



GIDA İZLENEBİLİRLİĞİNDE KARARLI İZOTOP ÖLÇÜMLERİNİN UYGULANMASI

Pelin YÜCEL; Hülya GÜÇLÜ; Yüksel MERT; Okan OKTAR; Turhan KÖSEOĞLU

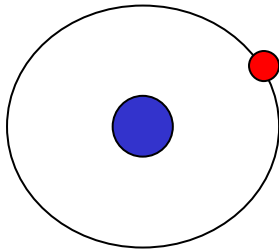
**Türkiye Atom Enerjisi Kurumu
Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi**

<http://www.taek.gov.tr/sanaem.html>

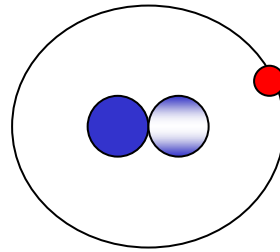
İzotop Kavramı

İzotoplar, çekirdeklerinde aynı sayıda protona sahip olmalarına rağmen nötron sayıları farklı olan atomlardır. Bu nedenle izotopların atom numaraları aynı olmakla birlikte atom ağırlıkları dolayısıyla nükleer özellikleri birbirlerinden farklıdır.

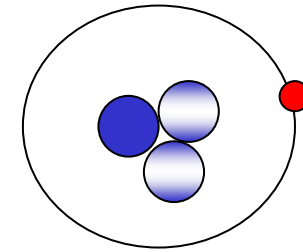
Hidrojen ^1H



Döteryum ^2H



Tritiyum ^3H



Proton

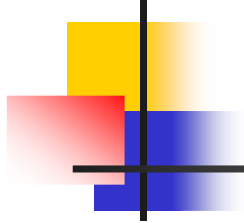


Nötron



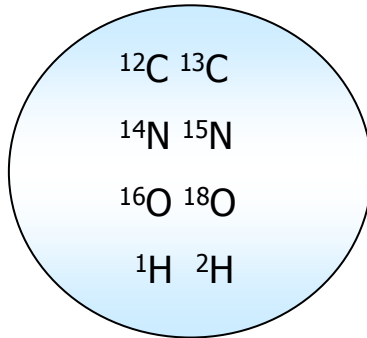
Elektron

İzotop Kavramı II

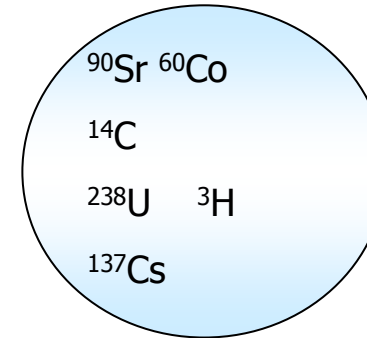


İZOTOPLAR

Kararlı (Stable)



Kararsız (Radyoaktif)



Radyoaktif izotoplar, radyoaktif bozunma (α -bozunması, β -bozunması vb.) yolu ile başka bir elemente dönüşen izotoplar

Kararlı izotoplar, radyoaktif bozunma göstermeyen izotoplar

Kararlı İzotoplar I

Element	İzotop	Bolluk (%)
Hidrojen	^1H	99,985
	^2H (D)	0,015
Karbon	^{12}C	98,890
	^{13}C	1,110
Azot	^{14}N	99,635
	^{15}N	0,365
Oksijen	^{16}O	99,760
	^{17}O	0,040
	^{18}O	0,200

Kararlı İzotoplar II

Bir atomun kimyasal davranışı büyük oranda atomun elektronik yapısı tarafından belirlenir, farklı izotoplar hemen hemen benzer kimyasal özellikler göstermelerine rağmen farklı fiziksel özelliklere sahiptirler.

$^1\text{H}_2\text{O}$ ve $^2\text{H}_2\text{O}$ 'nun Fiziksel Özellikleri

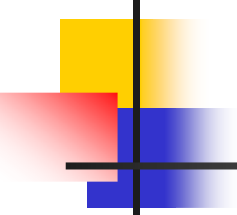
Özellik	$^1\text{H}_2\text{O}$	$^2\text{H}_2\text{O}$
Molekül ağırlığı	18,04558	20,02823
Erime noktası (°C)	0,00	3,813
Kaynama noktası (°C)	100,00	101,43
Buhar basıncı (toor)	17,54	15,24
Yoğunluk (g/mL)	0,998232	1,10536
Solubility NaCl (25°C)	35,92	30,56

İzotop Terminolojisi I

İzotopik farklılıklar oldukça küçüktür. Bu nedenle doğal izotopik bileşimdeki çok küçük değişimleri göstermek için **per mil (‰)** olarak “**Delta , δ** ” gösterimi tanımlanmıştır.

