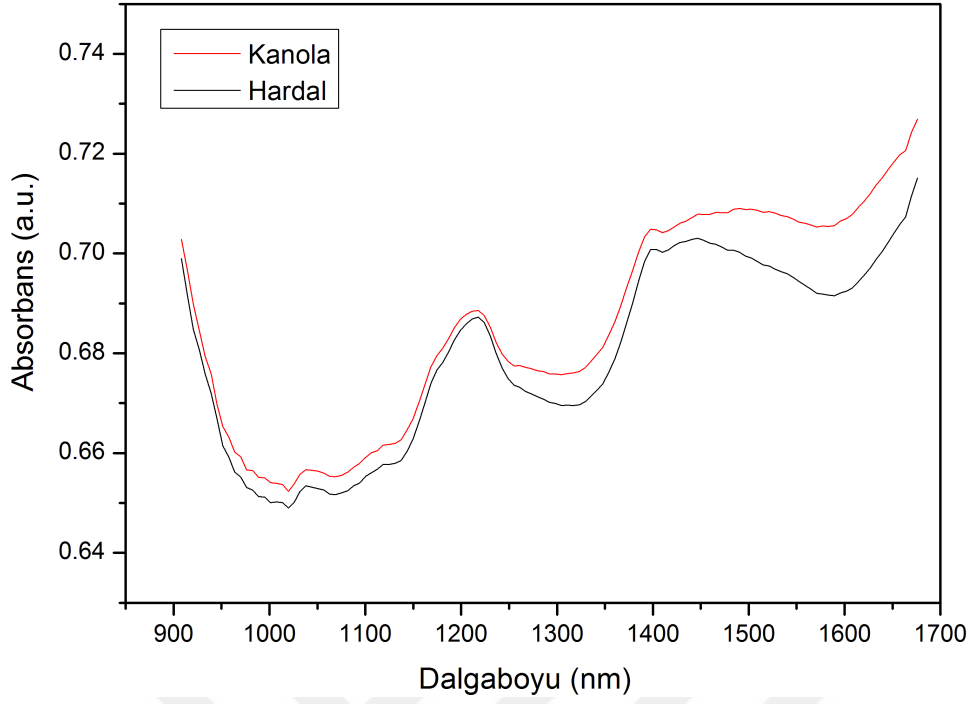
4.2.3. Hardal Yağlarında Bulunan Erusik Asit ve Yağlardaki Miktarının Tayini

Bu çalışmanın amacı, kemometrik metotlarla birlikte çalıştırılan 3 farklı ölçüm moduna sahip NIR spektrometrelerinin hardal-kanola yağı karışımlarında bulunan erusik asit miktarını tayin etmedeki başarısını incelemektir. Ayrıca geliştirilen PLS modellerinin kendi aralarındaki başarılarını karşılaştırarak NIR ölçüm modlarının çalışmadaki etkisini incelemek de çalışmanın bir diğer hedefini oluşturmaktadır.

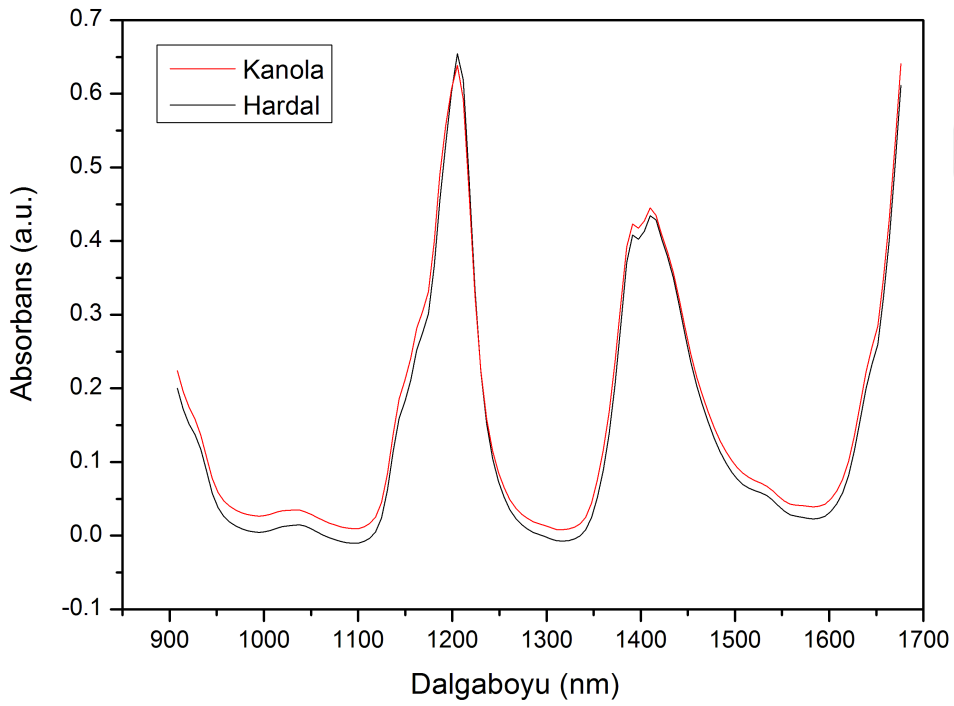
Bu amaçla GC ile erusik asit miktarı belirlenen hardal yağı ile kanola yağı farklı oranlarda karıştırılarak farklı erusik asit konsantrasyonlarında karışımlar hazırlanmış ve 3 farklı spektrometre ile NIR spektrumları alınmıştır. PLS metodu ile 3 farklı kalibrasyon modeli kurularak erusik asit miktarını tayin edecek yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır.

4.2.3.1. Örneklerin Spektrum Analizi

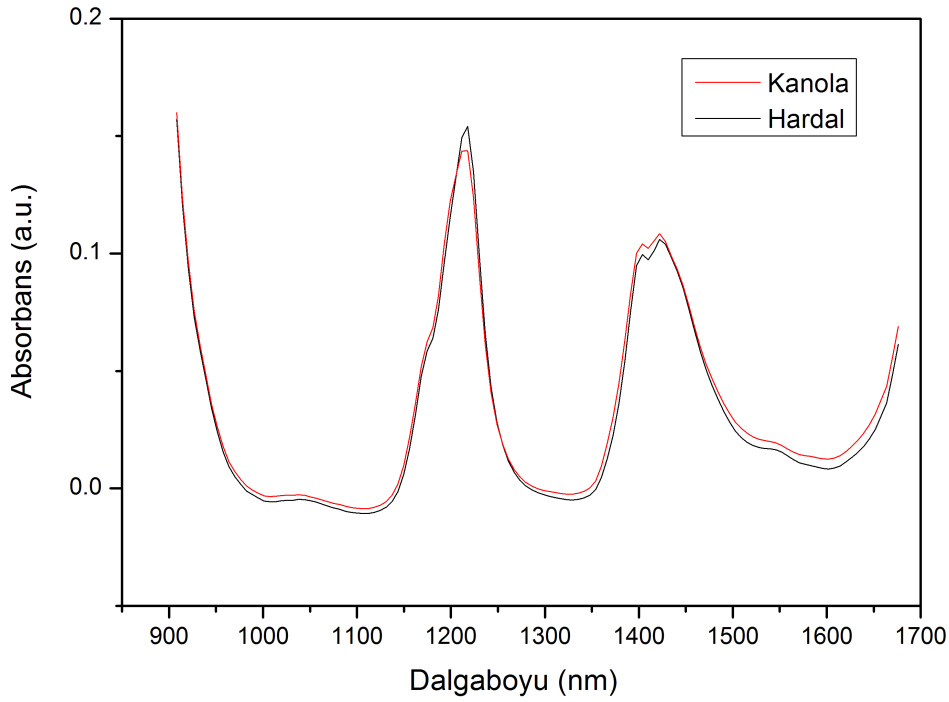
Ham kanola ve hardal yağının reflektans spektrumları Şekil 4.48'de, transmittans spektrumları Şekil 4.49'da ve transreflektans spektrumları Şekil 4.50'de 908 ile 1695 nm arası kapsayacak şekilde gösterilmiştir. Reflektans spektrometresinden alınan spektrum $\log(1/R)$ olacak şekilde absorbansa dönüştürülerek gösterilmiştir.



Şekil 4.48. Kanola ve hardal yağının reflektans spektrumları



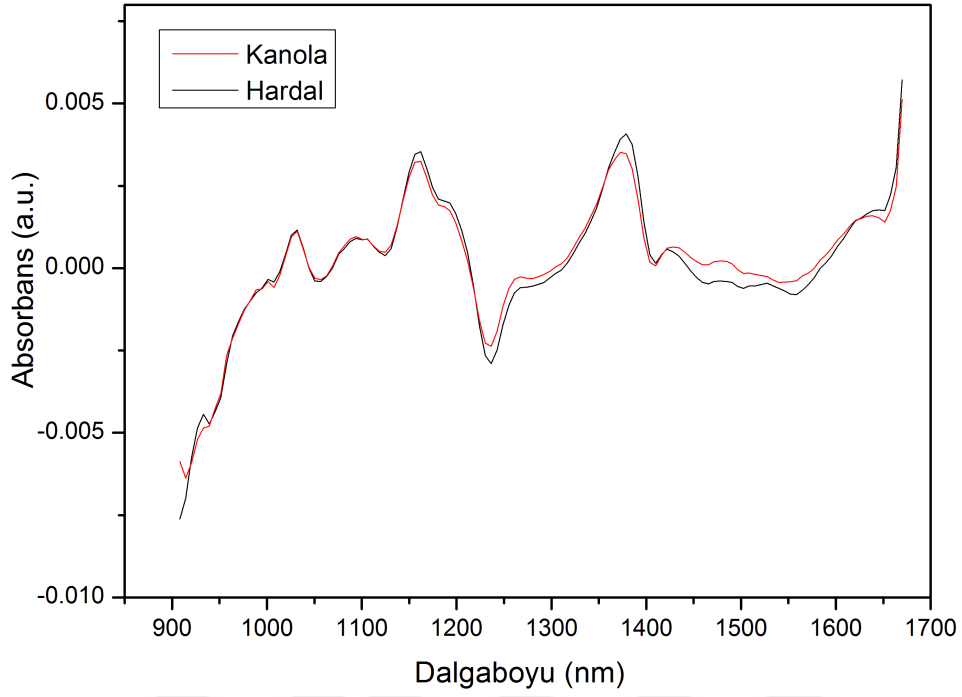
Şekil 4.49. Kanola ve hardal yağının transmitans spektrumları