Kararlı İzotop	Kütle farkı (%)
$^2\text{H}/^1\text{H}$	0,015 57
$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	1,111 40
$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	0,366 30
$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,200 04
$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	4,215 00

↓
Kararlı izotop analizlerinde
bilgi sağlanan basamak



İzotop Terminolojisi II

Delta (δ) değeri bir orandır ve belli bir elementin izotop oranının uluslararası kabul edilmiş bir birincil standardın izotop oranından olan sapmasını gösterir. Birimi (‰)_{std} (per mil): binde sapma

$$\delta (\text{‰}) = ([R_{\text{samp.}} / R_{\text{std}}] / R_{\text{std.}}) * 1000$$

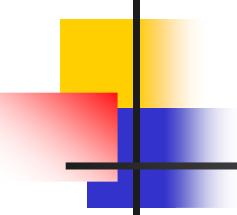
R= Bir elementin ağır izotopunun hafif izotopuna molar oranı.

$$\delta ^{13}\text{C} (\text{‰})_{\text{V-PDB}} = ([^{13}\text{C}/^{12}\text{C}]_{\text{samp}} / ([^{13}\text{C}/^{12}\text{C}]_{\text{std}} - 1) * 1000$$



İzotop Terminolojisi III

- * Delta değerleri oran ifade eder. Bu nedenle % Atom veya Molarite gösterimleriyle aynı değildir.
- * Delta değerleri sadece karşılaştırma için kullanılır.
- * Delta değerleri bazı matematiksel hesaplamalar kullanılarak konsantrasyon birimlerine çevrilebilir.
- * Delta değerlerinin karşılaştırılabilmesi için aynı skalada olmaları gerekir. (Örneğin, ^{18}O için V-SMOW)



İzotop Terminolojisi IV

Analiz edilen bir örneğin **negatif delta değerine sahip olması, analiz örneğinin standarda oranla ağır izotop açısından fakir (depleted) olduğunu, pozitif delta değerine sahip olması ise ağır izotop açısından standard maddeye göre zengin (enriched) olduğunu gösterir.** Farklı izotoplar için farklı standartlar kullanılır.

$\delta^{18}\text{O} = +5 \text{ ‰}$ standarda göre ^{18}O bakımından 1000 de 5 zenginleşmiş

$\delta^{18}\text{O} = -5 \text{ ‰}$ standarda göre ^{18}O bakımından 1000 de 5 fakirleşmiş

İzotop Terminolojisi V

Uluslar arası birincil izotop standartlar ve izotop oranları

Element	Ölçülen Gaz	Ölçülen Oran(R)	Uluslar arası Standard	δ değeri	R
Hidrojen	H ₂ (3/2)	2H/1H	V-SMOV	0	0,0001575
		2H/1H	SLAP	-428	0,0008909
Oksijen	CO, CO ₂ (30/28, 46/44)	18O/16O	V-SMOV	0	0,0020252
		18O/16O	SLAP	-55,5	0,0018939
Azot	N ₂ (29/28)	15/14	Hava	0	0,0036765
Karbon	CO ₂ (45/44)	13C/12C	V-PDB	0	0,0112372



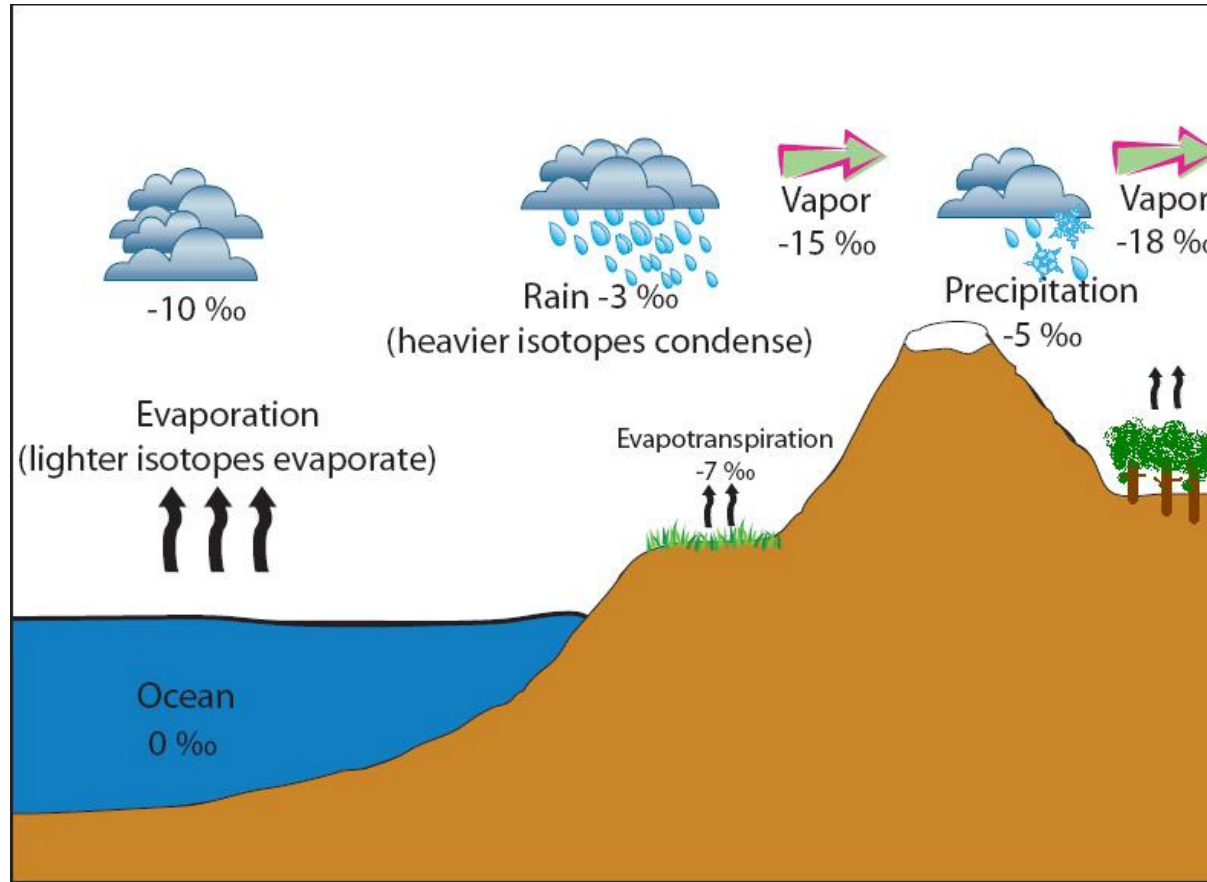
İzotopik Ayrışma (fractionation) I

İzotopik ayrışma fiziksel, kimyasal veya biyolojik süreçlerin neden olduğu atomların izotopik bolluk oranındaki değişimdir. Moleküller, faz değiştirdiklerinde (su → su buharı gibi) aynı izotopik bileşimde bulunmazlar. Ağır izotoplar daha az hareketlidir.

İzotopik ayrışmaya her bir izotopun azda olsa farklı bağ enerjilerine sahip olması neden olur. Bağlanma enerjileri ve reaksiyon hızları arasındaki fark izotoplar arasındaki kütle farkıyla orantılıdır.

Bir çok proses için (buharlaşma, yoğunlaşma vb.) bu durum, başlangıç maddesine göre izotopik olarak zenginleşmiş veya fakirleşmiş reaksiyon ürününün meydana gelmesiyle sonuçlanır.