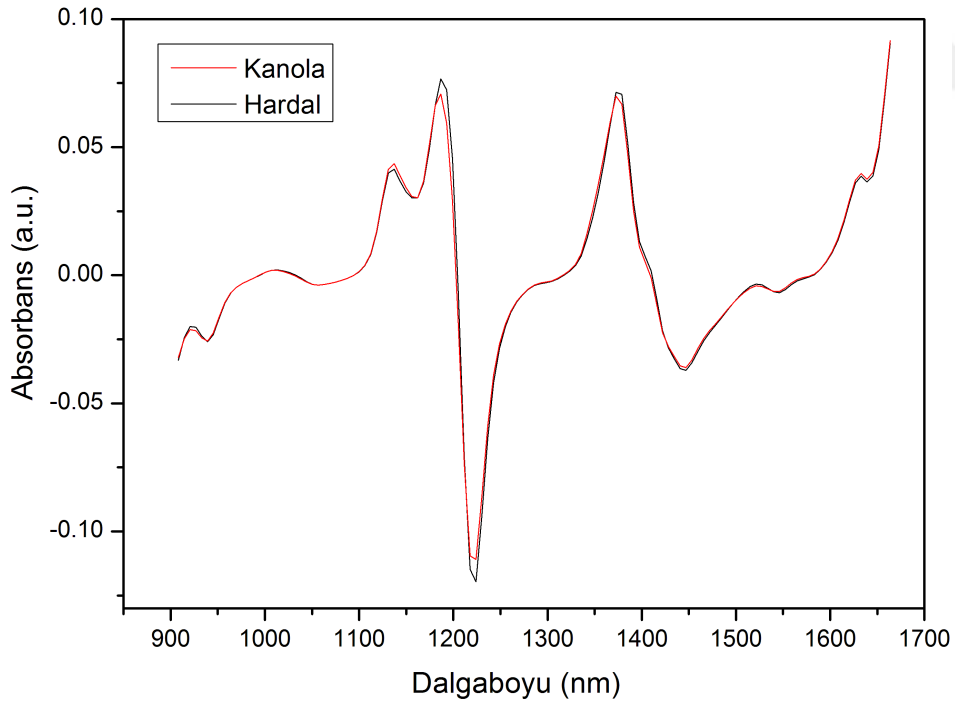
Şekil 4.50. Kanola ve hardal yağının transflektans spektrumları

Kanola ve hardal yağının reflektans spektrumlarına bakıldığında birçok bantta farklılıklar olduğu görülmektedir. Transmittans ve transflektans spektrumlarına bakıldığında ise yağ spektrumlarının birbirine çok benzediği ancak birkaç bantta sinyal şiddetinin değiştiği görülmektedir. Bu değişimlerin daha iyi gözlenebilmesi için aşağıdaki Şekil 4.51, Şekil 4.52 ve Şekil 4.53’de her 3 grafiğin 1. türev alınmış hali verilmiştir.

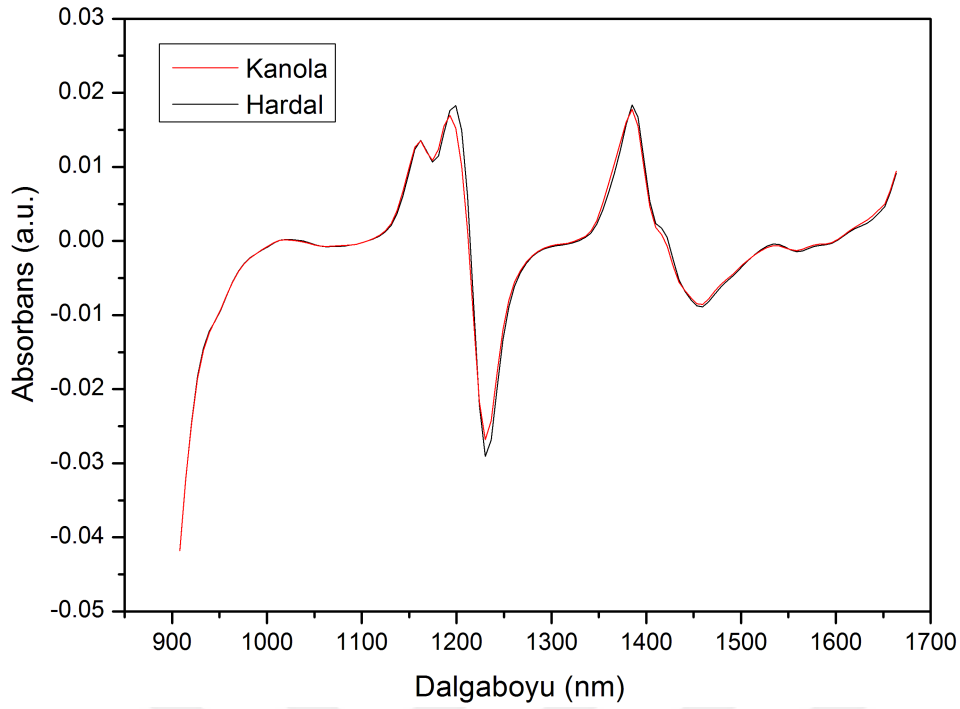
Genel olarak kanola ve hardal yağlarına ait spektrumlar incelendiğinde su bandının 1460 nm’de, yağ bileşenlerinin alifatik zincir bağlarına ait bantların 1210 ve 1715 ile 1750 nm arasında ve peptit bağları ile proteinlerin amid gruplarına ait bantların 2052 ile 2300 nm arasında olduğu bildirilmektedir. 1204 ile 1250 nm arasında $-CH_3$, $-CH_2$ ve $-HC=CH-$ yapılarının C-H gerilimi ikinci overtonu bulunmakta iken, 1392 ile 1413 nm arasındaki bandın ise metilen kombinasyon bandının C-H gerilimi ile ilişkilendirilmiştir [91]. Su, yağ ve protein bantlarının denk geldiği titreşim türleri sırasıyla $-OH$ gerilmesinin ikinci overtonu, $-CH$ gerilmesinin üçüncü overtonu ve $-NH$ gerilmesinin ikinci ve üçüncü overtonlarından oluşmaktadır [92, 93]. Spektrometreler 1676 nm’nin üzerindeki bölgeyi veremediği için çalışmada kullanılan spektrumlarda yağ yapılarının bir kısmı ile proteinlerle ilgili bölge incelenememiştir.



Şekil 4.51. Kanola ve hardal yağının reflektans spektrumlarının 1. türev alınmış halinin grafiği



Şekil 4.52. Kanola ve hardal yağının transmittans spektrumlarının 1. türev alınmış halinin grafiği



Şekil 4.53. Kanola ve hardal yağının transflektans spektrumlarının 1. türev alınmış halinin grafiği

4.2.3.2. Spektrumların Veri Analizi

Analizi yapılan örnek hakkında NIR spektrumlarında bulunan ve kantitatif analiz yapmak için gerekli olan bilgiyi ayıklamak ve gereksiz olan bölgelerin mümkün olduğunca temizlenmesi amacıyla farklı ön işlemlerle PLS modelleri kurulması yoluna gidilmiştir. Böylece spektrumlardaki anlamlı bilgi yağ karışımında bulunan erusik asit miktarıyla ilişkilendirilerek regresyon modeli çıkartılabilecektir.

NIR spektrometrelerinin kendisinden kaynaklanan bazı enstrümental efektlerin ortadan kaldırılması ve modellerin tahmin performansının artırılması amacıyla diğer çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da spektrumlara bazı ön işlemler uygulanmış ve her 3 sistem için PLS modelleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Antep fıstığı taşışının belirlenmesi çalışmasında kullanılan ön işlemlerin modellerin performansına olan etkisi bu çalışmada da araştırılmıştır.

Modellerin kurulumu öncesinde piyasadan temin edilen kanola ve hardal yağının erusik asit miktarı GC-MS yöntemi ile belirlenmiş, stok olarak kullanılan hardal yağının erusik asit miktarı % 53.1 (ağırlık/ağırlık) olarak bulunurken kanola yağında ise eser miktarda (% 0.01 (ağırlık/ağırlık)) erusik asit miktarı belirlenmiştir. Bu iki yağ kullanılarak erusik asit miktarı % 0 ile 27 arasında değişen 50 farklı

karışım hazırlanmıştır. Bu aralığın maksimum konsantrasyon miktarının 27 olarak ayarlanmasının sebebi, tağış yapılıcak hardal yağının maksimum 1:1 hacimsel oranda kanola yağına katılacağına varsayılmasıdır. Kalibrasyon ve validasyon modellerinde kullanılacak veri setinin belirlenmesi aşamasında erusik asit konsantrasyonu en düşükten en yükseğe sıralanan spektrumlarından her 3 örnekten biri sırayla validasyon veri setine seçilirken diğer 2 örnek kalibrasyon veri setine seçilmiştir.

Kurulan modellerin temel bileşen sayılarının seçilmesi aşamasında önceki çalışmalarda olduğu gibi düşük RMSEC, RMSECV ile RMSEP değerlerine ve yüksek belirleme katsayısına sahip modeller tercih edilmiştir. Yapılan ön işlemlerin modellerin başarısına olan katkıları Çizelge 4.7’de listelenmiş ve aralarında en iyi sonucu veren model, erusik asit miktarını tayin edebilen en iyi model olarak seçilmiştir. 3 farklı spektrometre ile elde edilen PLS modellerine ait kalibrasyon ve validasyon modellerine ait istatistiksel veriler 3 alt bölümde incelenmiştir.