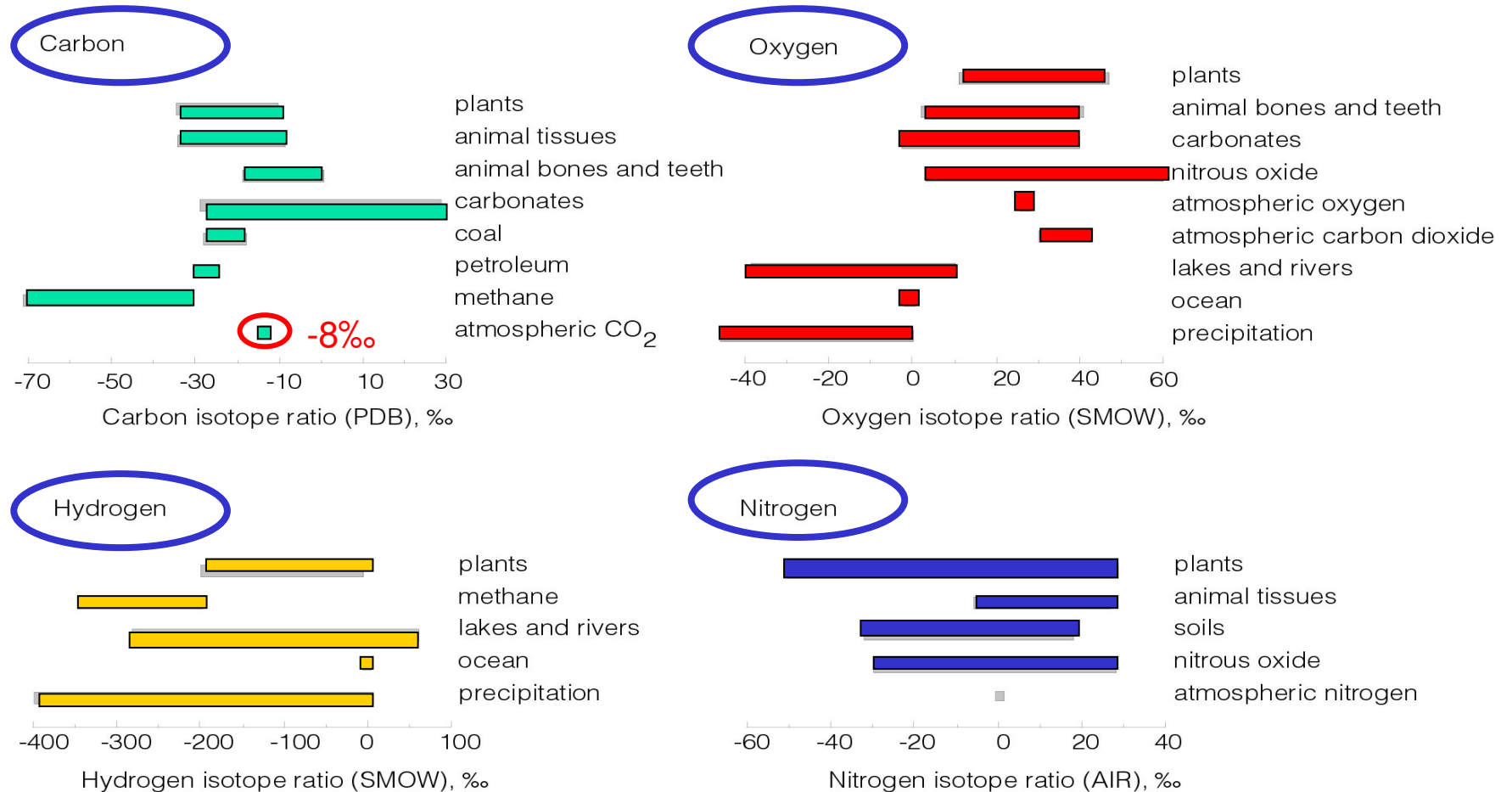
İzotopik Ayrışma (fractionation) II



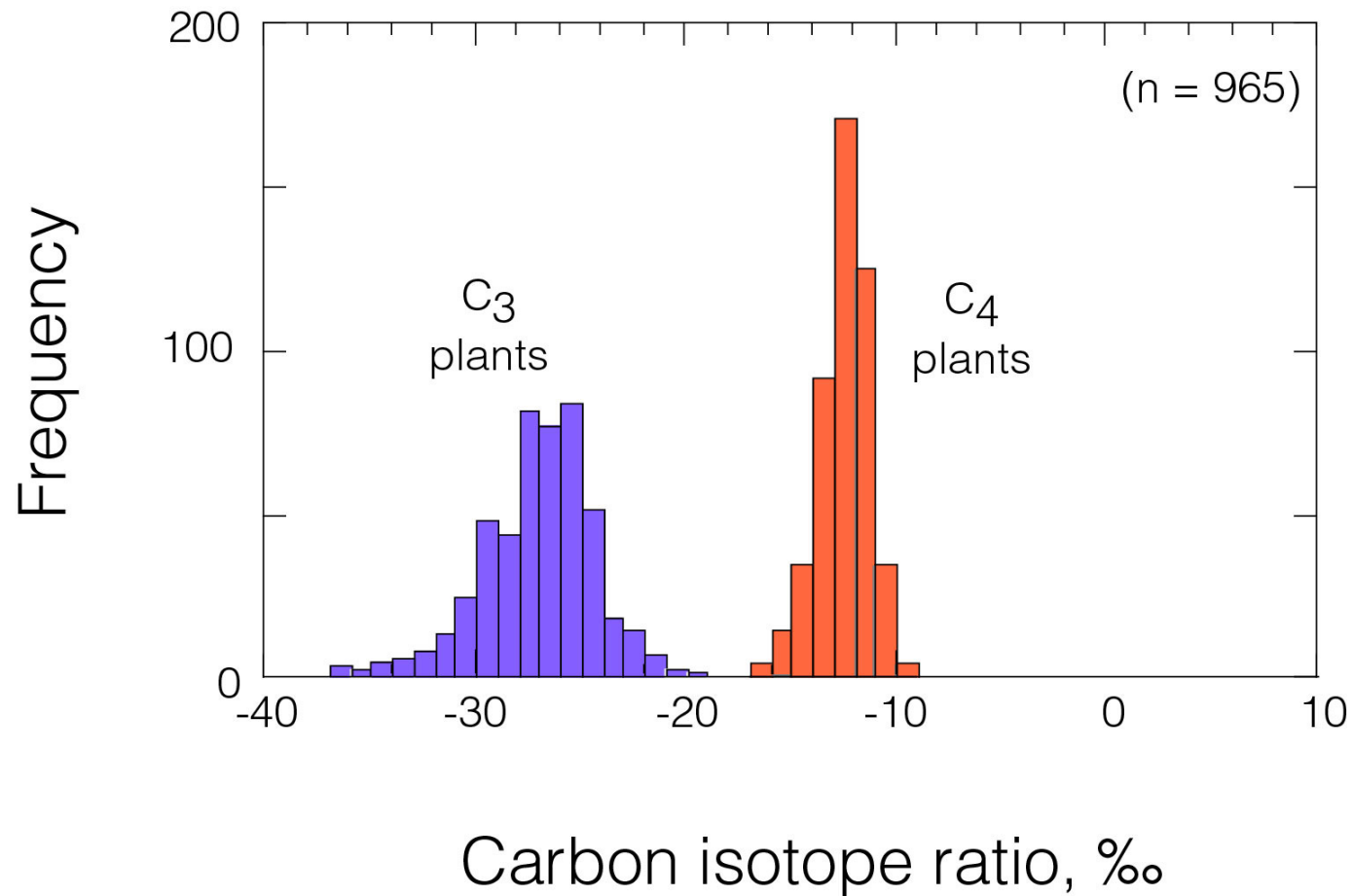
Buharlaşma, yoğunlaşma ve evapotranspirasyon yolu ile izotop ayrışması

İzotopik Ayrışma (fractionation) III

İzotop Oranlarının Doğal Aralıkları



İzotopik Ayrımlaşma (fractionation) IV



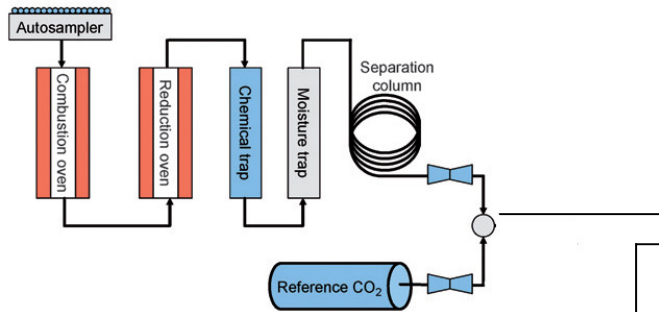
İzotop Oranı Kütle Spektrometrisi (**I**sotope **R**atio **M**ass **S**pectrometry-**IRMS**) Çalışma Prensipleri I

Adım 1: IRMS ile sadece gaz halindeki organik örnekler analiz edilebilir. Bu nedenle analiz öncesi numune gaz formuna çevrilir.

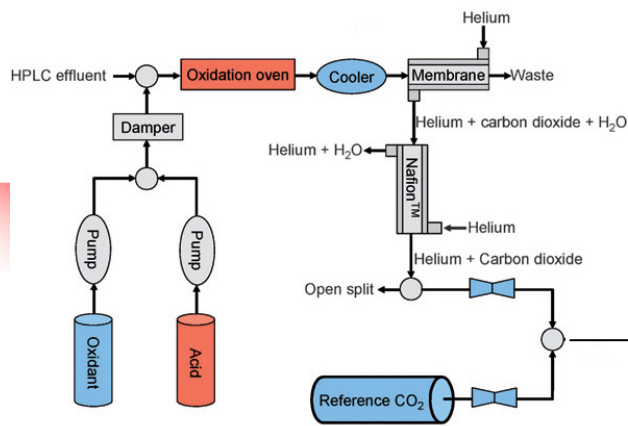
<u>İzotop Oranı</u>	<u>İzotopoloji</u>
$\delta^2\text{H}$ ($^2\text{H}/^1\text{H}$)	$^2\text{H}^1\text{H}/^1\text{H}^1\text{H}$
$\delta^{13}\text{C}$ ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)	$^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2/^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$
$\delta^{15}\text{N}$ ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$)	$^{15}\text{N}^{14}\text{N}/^{14}\text{N}^{14}\text{N}$
$\delta^{18}\text{O}$ ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$)	$^{12}\text{C}^{18}\text{O}/^{12}\text{C}^{16}\text{O}$

Adım 2: Numune iyonlaştırılır. Örneğin; $\text{H}_2 \rightarrow \text{H}^+$

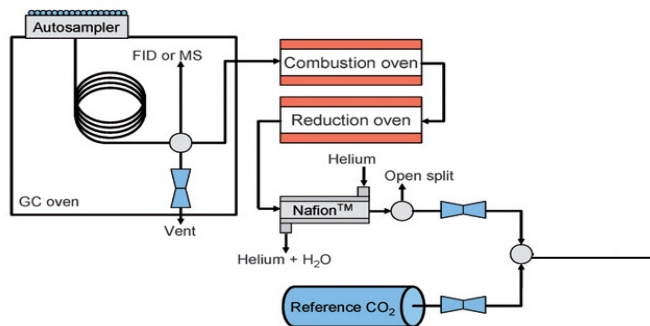
Adım 3: İyonik türler kütle ayırıcısına yönlendirilerek ayrılır.