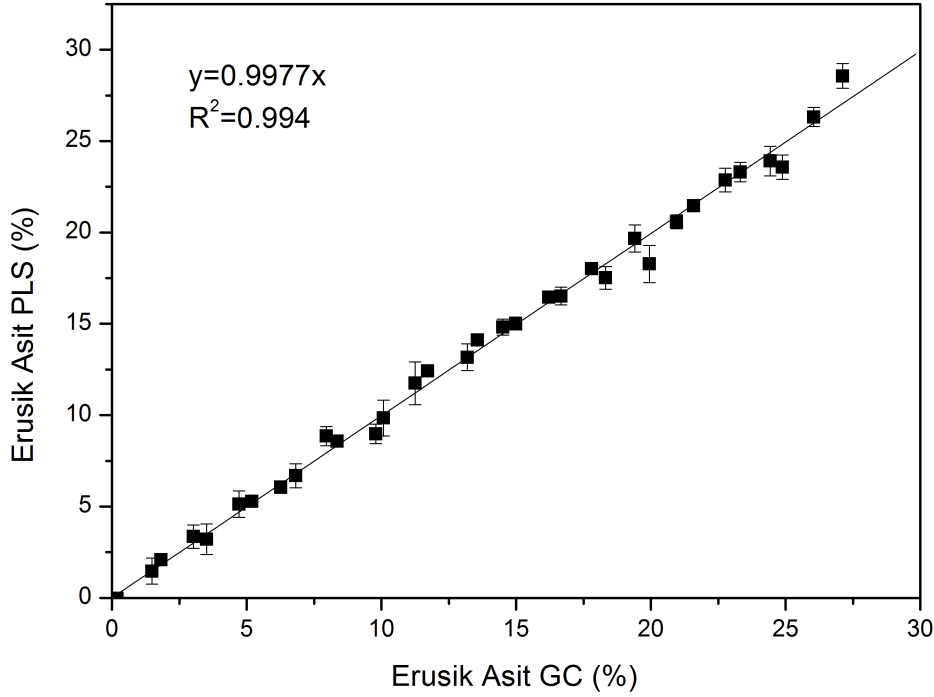
Reflektans Spektrometresiyle Kurulan PLS Modeli:

Reflektans spektrometresiyle elde edilen NIR spektrumlarının farklı ön işlemler ile kurulan modellerin temel bileşen sayıları 6 ile 13 arasında geniş bir aralıkta değişmektedir. R^2 değerlerinin hem kalibrasyonda hem de validasyonda çizelgedeki verilere göre çok değişmediği kabul edilirse diğer performans katsayılarına göre en uygun modelin seçilmesi gerekmektedir. RMSEC, RMSECV ve RMSEP değerlerinin düşük, daha az sayıda temel bileşene sahip ve daha düşük LOD ile LOQ değerine sahip model seçilmek istediğinde neredeyse tüm değerlerinin birbirine çok yakın olduğu SND ve ÇSD ön işlemlerinin ön plana çıktığı görülmektedir. Ancak LOD ve LOQ değerinin bir miktar daha düşük olması ve temel bileşen sayısının daha düşük olması sebebiyle SND ön işlemi geliştirilen reflektans spektrometresi ile erusik asit miktarının belirlenmesinde en uygun model olarak seçilmiştir.

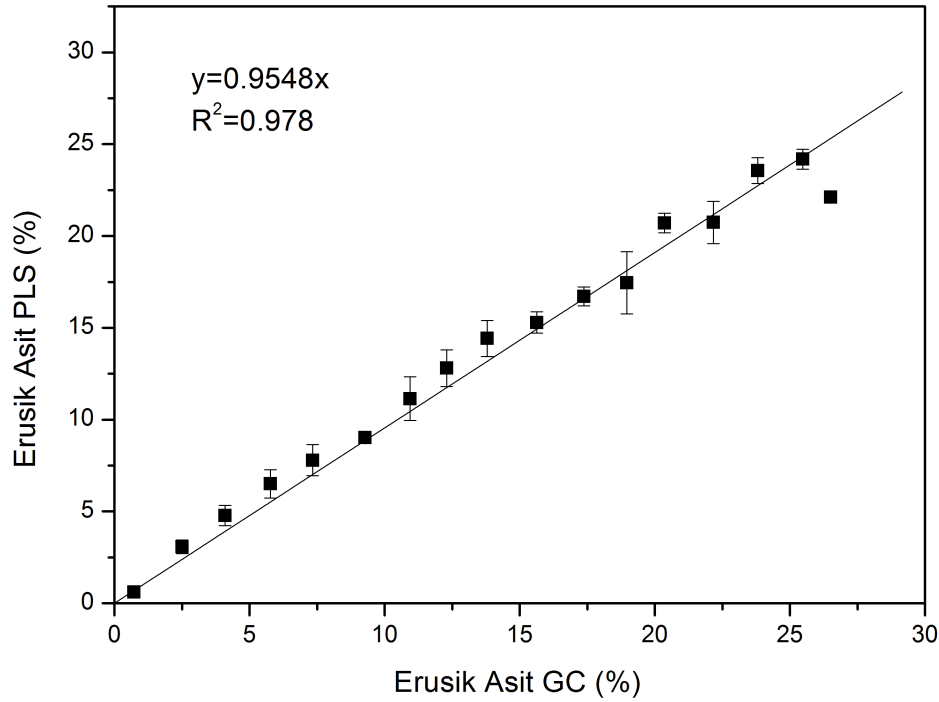
Çizelge 4.7. Erusik asit miktarının 3 farklı NIR ölçüm modu ile belirlenmesinde farklı ön işlemlerle kurulan PLS modellerine ait performans verileri

Ölçüm Modu								
Reflektans	TBS	RMSEC	RMSECV	RMSEP	R ² Kal.	R ² Val.	LOD %	LOQ %
1.türev	6	1.0091	1.2252	1.1365	0.985	0.984	1.17	5.86
2.türev	7	0.7649	0.9833	0.8129	0.993	0.993	0.65	3.25
PRZ	10	0.9989	1.1679	1.3867	0.987	0.975	1.74	8.70
DTND	13	0.3839	0.9504	1.0848	0.999	0.991	2.44	12.2
SND	8	0.7603	1.0921	1.4494	0.994	0.978	0.15	0.75
BST	12	0.6973	0.9392	1.1059	0.995	0.984	1.52	7.58
ÇSD	9	0.7527	1.0914	1.5224	0.995	0.975	0.19	0.94
Transmitans	TBS	RMSEC	RMSECV	RMSEP	R ² Kal.	R ² Val.	LOD %	LOQ %
1.türev	6	0.7271	0.7889	1.0122	0.992	0.984	0.18	0.90
2.türev	8	0.5694	0.6577	0.9419	0.995	0.986	0.55	2.76
PRZ	8	0.7599	0.8272	0.9472	0.991	0.986	0.29	1.46
DTND	7	0.6807	0.7927	0.8318	0.993	0.990	0.11	0.56
SND	8	0.6678	0.7683	0.7792	0.993	0.991	0.30	1.50
BST	7	0.7477	0.8062	0.8254	0.991	0.990	0.26	1.30
ÇSD	8	0.6677	0.7678	0.7781	0.993	0.991	0.30	1.50
Transfleksans	TBS	RMSEC	RMSECV	RMSEP	R ² Kal.	R ² Val.	LOD %	LOQ %
1.türev	8	0.6722	0.8613	0.8630	0.994	0.992	0.85	4.29
2.türev	6	0.7373	0.9983	0.8840	0.992	0.991	0.26	1.30
PRZ	9	0.6907	1.6265	0.8769	0.993	0.991	0.87	4.34
DTND	6	0.6841	0.8639	0.8736	0.993	0.991	0.57	2.88
SND	7	0.6117	0.9510	0.9357	0.995	0.990	0.84	4.19
BST	6	0.6953	1.3338	0.8746	0.993	0.992	0.79	3.98
ÇSD	7	0.6109	0.9525	0.9362	0.995	0.990	0.84	4.20

PRZ: Pürüzsüzleştirme, DTND: De-trend, SND: Standart Normal Değişken, BST: Boşluk-Segment Türev, ÇSD: Çoğaltıcı Saçılma Düzeltme



Şekil 4.54. Erusik asit miktarının belirlenmesinde reflektans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin kalibrasyon grafiği

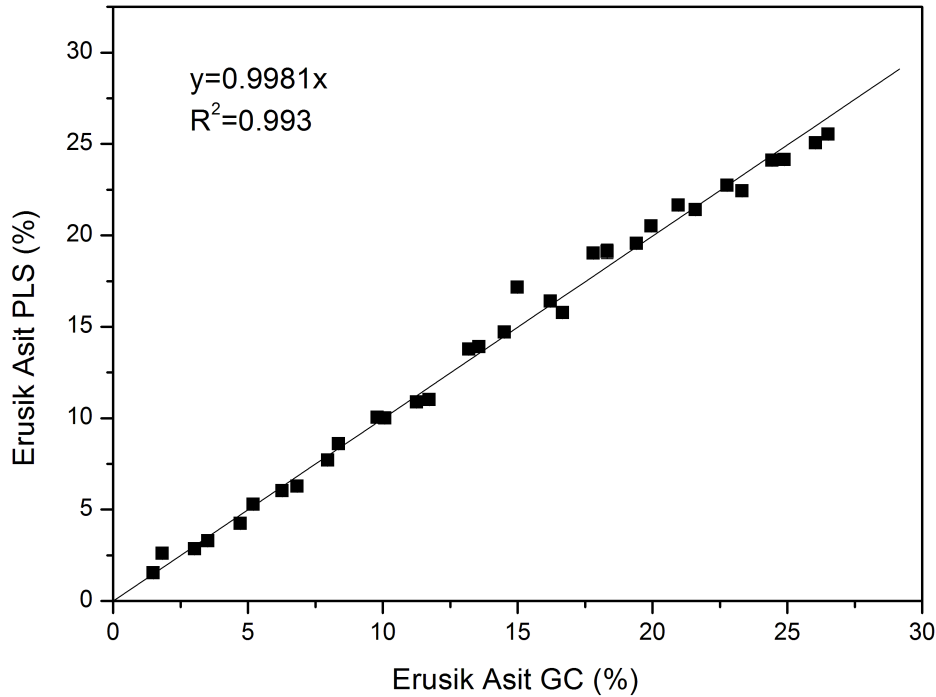


Şekil 4.55. Erusik asit miktarının belirlenmesinde reflektans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin validasyon grafiği

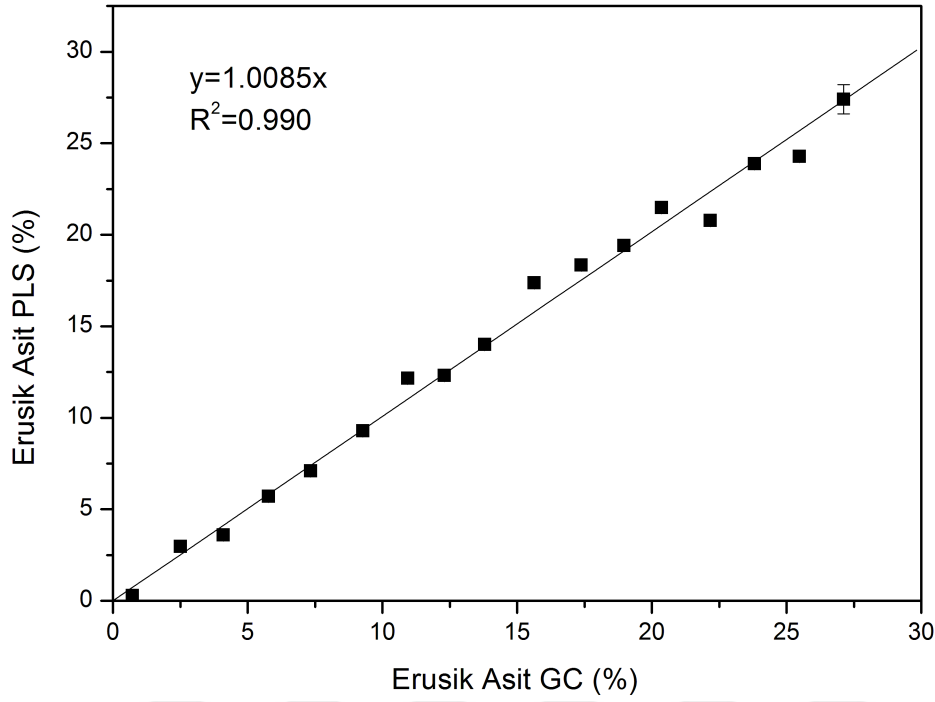
Seçilen SD n işlemiyle kurulmuş PLS modeli, 8 temel bileşen sayısına sahip, kalibrasyon ve validasyon grafiklerine ait R^2 değerleri sırasıyla 0.994 ve 0.978 olan model olmuştur. Modelin RMSEC, RMSECV ve RMSEP değeri 0.7527, 1.0914 ve 1.4494 olarak bulunmuştur. Kalibrasyon ve validasyon veri setine ait tahmin değerlerini gösteren grafikler şekil 4.54 ve şekil 4.55’de gösterilmiştir.