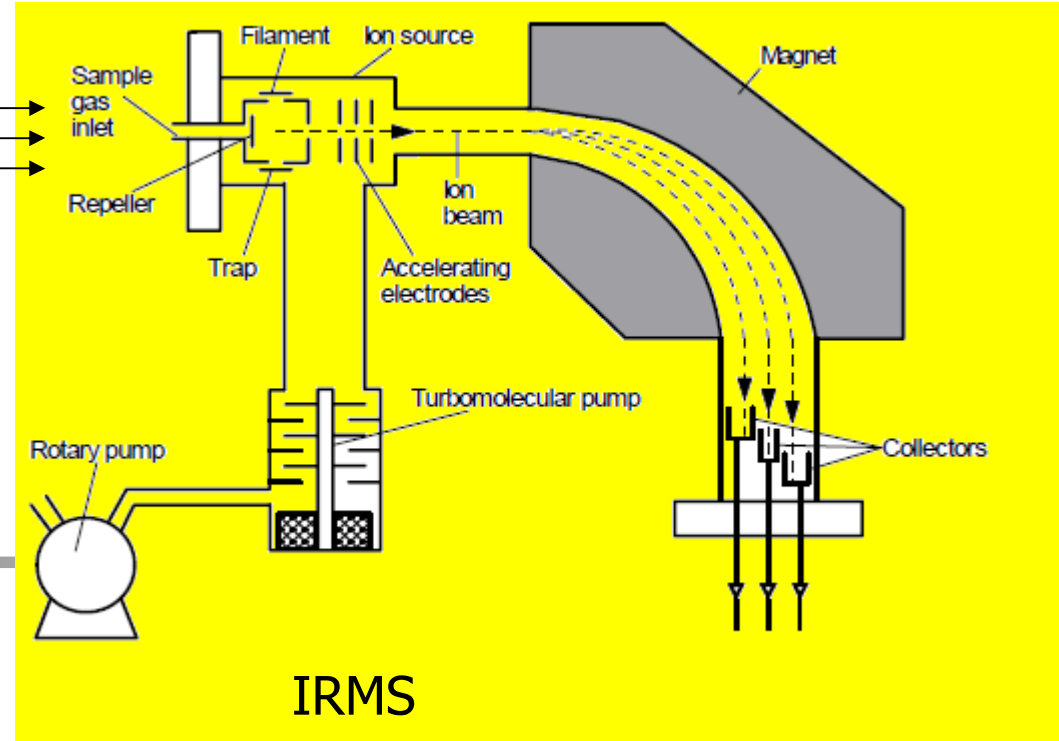
Elementel Analizör



Sıvı Kromatografi



Gaz Kromatografi

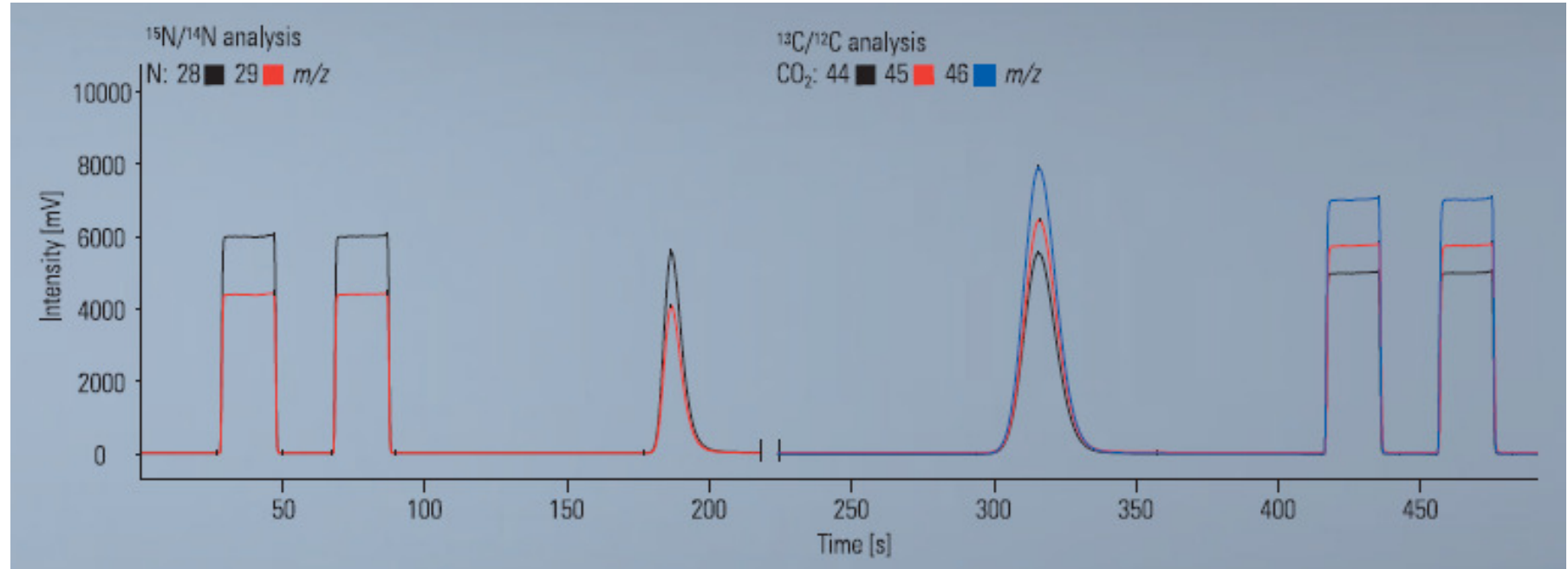


IRMS



Veri İşleme

İzotop Oranı Kütle Spektrometrisi (Isotope Ratio Mass Spectrometry-IRMS) Çalışma Prensipleri II

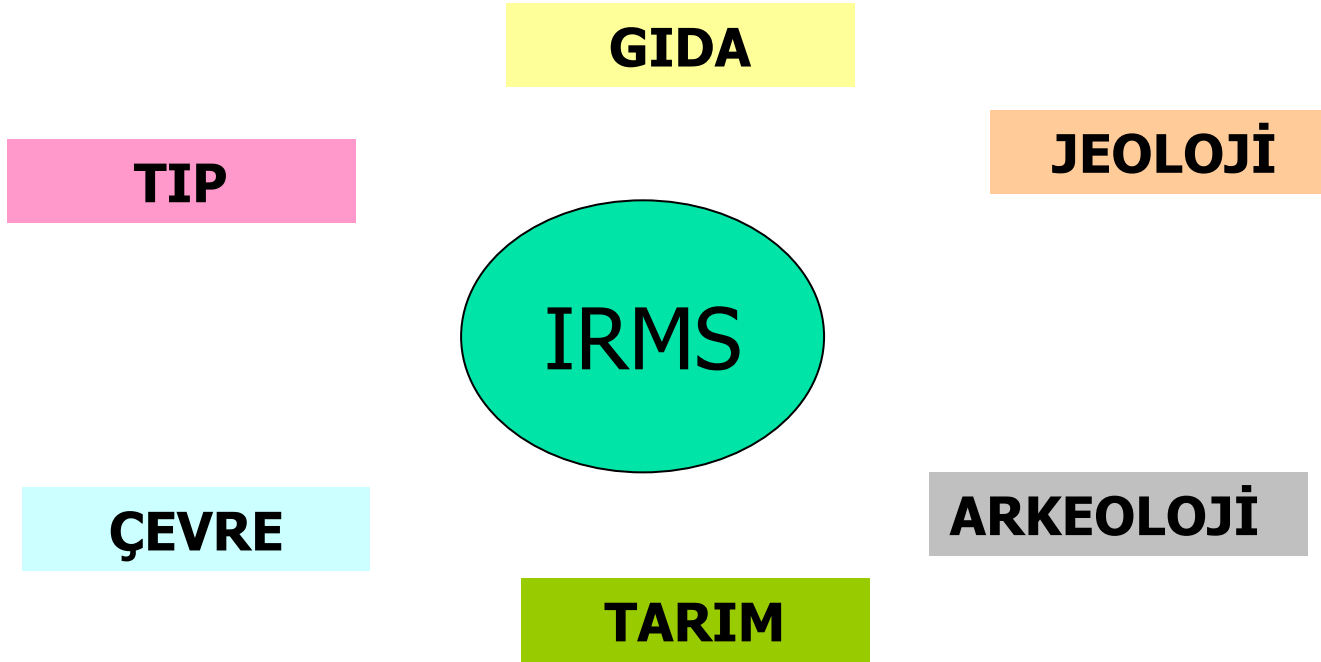
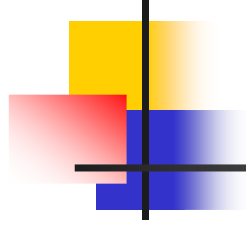


IRMS'den elde edilen bir kromatogram örneği

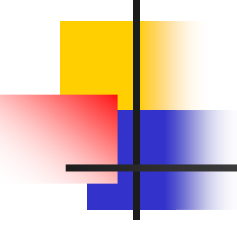
SANAEM IRMS Laboratuvarı



IRMS Uygulama Alanları



Gıdalarda İzlenebilirlik I



AB yasalarına göre gıdalarda izlenebilirlik (EC 178/2002) "üretim, işleme, dağıtımın tüm aşamalarında tüketilecek olan her türlü gıda, yem, gıdanın elde edildiği hayvan veya maddelerin izlenebilmesi" olarak tanımlanır.

Gıda Güvenliği (Food safety): Gıdalarda gıda kaynaklı hastalıklara yol açan mikrobiyolojik veya kimyasal kirlenme ve/veya kalıntıların olmaması için toplama, hazırlama ve depolama aşamalarını kapsayan bir disiplin olarak tanımlanabilir.



Gıdalarda İzlenebilirlik II

Tüketiciler



Gıda Güvenliği Paydaşları

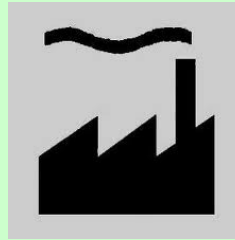
Üreticiler



Hükümetler



Sanayi



Bağımsız Kuruluşlar



Gıda Analizlerinde Kullanılan Analitik Teknikler

Prensip

Kullanılan Teknik

Kütle spektrometrisi

İzotop Oranı Kütle Spektrometrisi (IRMS)
İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometrisi (ICP-MS)
Proton Transfer Reaksiyon Kütle Spektrometrisi (PTR-MS)
Gaz Kromatografi Kütle Spektrometrisi (GC-MS)

Spektroskopi

Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometrisi (NMR)
İnfrared Spektroskopi (IR)
Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi (AAS)

Ayırma

Yüksek Performans Sıvı Kromatografi (HPLC)
Gaz Kromatografi (GC)
Kapiler Elektroforez (CE)

Diğer

Sensör teknolojisi
DNA teknolojisi

Gıdalarda Neden Hile Yapılır?

Gıdalarda adulteration (karıştırma) neden yapılır?

Fazla kazanç amaçlı

- Ürün niteliğini iyileştirmek
- Marka/Ürün yerdeğiřtirmesi
- Üretim maliyetlerini düşürmek

Kötü niyetli amaçlar

- Ürün/marka itibarını zedeleme
- Terör



DEODORANT

İzotopik Teknikler ve Gıda Güvenliği