Transmitans Spektrometresiyle Kurulan PLS Modeli:

Geliştirilen transmitans NIR spektrometresiyle alınan yağ spektrumlarıyla farklı n işlemlerle kurulan PLS modellerine genel olarak bakıldığında tüm performans katsayılarının birbirine çok yakın çıktığı söylenebilmektedir. Temel bileşen sayısı 6 ile 8 arasında, RMSEC, RMSECV ve RMSEP verileri 0.5694 ile 1.0122 gibi çok düşük değerler arasında değişmektedir. Hem kalibrasyon hem de validasyon veri setinde yüksek R^2 değerlerine (0.990 ile 0.995 arası) sahip modellerin tümü erusik asit miktarını yüksek performansla tahmin edebildiği görülmektedir. Diğer tüm katsayılar birbirine çok yakın olduğu için en uygun model olarak en düşük LOD ve LOQ değerine sahip de-trend n işlemine sahip model seçilmiştir.



şekil 4.56. Erusik asit miktarının belirlenmesinde transmitans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin kalibrasyon grafiği

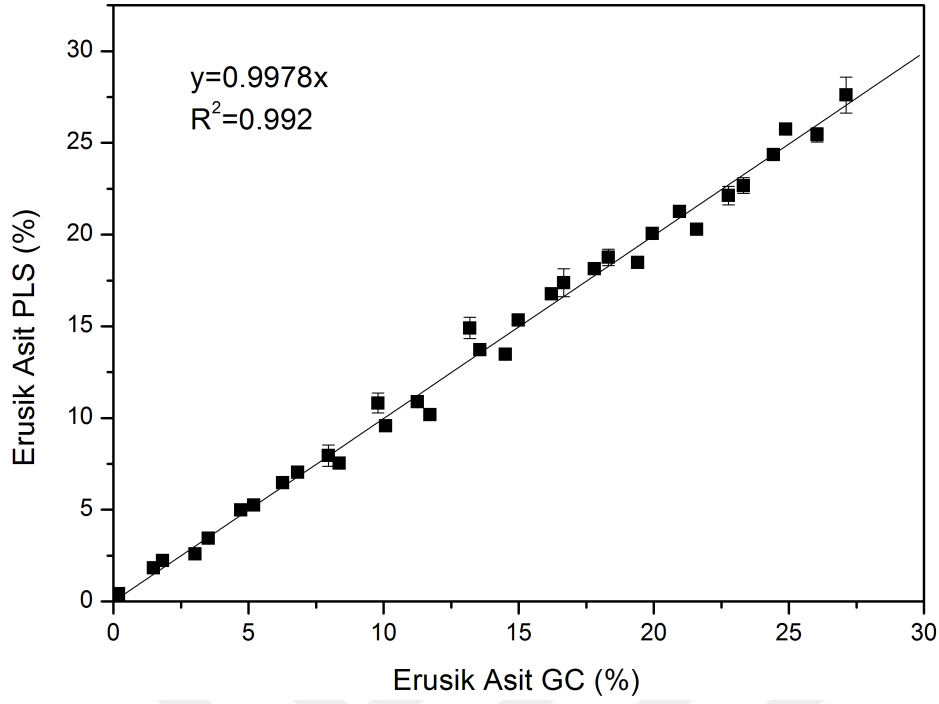


Şekil 4.57. Erusik asit miktarının belirlenmesinde transmitans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin validasyon grafiği

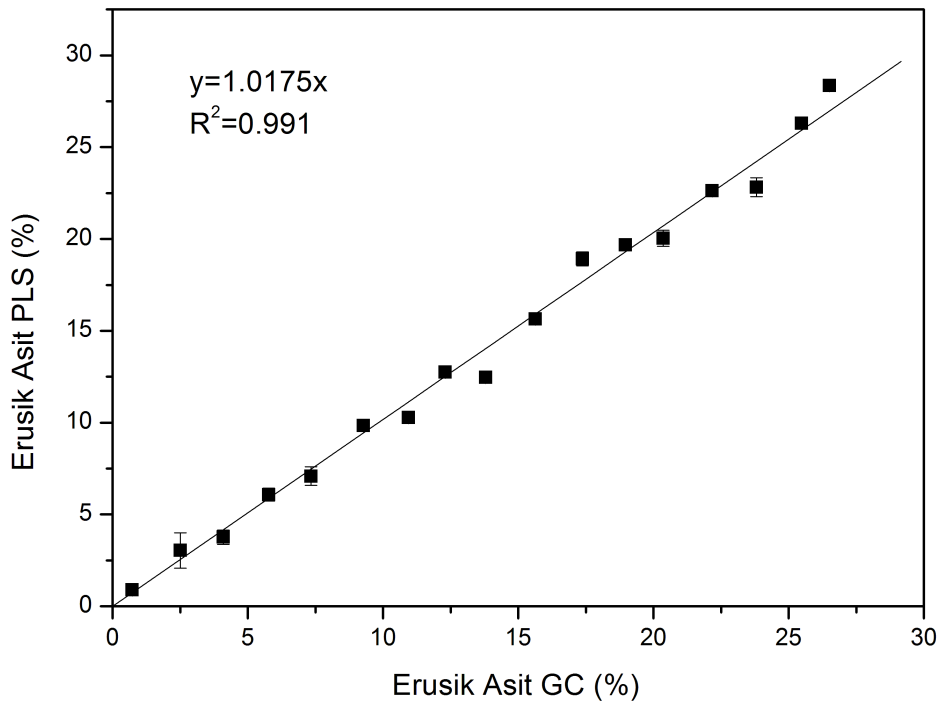
De-trend ön işlemi ile kurulan model 7 temel bileşen sayısına, 0.993 ve 0.990 kalibrasyon ve validasyon R^2 değerlerine sahiptir. RMSEC, RMSECV ve RMSEP verileri sırasıyla 0.6678, 0.7683 ve 0.7792 olurken LOD ve LOQ verileri % 0.11 ve % 0.56 olarak bulunmuştur. Şekil 4.56 ve Şekil 4.57’de kalibrasyon ve validasyon grafikleri gösterilmiştir. Bu değerlere bakıldığında transmitans spektrometresiyle kurulan modelin reflektans spektrometresine göre daha başarılı olduğu görülmektedir.

Transfleksans Spektrometresiyle Kurulan PLS Modeli

Transfleksans spektrometresiyle elde edilen NIR spektrumlarıyla kurulan en iyi modeli bulmak amacıyla Çizelge 4.7’deki verilere bakıldığında transmitans spektrometresinde olduğu gibi tüm performans katsayılarının birbirine çok benzediği ve erusik asit miktarını yüksek başarıyla tahmin edebildiği görülmektedir. 6 ile 9 temel bileşen sayısına sahip, 0.990 ile 0.995 gibi yüksek R^2 değerlerine sahip modellerin düşük RMSEC, RMSECV ve RMSEP verilerine sahip olduğu söylenebilmektedir. Ancak LOD ve LOQ değerlerinin transmitans spektrometresiyle elde edilen modellerin değerlerine göre düşük performans



Şekil 4.58. Erusik asit miktarının belirlenmesinde transflektans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin kalibrasyon grafiği



Şekil 4.59. Erusik asit miktarının belirlenmesinde transflektans spektrometresiyle alınan spektrumlar ile kurulan en iyi PLS modelinin validasyon grafiği

sahip olduğu görülmektedir. Transfleksans spektrometresiyle kurulan en iyi model olarak diğer ölçüm modlarında olduğu gibi LOD ve LOQ değerinin en düşük olduğu 2. türev ön işlemine sahip model seçilmiştir.

Temel bileşen sayısı 6 olarak bulunan modelin RMSEC, RMSECV ve RMSEP verileri 0.7373, 0.9983 ve 0.8840 olarak hesaplanmıştır. Sırasıyla 0.993 ve 0.991 gibi yüksek R^2 verilerine sahip modele ait kalibrasyon ve validasyon grafikleri Şekil 4.58 ve Şekil 4.59'da gösterilmiştir. Modelin sahip olduğu LOD ve LOQ değerleri ise % 0.26 ve % 1.30 olarak hesaplanmıştır.

4.2.3.3. Sonuç ve Tartışma

Geliştirilen 3 farklı ölçüm moduna sahip 3 farklı NIR spektrometresinin kendi arasında performanslarının karşılaştırılması ve aynı zamanda literatürde bulunmayan NIR spektrometreleriyle hardal-kanola yağı karışımlarındaki toksik erusik asit miktarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışma sonucunda geliştirilen sistemlerin yüksek başarı ve tahmin performansı gösterdiği görülmüştür. Öncelikle reflektans, transmitans ve transfleksans spektrometreleriyle alınan spektrumlar, farklı ön işlemler ile PLS modeline sokulmuş ve ön işlemlerin her spektrometredeki performansa olan etkisi incelenmiştir. En uygun ve tahmin performansı en yüksek modelin düşük temel bileşen sayısına, düşük RMSEC, RMSECV ve RMSEP verilerine sahip olması ve yüksek R^2 değerine sahip olması gerektiği bilinmektedir [76, 85, 86]. Ancak LOD ile LOQ değerleriyle birlikte performans değerlendirilmesi yapıldığında tayin ve tespit limitlerinin modellerin tahmin yeteneğini oldukça etkilediği çıkan sonuçlardan da görülmektedir. Yüksek R^2 ve düşük RMSEC, RMSECV ve RMSEP değerlerine sahip modellerin LOD ve LOQ değerlerinin reflektans spektrometresinde de-trend ön işleminde olduğu gibi % 2.44 ve % 12 değerlerine kadar çıktığı görülmüştür. Bu nedenle her 3 spektrometre ile yapılan çalışmada tüm performans katsayılarına bakılarak yapılan değerlendirme sonucu elde edilen modeller ile hardal-kanola yağı karışımlarında erusik asit miktarının başarıyla tahmin edildiği söylenebilmektedir.

Elde edilen sonuçlara göre 3 farklı spektrometrenin performansı karşılaştırıldığında ise transmitans ve transfleksans spektrometreleriyle alınan spektrumların reflektans spektrometresiyle alınan spektrumlara göre daha anlamlı bilgi içerdiği ve kurulan modellerin daha yüksek performansta sonuç aldığı

görülmektedir. Transmittans spektrumlarıyla kurulan modellerin ise transflektans spektrumlarıyla kurulanlara göre daha düşük LOD ve LOQ değerlerine sahip olduğu Çizelge 4.7’de gösterilmiştir. Transmittans spektrumlarının transflektans spektrumlarına göre daha yüksek şiddette bantlara sahip olması ve bu bantların sahip olduğu bilginin PLS modeli kurulumu esnasında daha yüksek tahmin performansı sağladığı düşünülmektedir.

Özet olarak 3 farklı NIR ölçüm moduna sahip spektrometrelerin birbirine yakın sonuçlar verdiği ve yağ karışımlarındaki erusik asit miktarını başarıyla tahmin edebildiği gösterilmiştir.



5.SONUÇ VE TARTIŞMA

Tez kapsamında yapılan çalışmaların ilk bölümünde gıda kalitesi ve güvenliğinin sağlanmasında geleneksel metotlara alternatif olarak kullanılan NIR spektroskopisinin 3 farklı ölçüm modu olan reflektans, transmitans ve transflektans spektrometreleri başarıyla geliştirilmiştir. Spektrometrelerin geliştirilmesi aşamasında öncelikle sistemi oluşturan ekipmanlar belirlenmiş, ardından sistemin fiziksel, elektronik ve yazılımsal tasarımları gerçekleştirilmiştir. Sistemin ana bileşenlerini oluşturan ışık kaynağı, monokromatör ve dedektörün bir arada bulunduğu NIR sensörü, sistemin tüm kontrolünü sağlayan elektronik kart ve yazılımın kullanılacağı bilgisayarın ana kasadaki yerleşimi yapıldıktan sonra sistemin üretilmesi aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada sisteme, örneklerin her noktasından spektrum alınmasını sağlamak amacıyla örnek haznesinin belli bir hızda dönmesini sağlayan hazne motoruyla, örnekleri istenilen sıcaklığa getirmesi amacıyla tasarlanmış örnek ısıtma hazneleri eklenmiştir.

NIR sensörünün sıcaklığının artmasıyla aynı örneğe ait spektrumlardaki bant şiddetlerinde artış olduğu ve bu artışın PLS ve PCA gibi kemometrik metotlarda düşük performansa neden olduğu yapılan çalışmalarla görülmüştür. Bu nedenle sensörün sıcaklığını sabitleyerek tekrarlanabilir ve doğru spektrumlar alınmasını sağlamak amacıyla sensör sıcaklık kontrol ünitesi tasarlanmıştır. Bu ünite sayesinde sensörün bulunduğu ortam sabit sıcaklıkta tutularak sensörün sıcaklığının artması engellenmiş ve aynı örneğe ait tekrarlanabilir spektrumlar başarıyla elde edilebilmiştir. Sistemin kararlı şekilde çalıştırılmasının ardından geliştirilen yazılım ile sistemin tüm parçaları kontrol edilmekle birlikte kullanıcı tarafından geliştirilen PLS modellerinin yazılıma eklenmesi sağlanmıştır. Böylece kullanıcının geliştirdiği PLS modellerini kullanarak istediği kalite parametresini tahmin edebilmesi sağlanmıştır.

NIR spektrometrelerinin geliştirilmesinin ardından gıda kalitesi ve güvenliği konusunda uluslararası alanda büyük sorun yaratan gıda tağşişi alanında 3 farklı gıda analizi çalışması 3 farklı NIR spektrometresiyle gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen ilk çalışmada bezelye ve ıspanak kullanılarak yapılan antep fıstığı tağşişinin kalitatif ve kantitatif tayini amacıyla geliştirilen reflektans spektrometresi kullanılmıştır. İlk aşamada bezelye ve ıspanak örnekleri % 20 ile % 80 oranında antep fıstığı ile karıştırılarak tağşiş edilmiş örnekler hazırlanmış, ardından alınan

NIR spektrumlarının kemometrik metotlar ile işlenmesi aşamasına geçilmiştir. PCA ve PLS modellerinin geliştirilmesi öncesinde farklı ön işlemlerin sınıflandırma ve tahmin performanslarının karşılaştırılması amacıyla 7 farklı ön işlem seçilmiş ve spektrumlar üzerinde uygulanmıştır. Geliştirilen PCA modelleri arasında en iyi performansı gösteren boşluk-segment türevi uygulanmış model, tağşiş edilmiş 2 farklı karışım ile 3 farklı saf örnek grubunu birbirinden başarıyla ayırabilmiştir. Temel bileşen skor grafiğinde antep fıstığı-bezelye karışımları ile antep fıstığı-ıspanak karışımları, saf örneklerle ait skor değerleri arasındaki bölgelerde çıkmıştır. Ancak tüm karışım oranlarının birbirinden PCA modeli ile sınıflandırılması zor olacağından dolayı kantitatif analiz amacıyla aynı spektrumlar ile 2 farklı PLS modeli geliştirilmiştir. Bezelye ile yapılan tağşişin belirlenmesi için 3 farklı temel bileşen ile geliştirilen ÇSD ön işleminin kullanıldığı model, yüksek kalibrasyon (0.992) ve validasyon (0.995) R^2 değerleri ile düşük LOD (% 1.05) ve LOQ (% 5.27) değerlerine sahip olarak bulunmuştur. Ispanak ile yapılan tağşişin belirlenmesi için kurulan 2. türev ön işleminin kullanıldığı PLS modelinde ise kalibrasyon ve validasyon R^2 değerleri 0.998 ve 0.991 gibi yüksek değerler bulunurken LOD ile LOQ değerleri sırasıyla % 0.19 ve % 0.95 olarak hesaplanmıştır. Farklı ön işlemler ile geliştirilen PLS modellerinin performanslarının karşılaştırılması, RMSEC, RMSECV, RMSEP ve R^2 değerleri ile LOD ve LOQ değerlerine bakılarak gerçekleştirilmiştir. Ancak her iki tağşiş türünün belirlenmesi için kurulan modellerin değerlendirilmesi aşamasında RMSEC, RMSECV, RMSEP ve R^2 değerlerinin birbirine çok yakın çıktığı görülmüş, bu nedenle en iyi model en düşük LOD ve LOQ değerlerine sahip model olarak seçilmiştir. Geliştirilen PCA ve PLS modelleriyle bezelye ve ıspanak kullanılarak yapılan antep fıstığı tağşişinin reflektans spektrometresiyle başarıyla belirlenebildiği gösterilmiştir.

NIR reflektans spektrometresiyle yapılan ikinci çalışmada sütlere yapılan ısıtma işleminin belirlenmesi ile koyun, keçi, inek sütleriyle bu sütlerin ikili karışımları olan koyun-keçi, koyun-inek, keçi-inek ve 3'lü karışım olan koyun-keçi-inek karışımların birbirinden ayrılması amacıyla PLS-DA modelleri geliştirilmiştir. Yapılan çalışmanın ilk aşamasında çiğ ve pastörize süt örneklerin spektrumları alındıktan sonra geliştirilen PLS-DA modeli ile herhangi bir süt örneğinin çiğ ya da pastörize olup olmadığı başarıyla belirlenebilmiştir.

İkinci aşamada çiğ sütlerin spektrumları kullanılarak saf ve karışım haldeki 7 grubun birbirinden ayrılması amacıyla model kurulmaya çalışılmış ancak başarılı olunamamıştır. Bu nedenle ilk aşamada çiğ sütlerin spektrumlarının tamamı kullanılarak saf ya da karışım olup olmadığının belirlenmesi amacıyla PLS-DA modeli geliştirilmiştir. Bu model ile çiğ saf ve karışım haldeki sütler 2 gruba başarıyla ayrılabilmiştir. Ardından çiğ saf süt örneklerine ait koyun, keçi ve inek sütü spektrumları ile PLS-DA modeli geliştirilmiş, 3 farklı grup birbirinden ayrı sınıflarda gösterilebilmiştir. Aynı şekilde çiğ karışım halde bulunan 2'li ve 3'lü karışımlar, geliştirilen bir diğer PLS-DA modeli ile 4 farklı grupta sınıflandırılabilmiştir. Pastörize örneklerin birbirinden ayrılması amacıyla geliştirilen PLS-DA modeli ile hem saf hem de karışım halde bulunan süt örnekleri başarıyla farklı gruplarda sınıflandırılabilmiştir.

Çalışma kapsamında geliştirilen 5 adet PLS-DA modeli ile sütlere uygulanan ısı işlem başarıyla belirlenebilmiş, ardından tüm saf ve karışım haldeki süt türleri birbirinden başarıyla ayrılabilmiştir. Keçi ve koyun sütü gibi maliyeti yüksek sütlerin daha düşük fiyatlı inek sütü gibi sütlerle karıştırılarak yapılan tağşiş türünün belirlenmesi amacıyla yüksek performanslı sıvı kromatografisi [94], polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) [95], kapiler elektroforez [96], jel elektroforezi [97] ve ELISA [98] gibi uzman gerektiren, uzun süren prosedürleri bulunan birçok metot kullanılabilmektedir. Tez kapsamında geliştirilen NIR reflektans spektrometresiyle yapılan bu çalışma ise sütlerde yapılan tağşişi diğer yöntemlere göre çok daha hızlı ve kolay şekilde belirleyebilmektedir.

Tez kapsamında yapılan son çalışmada ise geliştirilen 3 farklı NIR spektrometresiyle kanola ve hardal yağı karışımlarındaki erusik asit miktarını tayin edebilecek PLS modeline dayalı analiz metodu geliştirilmiştir. Aynı zamanda 3 farklı ölçüm modunun analiz metodunun performansına olan etkisi de araştırılmıştır. Farklı erusik asit miktarı içeren yağ örneklerinin hazırlanması amacıyla öncelikle soğuk sıkım hardal yağı ile rafine kanola yağları temin edilmiş ve GC ile yağların içeriğinde bulunan erusik asit miktarı (ağırlık/ağırlık) belirlenmiştir. Erusik asit miktarı % 0 ile % 27 arasında olacak şekilde yağ karışımları hazırlanmış ve reflektans, transmitans ve transflektans spektrometreleriyle örneklerin NIR spektrumları alınmıştır. Ardından bu spektrumlar ile 3 farklı ölçüm modu için 3 farklı PLS modeli geliştirilmiştir. Antep

fıstığı tağşişi çalışmasında olduğu gibi bu çalışmada da farklı 7 ön işlemin PLS modellerindeki performansı karşılaştırılmıştır. Reflektans spektrometresi ile geliştirilen PLS modeli standart normal değişken ön işlemiyle 8 temel bileşen sayısı ile kurulmuş, R^2 değerleri kalibrasyon ve validasyon için 0.994 ve 0.978, RMSEC, RMSECV ve RMSEP değerleri sırasıyla 0.7603, 1.0921 ve 1.4494 olarak bulunmuştur. Transmittans spektrometresi için geliştirilen model de-trend ön işlemi ile 7 temel bileşen sayısı ile geliştirilmiş, 0.993 ve 0.990 kalibrasyon ve validasyon R^2 değerleri ile 0.6807, 0.7927 ve 0.8318 RMSEC, RMSECV ve RMSEP değerleri bulunmuştur. Transflektans spektrometresi ile geliştirilen model ise 6 temel bileşen sayısı ile yüksek kalibrasyon (0.993) ve validasyon (0.991) R^2 değerleri ve düşük RMSEC (0.7373), RMSECV (0.9983) ve RMSEP (0.8840) değerleri ile kurulmuştur. Her 3 sistem için en iyi modelin seçilmesi sırasında 7 farklı ön işlem ile kurulan modeller arasında yukarıda verilen performans verilerinde neredeyse fark olmadığı görülmüştür. Ancak modellerin LOD ve LOQ değerlerine bakıldığında modellerin performansında büyük farklılıklar olduğu görülmüştür. Bu nedenle her sistem için en performanslı modelin seçilmesi sırasında kurulan modellerin LOD ve LOQ değerlerine bakılarak değerlendirme yapılmıştır. LOD ve LOQ değerleri reflektans spektrometresi ile kurulan model için % 0.15-% 0.75, transmittans spektrometresi ile kurulan model için % 0.11-% 0.56 ve transflektans spektrometresi ile kurulan model için % 0.26-% 1.30 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara bakılarak her 3 spektrometrenin hardal yağı-kanola yağı karışımlarında erusik asit miktarını hızlı ve kolay şekilde yüksek performanslı PLS modelleri ile tahmin edebildiği gösterilmiştir.

Farklı NIR ölçüm moduna sahip spektrometreler ile gıda analizlerinin geliştirilmesi ve sonuçlarının karşılaştırılması birçok araştırmacı tarafından yapılmaktadır [40, 99-101]. Ölçüm modlarından gelen spektrumların farklı bilgiler içerebilmesinden dolayı kemometrik metotlar sonucunda elde edilen veriler de farklı olabilmektedir. Bu nedenle erusik asit miktarının tayini çalışmasında 3 farklı spektrometre ile çalışılmış ve performansları kendi aralarında karşılaştırılmıştır. RMSEC, RMSECV ve RMSEP verilerine bakıldığında her 3 sistemin değerleri arasında kayda değer bir fark olmadığı görülmüş, kalibrasyon ve validasyon R^2 değerlerine bakıldığında ise reflektans spektrometresi ile elde edilen modelin validasyon veri setinde tahmin performansının biraz daha düşük olduğu görülmüştür. LOD ve LOQ değerlerine

bakıldığında, transmitans spektrometresi ile elde edilen modelin % 0.11 ve % 0.56 gibi değerler ile en iyi sonucu verdiği görölmüştür. Ancak genel olarak bakıldığında her 3 sistem ile elde edilen spektrumların içerdęi bilgilerin yüksek tahmin performansına sahip PLS modellerinin geliştirilmesi aşamasında kullanıldıği görölmüştür.



KAYNAKLAR

- [1] Tkachenko, N. V., Chapter 1 - Introduction. *Optical Spectroscopy*, (eds: Elsevier Science: Amsterdam, 1-14, **2006**.
- [2] Chernyshova, A. *Near- infrared (NIR) spectroscopy for food quality applications*. Master of Science, Purdue University, Indiana, USA, **2009**.
- [3] Porep, J. U.; Kammerer, D. R.; Carle, R., On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production, *Trends in Food Science & Technology*, 46, 211-230, **2015**.
- [4] Dufour, E., Principles of infrared spectroscopy, *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*, 3-27, **2009**.
- [5] Herold, B.; Kawano, S.; Sumpf, B.; Tillmann, P.; Walsh, K. B., VIS/NIR Spectroscopy. *Optical Monitoring of Fresh and Processed Agricultural Crops*, (eds: M., Z., 141-249, **2009**.
- [6] Burns, D. A.; Ciurczak, E. W., *Handbook of Near-Infrared Analysis, Third Edition*. CRC Press;**2007**.
- [7] Siesler, H. W.; Ozaki, Y.; Kawata, S.; Heise, H. M., *Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*. Wiley;**2008**.
- [8] Jha, S. N., Chapter 6 - Spectroscopy and Chemometrics. *Rapid Detection of Food Adulterants and Contaminants*, (eds: Academic Press: San Diego, 147-214, **2016**.
- [9] Lohumi, S.; Lee, S.; Lee, H.; Cho, B.-K., A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration, *Trends in Food Science & Technology*, 46, 85-98, **2015**.
- [10] Ozaki, Y., Morita, S. and Du, Y., Spectral Analysis. *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*, (eds: Y. Ozaki, W. F. M., A. A. Christy, **2006**.
- [11] Lin, M.; A Rasco, B.; G Cavinato, A.; Al-Holy, M., Chapter 6 - Infrared (IR) Spectroscopy—Near-Infrared Spectroscopy and Mid-Infrared Spectroscopy A2 - Sun, Da-Wen. *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*, (eds: Academic Press: San Diego, 119-143, **2009**.
- [12] Reich, G., Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1109-1143, **2005**.
- [13] Giovenzana, V. *Application of vis/NIR spectroscopy for ripeness evaluation and postharvest quality analysis of agro-food products*. PhD UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO, Italy, **2012**.
- [14] Blanco, M.; Villarroya, I., NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool, *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 21, 240-250, **2002**.
- [15] Tkachenko, N. V., Chapter 4 - Optical measurements. *Optical Spectroscopy*, (eds: Elsevier Science: Amsterdam, 61-87, **2006**.

- [16] Huang, H.; Yu, H.; Xu, H.; Ying, Y., Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review, *Journal of Food Engineering*, 87, 303-313, **2008**.
- [17] Bajcsy, R.; Lee, S. W.; Leonardis, A., Detection of diffuse and specular interface reflections and inter-reflections by color image segmentation, *International Journal of Computer Vision*, 17, 241-272, **1996**.
- [18] Pasquini, C., Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14, 198-219, **2003**.
- [19] Nicolaï, B. M.; Beullens, K.; Bobelyn, E.; Peirs, A.; Saeys, W.; Theron, K. I.; Lammertyn, J., Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review, *Postharvest Biology and Technology*, 46, 99-118, **2007**.
- [20] B.G., O., Near-Infrared Spectroscopy in Food Analysis. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, (eds: Meyers R. A., M. R. J., **2006**.
- [21] Li Yoon, W.; D. Jee, R.; C. Moffat, A.; D. Blackler, P.; Yeung, K.; C. Lee, D., Construction and transferability of a spectral library for the identification of common solvents by near-infrared transreflectance spectroscopy, *Analyst*, 124, 1197-1203, **1999**.
- [22] Roberts, J. J.; Cozzolino, D., An Overview on the Application of Chemometrics in Food Science and Technology—An Approach to Quantitative Data Analysis, *Food Analytical Methods*, 9, 3258-3267, **2016**.
- [23] Nunes, C. A., Vibrational spectroscopy and chemometrics to assess authenticity, adulteration and intrinsic quality parameters of edible oils and fats, *Food Research International*, 60, 255-261, **2014**.
- [24] Rinnan, Å.; Berg, F. v. d.; Engelsen, S. B., Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28, 1201-1222, **2009**.
- [25] Pizarro, C.; Esteban-Díez, I.; Nistal, A.-J.; González-Sáiz, J.-M. a., Influence of data pre-processing on the quantitative determination of the ash content and lipids in roasted coffee by near infrared spectroscopy, *Analytica Chimica Acta*, 509, 217-227, **2004**.
- [26] Barnes, R. J.; Dhanoa, M. S.; Lister, S. J., Standard Normal Variate Transformation and De-Trending of Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra, *Applied Spectroscopy*, 43, 772-777, **1989**.
- [27] Zeaiter, M.; Roger, J. M.; Bellon-Maurel, V., Robustness of models developed by multivariate calibration. Part II: The influence of pre-processing methods, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24, 437-445, **2005**.
- [28] Savitzky, A.; Golay, M. J. E., Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures, *Analytical Chemistry*, 36, 1627-1639, **1964**.
- [29] DeJong, S. A.; O'Brien, W. L.; Lu, Z.; Cassidy, B. M.; Morgan, S. L.; Myrick, M. L., Optimization of Gap Derivatives for Measuring Blood

- Concentration of Fabric Using Vibrational Spectroscopy, *Applied Spectroscopy*, 69, 733-748, **2015**.
- [30] Reinholds, I.; Bartkevics, V.; Silvis, I. C. J.; van Ruth, S. M.; Esslinger, S., Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review, *Journal of Food Composition and Analysis*, 44, 56-72, **2015**.
- [31] Westerhuis, J. A.; Hoefsloot, H. C. J.; Smit, S.; Vis, D. J.; Smilde, A. K.; van Velzen, E. J. J.; van Duynhoven, J. P. M.; van Dorsten, F. A., Assessment of PLSDA cross validation, *Metabolomics*, 4, 81-89, **2008**.
- [32] Rodionova, O. Y.; Titova, A. V.; Pomerantsev, A. L., Discriminant analysis is an inappropriate method of authentication, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 78, 17-22, **2016**.
- [33] Gondim, C. S.; Junqueira, R. G.; Souza, S. V. C., Trends in implementing the validation of qualitative methods of analysis, *Revista Do Instituto Adolfo Lutz*, 70, 433-447, **2011**.
- [34] Wold, S.; Sjöström, M.; Eriksson, L., PLS-regression: a basic tool of chemometrics, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58, 109-130, **2001**.
- [35] G., O. B., Near-Infrared Spectroscopy in Food Analysis. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, (eds: R. A. Meyers, R. J. M., **2006**.
- [36] Williams, P. C.; Sobering, D. C., Comparison of Commercial near Infrared Transmittance and Reflectance Instruments for Analysis of Whole Grains and Seeds, *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 1, 25-32, **1993**.
- [37] Salgó, A.; Gergely, S., Analysis of wheat grain development using NIR spectroscopy, *Journal of Cereal Science*, 56, 31-38, **2012**.
- [38] Mutlu, A. C.; Boyaci, I. H.; Genis, H. E.; Ozturk, R.; Basaran-Akgul, N.; Sanal, T.; Evlice, A. K., Prediction of wheat quality parameters using near-infrared spectroscopy and artificial neural networks, *European Food Research and Technology*, 233, 267-274, **2011**.
- [39] de la Roza-Delgado, B.; Garrido-Varo, A.; Soldado, A.; González Arrojo, A.; Cuevas Valdés, M.; Maroto, F.; Pérez-Marín, D., Matching portable NIRS instruments for in situ monitoring indicators of milk composition, *Food Control*, 76, 74-81, **2017**.
- [40] Núñez-Sánchez, N.; Martínez-Marín, A. L.; Polvillo, O.; Fernández-Cabanás, V. M.; Carrizosa, J.; Urrutia, B.; Serradilla, J. M., Near Infrared Spectroscopy (NIRS) for the determination of the milk fat fatty acid profile of goats, *Food Chemistry*, 190, 244-252, **2016**.
- [41] Wang, X.; Esquerre, C.; Downey, G.; Henihan, L.; O'Callaghan, D.; O'Donnell, C., Assessment of infant formula quality and composition using Vis-NIR, MIR and Raman process analytical technologies, *Talanta*, 183, 320-328, **2018**.
- [42] Chen, H.; Tan, C.; Lin, Z.; Wu, T., Classification and quantitation of milk powder by near-infrared spectroscopy and mutual information-based variable selection and partial least squares, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 189, 183-189, **2018**.

- [43] Balage, J. M.; da Luz e Silva, S.; Gomide, C. A.; Bonin, M. d. N.; Figueira, A. C., Predicting pork quality using Vis/NIR spectroscopy, *Meat Science*, 108, 37-43, **2015**.
- [44] Pieszczyk, L.; Czarnik-Matusiewicz, H.; Daszykowski, M., Identification of ground meat species using near-infrared spectroscopy and class modeling techniques – Aspects of optimization and validation using a one-class classification model, *Meat Science*, 139, 15-24, **2018**.
- [45] Prieto, N.; López-Campos, Ó.; Aalhus, J. L.; Dugan, M. E. R.; Juárez, M.; Uttaro, B., Use of near infrared spectroscopy for estimating meat chemical composition, quality traits and fatty acid content from cattle fed sunflower or flaxseed, *Meat Science*, 98, 279-288, **2014**.
- [46] Ripoll, G.; Lobón, S.; Joy, M., Use of visible and near infrared reflectance spectra to predict lipid peroxidation of light lamb meat and discriminate dam's feeding systems, *Meat Science*, 143, 24-29, **2018**.
- [47] Sone, I.; Olsen, R. L.; Dahl, R.; Heia, K., Visible/Near-Infrared Spectroscopy Detects Autolytic Changes during Storage of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.), *Journal of Food Science*, 76, S203-S209, **2011**.
- [48] Sone, I.; Olsen, R. L.; Sivertsen, A. H.; Eilertsen, G.; Heia, K., Classification of fresh Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets stored under different atmospheres by hyperspectral imaging, *Journal of Food Engineering*, 109, 482-489, **2012**.
- [49] Moore, J. C.; Spink, J.; Lipp, M., Development and Application of a Database of Food Ingredient Fraud and Economically Motivated Adulteration from 1980 to 2010, *Journal of Food Science*, 77, R118-R126, **2012**.
- [50] Uysal, R. S.; Boyaci, I. H.; Genis, H. E.; Tamer, U., Determination of butter adulteration with margarine using Raman spectroscopy, *Food Chemistry*, 141, 4397-4403, **2013**.
- [51] Cocchi, M.; Durante, C.; Foca, G.; Marchetti, A.; Tassi, L.; Ulrici, A., Durum wheat adulteration detection by NIR spectroscopy multivariate calibration, *Talanta*, 68, 1505-1511, **2006**.
- [52] Bazar, G.; Romvari, R.; Szabo, A.; Somogyi, T.; Eles, V.; Tsenkova, R., NIR detection of honey adulteration reveals differences in water spectral pattern, *Food Chemistry*, 194, 873-880, **2016**.
- [53] Azad, T.; Ahmed, S., Common milk adulteration and their detection techniques, *International Journal of Food Contamination*, 3, 22, **2016**.
- [54] Basri, K. N.; Hussain, M. N.; Bakar, J.; Sharif, Z.; Khir, M. F. A.; Zoolfakar, A. S., Classification and quantification of palm oil adulteration via portable NIR spectroscopy, *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 173, 335-342, **2017**.
- [55] Christy, A. A.; Kasemsumran, S.; Du, Y. P.; Ozaki, Y., The detection and quantification of adulteration in olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometrics, *Analytical Sciences*, 20, 935-940, **2004**.

- [56] Alamprese, C.; Casale, M.; Sinelli, N.; Lanteri, S.; Casiraghi, E., Detection of minced beef adulteration with turkey meat by UV-vis, NIR and MIR spectroscopy, *Lwt-Food Science and Technology*, 53, 225-232, **2013**.
- [57] Das, S.; Sivaramakrishna, M.; Biswas, K.; Goswami, B., Performance study of a 'constant phase angle based' impedance sensor to detect milk adulteration, *Sensors and Actuators a-Physical*, 167, 273-278, **2011**.
- [58] Kasemsumran, S.; Thanapase, W.; Kiatsoonthon, A., Feasibility of Near-Infrared Spectroscopy to Detect and to Quantify Adulterants in Cow Milk, *Analytical Sciences*, 23, 907-910, **2007**.
- [59] Mabrook, M. F.; Petty, M. C., Application of electrical admittance measurements to the quality control of milk, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 84, 136-141, **2002**.
- [60] Mabrook, M. F.; Petty, M. C., A novel technique for the detection of added water to full fat milk using single frequency admittance measurements, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 96, 215-218, **2003**.
- [61] Moncayo, S.; Manzoor, S.; Rosales, J. D.; Anzano, J.; Caceres, J. O., Qualitative and quantitative analysis of milk for the detection of adulteration by Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), *Food Chemistry*, 232, 322-328, **2017**.
- [62] Pei, X.; Tandon, A.; Alldrick, A.; Giorgi, L.; Huang, W.; Yang, R., The China melamine milk scandal and its implications for food safety regulation, *Food Policy*, 36, 412-420, **2011**.
- [63] Eksi-Kocak, H.; Montes-Yilmaz, O.; Boyaci, I. H., Detection of green pea adulteration in pistachio nut granules by using Raman hyperspectral imaging, *European Food Research and Technology*, 242, 271-277, **2016**.
- [64] Durakli Velioglu, S.; Temiz, H. T.; Ercioglu, E.; Velioglu, H. M.; Topcu, A.; Boyaci, I. H., Use of Raman spectroscopy for determining erucic acid content in canola oil, *Food Chemistry*, 221, 87-90, **2017**.
- [65] Wendlinger, C.; Hammann, S.; Vetter, W., Various concentrations of erucic acid in mustard oil and mustard, *Food Chemistry*, 153, 393-397, **2014**.
- [66] Cui, Y. X. *Study and Development of near-Infrared Reflective and Absorptive Materials for Energy Saving Application*. Doctor of Philosophy, Carleton University, Canada, **2011**.
- [67] Lourenço, N. D.; Lopes, J. A.; Almeida, C. F.; Sarraguça, M. C.; Pinheiro, H. M., Bioreactor monitoring with spectroscopy and chemometrics: a review, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404, 1211-1237, **2012**.
- [68] Fox, P. F.; Guinee, T. P.; Cogan, T. M.; McSweeney, P. L. H., Bacteriology of Cheese Milk. *Fundamentals of Cheese Science*, (eds: Springer US: Boston, MA, 105-120, **2017**.
- [69] Pulido, A.; Ruisánchez, I.; Boqué, R.; Rius, F. X., Uncertainty of results in routine qualitative analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22, 647-654, **2003**.

- [70] Wise, B. M.; Gallagher, N. B.; Bro, R.; Shaver, J.; Windig, W.; Koch, R. S., PLS Toolbox 4.0, *Eigenvector Research Incorporated: Wenatchee, WA, USA*, **2007**.
- [71] Trullols, E.; Ruisánchez, I.; Rius, F. X., Validation of qualitative analytical methods, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23, 137-145, **2004**.
- [72] Metcalfe, L. D.; Schmitz, A. A., IUPAC Method 2.301: Preparation of fatty acid methyl esters. In 7 ed.; Blackwell Science, Oxford, UK.: 1987; p Section 2.
- [73] Kawata, S., New Techniques in Near-Infrared Spectroscopy. *Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*, (eds: Siesler H. W., O. Y., Kawata S. and Heise H. M. , Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, 75 – 84, **2002**.
- [74] Alcalà, M.; Blanco, M.; Moyano, D.; Broad, N. W.; O'Brien, N.; Friedrich, D.; Pfeifer, F.; Siesler, H. W., Qualitative and Quantitative Pharmaceutical Analysis with a Novel Hand-Held Miniature near Infrared Spectrometer, *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 21, 445-457, **2013**.
- [75] Gondal, M. A.; Seddigi, Z. S.; Nasr, M. M.; Gondal, B., Spectroscopic detection of health hazardous contaminants in lipstick using Laser Induced Breakdown Spectroscopy, *Journal of Hazardous Materials*, 175, 726-732, **2010**.
- [76] Temiz, H. T.; Tamer, U.; Berkkan, A.; Boyaci, I. H., Synchronous fluorescence spectroscopy for determination of tahini adulteration, *Talanta*, 167, 557-562, **2017**.
- [77] Huth-Fehre, T.; Feldhoff, R.; Kantimm, T.; Quick, L.; Winter, F.; Cammann, K.; van den Broek, W.; Wienke, D.; Melssen, W.; Buydens, L., NIR - Remote sensing and artificial neural networks for rapid identification of post consumer plastics, *Journal of Molecular Structure*, 348, 143-146, **1995**.
- [78] Aernouts, B.; Polshin, E.; Lammertyn, J.; Saeys, W., Visible and near-infrared spectroscopic analysis of raw milk for cow health monitoring: Reflectance or transmittance?, *Journal of Dairy Science*, 94, 5315-5329, **2011**.
- [79] Cayuela, J. A.; García, J. F., Nondestructive measurement of squalene in olive oil by near infrared spectroscopy, *LWT - Food Science and Technology*, 88, 103-108, **2018**.
- [80] Vitale, R.; Bevilacqua, M.; Bucci, R.; Magrì, A. D.; Magrì, A. L.; Marini, F., A rapid and non-invasive method for authenticating the origin of pistachio samples by NIR spectroscopy and chemometrics, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 121, 90-99, **2013**.
- [81] Lise, K.; Tomas, I.; J, R. H., Prediction of sensory quality by near infrared reflectance analysis of frozen and freeze dried green peas (*Pisum sativum*), *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51, 247-260, **1990**.

- [82] Lara, M. A.; Lleó, L.; Diezma-Iglesias, B.; Roger, J. M.; Ruiz-Altisent, M., Monitoring spinach shelf-life with hyperspectral image through packaging films, *Journal of Food Engineering*, 119, 353-361, **2013**.
- [83] Ryan, E.; Galvin, K.; O'Connor, T. P.; Maguire, A. R.; O'Brien, N. M., Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 219-228, **2006**.
- [84] Kucukoner, E.; Yurt, B., Some chemical characteristics of Pistacia vera varieties produced in Turkey, *European Food Research and Technology*, 217, 308-310, **2003**.
- [85] Cuadrado, M. U.; de Castro, M. D. L.; Juan, P. M. N.; Gomez-Nieto, M. A., Comparison and joint use of near infrared spectroscopy and Fourier transform mid infrared spectroscopy for the determination of wine parameters, *Talanta*, 66, 218-224, **2005**.
- [86] JS, S.; MO, W., Calibration the ISI way. *Near infrared spectroscopy: the future waves.*, Davies AMC, Williams P (eds: NIR Publications: Chichester, 198-202, **1996**.
- [87] Gondal, M. A.; Seddigi, Z. S.; Nasr, M. M.; Gondal, B., Spectroscopic detection of health hazardous contaminants in lipstick using Laser Induced Breakdown Spectroscopy, *Journal of Hazardous Materials*, 175, 726-732, **2010**.
- [88] Meilina, H.; Kuroki, S.; Jinendra, B. M.; Ikuta, K.; Tsenkova, R., Double threshold method for mastitis diagnosis based on NIR spectra of raw milk and chemometrics, *Biosystems Engineering*, 104, 243-249, **2009**.
- [89] Melfsen, A.; Hartung, E.; Haeussermann, A., Accuracy of milk composition analysis with near infrared spectroscopy in diffuse reflection mode, *Biosystems Engineering*, 112, 210-217, **2012**.
- [90] Chen, H.; Tan, C.; Lin, Z.; Wu, T., Detection of melamine adulteration in milk by near-infrared spectroscopy and one-class partial least squares, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 173, 832-836, **2017**.
- [91] Mba, O.; Adewale, P.; Dumont, M.-J.; Ngadi, M., Application of near-infrared spectroscopy to characterize binary blends of palm and canola oils, *Industrial Crops and Products*, 61, 472-478, **2014**.
- [92] Petisco, C.; García-Criado, B.; Vázquez-de-Aldana, B. R.; de Haro, A.; García-Ciudad, A., Measurement of quality parameters in intact seeds of Brassica species using visible and near-infrared spectroscopy, *Industrial Crops and Products*, 32, 139-146, **2010**.
- [93] Yuan, J.; Wang, C.; Chen, H.; Zhou, H.; Ye, J., Prediction of fatty acid composition in Camellia oleifera oil by near infrared transmittance spectroscopy (NITS), *Food Chemistry*, 138, 1657-1662, **2013**.
- [94] Ren-Kun, C.; Li-Wen, C.; Ya-Yun, C.; Ming-Hsung, L.; Yong-Chien, L., Quantification of cow milk adulteration in goat milk using high-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18, 1167-1171, **2004**.

- [95] Cheng, Y. H.; Chen, S. D.; Weng, C. F., Investigation of goats' milk adulteration with cows' milk by PCR, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19, 1503-1507, **2006**.
- [96] Molina, E.; Jesús Martín-Álvarez, P.; Ramos, M., Analysis of cows', ewes' and goats' milk mixtures by capillary electrophoresis: quantification by multivariate regression analysis, *International Dairy Journal*, 9, 99-105, **1999**.
- [97] Kim, H. Y.; Jimenez-Flores, R., TWO-DIMENSIONAL ANALYSIS OF SKIM MILK PROTEINS USING PREPARATIVE ISOELECTRIC FOCUSING FOLLOWED BY POLYACRYLAMIDE GEL ELECTROPHORESIS, *Journal of Food Biochemistry*, 16, 307-321, **1992**.
- [98] Song, H.; Xue, H.; Han, Y., Detection of cow's milk in Shaanxi goat's milk with an ELISA assay, *Food Control*, 22, 883-887, **2011**.
- [99] Xing, J.; Guyer, D., Comparison of transmittance and reflectance to detect insect infestation in Montmorency tart cherry, *Computers and Electronics in Agriculture*, 64, 194-201, **2008**.
- [100] Rodriguez-Saona, L. E.; Fry, F. S.; McLaughlin, M. A.; Calvey, E. M., Rapid analysis of sugars in fruit juices by FT-NIR spectroscopy, *Carbohydrate Research*, 336, 63-74, **2001**.
- [101] Cayuela, J. A.; García, J. F., Sorting olive oil based on alpha-tocopherol and total tocopherol content using near-infra-red spectroscopy (NIRS) analysis, *Journal of Food Engineering*, 202, 79-88, **2017**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Hüseyin Efe GENİŞ

Doğum Yeri: Mersin

Medeni Hali: Evli

E-posta: efegenis@hacettepe.edu.tr

Adresi: Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Beytepe Kampüsü
Çankaya/Ankara

Eğitim

Lise: İçel Anadolu Lisesi (2001-2005)

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2005-2010)

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2010-2012)

Doktora: Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2012-2018)

Yabancı Dil Düzeyi

İngilizce (İyi seviye)

İş Deneyimi

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü (ÖYP)

Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü (35. Madde Görevlendirme)

Deneyim Alanları

- Spektroskopi (Raman, NIR)
- Veri Analizi (Kemometrik Metotlar, Yapay Sinir Ağları)
- Gıda Güvenliği ve Kalitesi

Tezden üretilmiş Projeler ve Bütçesi

- 552.STZ.2013-2 kodlu “Hızlı Gıda Analizlerine Yönelik NIR Sisteminin Geliştirilmesi” adlı Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı San-Tez Projesi.

Lisansüstü Eğitimi Boyunca Üretilmiş Yayınlar

- Mutlu A.C., Boyacı, I.H., Genis H.E., Ozturk, R., Basaran-Akgul, N., Sanal T., Evlice A.K., Prediction of wheat quality parameters using near-infrared spectroscopy and artificial neural networks, European Food Research and Technology, 2011, 233, 267-274.
- Boyacı, I.H., Genis, H.E., Guven, B., Tamer, U., Alper, N., A novel method for quantification of ethanol and methanol in distilled alcoholic beverages using Raman spectroscopy, Journal of Raman Spectroscopy, 2013, 43, 1171–1176.
- Uysal R.S., Boyacı, I.H., Genis H.E., Tamer, U., Determination of butter adulteration with margarine using Raman Spectroscopy, Food Chemistry, 2013, 141, 4397-4403.
- Boyacı, I.H., Temiz H.T., Genis, H.E., Acar-Soykut, E., Yazgan, N.N., Guven, B., Uysal, R.S., Bozkurt, A.G., İlaslan, K., Torun, O., Dudak-Seker, F.C., Dispersive and FT-Raman spectroscopic methods in food analysis, RSC Advances, 2015, 5, 56606-56624
- Durna Ş., Yetişemiyen A., Genis H.E., Boyacı, I.H., Yakın-Kızılötesi (NIR) Spektroskopisi Kullanılarak Koyun, Keçi ve İnek Sütlerinin Tanımlanması, Akademik Gıda, 2016, 14, 382-387.

Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

- A.C. Mutlu, H.E. Genis, R. Ozturk, N. Basaran-Akgul, T. Sanal, A. Kaplan Evlice and I.H. Boyacı. "Determination of Wheat Quality Parameters Based on Near Infrared Spectroscopy and Artificial Neural Network". Poster Sunumu, The 1st International Congress on Food Technology, 2010, 03-06 Kasım, Antalya, TÜRKİYE.
- Guven. B., Boyacı I.H., Genis, H.E., Tamer, U., "A Novel Method for Detection of Ethanol and Methanol in Distilled Alcoholic Beverages Using Raman Spectroscopy". Poster Sunumu, Pittcon Conference and Exposition, 2012, 11-15 Mart, Orlando, AMERİKA BİRLEŞİK DEVLETLERİ.
- Uysal, R. S., Genis, H. E., Boyacı, I. H. and Tamer, U. "Quantification of

Butter Adulteration with Margarine Using Raman Spectroscopy". Poster Sunumu, Pittcon Conference & Expo, 2013, 17-21 Mart, Philadelphia, AMERİKA BİRLEŞİK DEVLETLERİ.

- Uysal, R. S., Geniş, H. E., Boyacı, İ. H., Acar, E. A., "Rapid Determination of Yolk-Albumen Ratio in Liquid Whole Egg by NIR Spectroscopy". Poster Sunumu, Selectbio Food Analysis Congress, 2014, 29-30 Ekim, Barselona, İSPANYA.





**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU**

**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA**

Tarih: 12/06/2018

Tez Başlığı / Konusu: Hızlı Gıda Analizlerine Yönelik Yakın Kızılötesi Spektroskopisi (NIR) Sisteminin Geliştirilmesi

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 115 sayfalık kısmına ilişkin, 12/06/2018 tarihinde tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %1'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/~~dâhil~~
- 3- 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

12.06.2018

Adı Soyadı: Hüseyin Efe Geniş
Öğrenci No: N12143483
Anabilim Dalı: Gıda Mühendisliği
Programı: Gıda Mühendisliği
Statüsü: ☐ Y.Lisans ☒ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI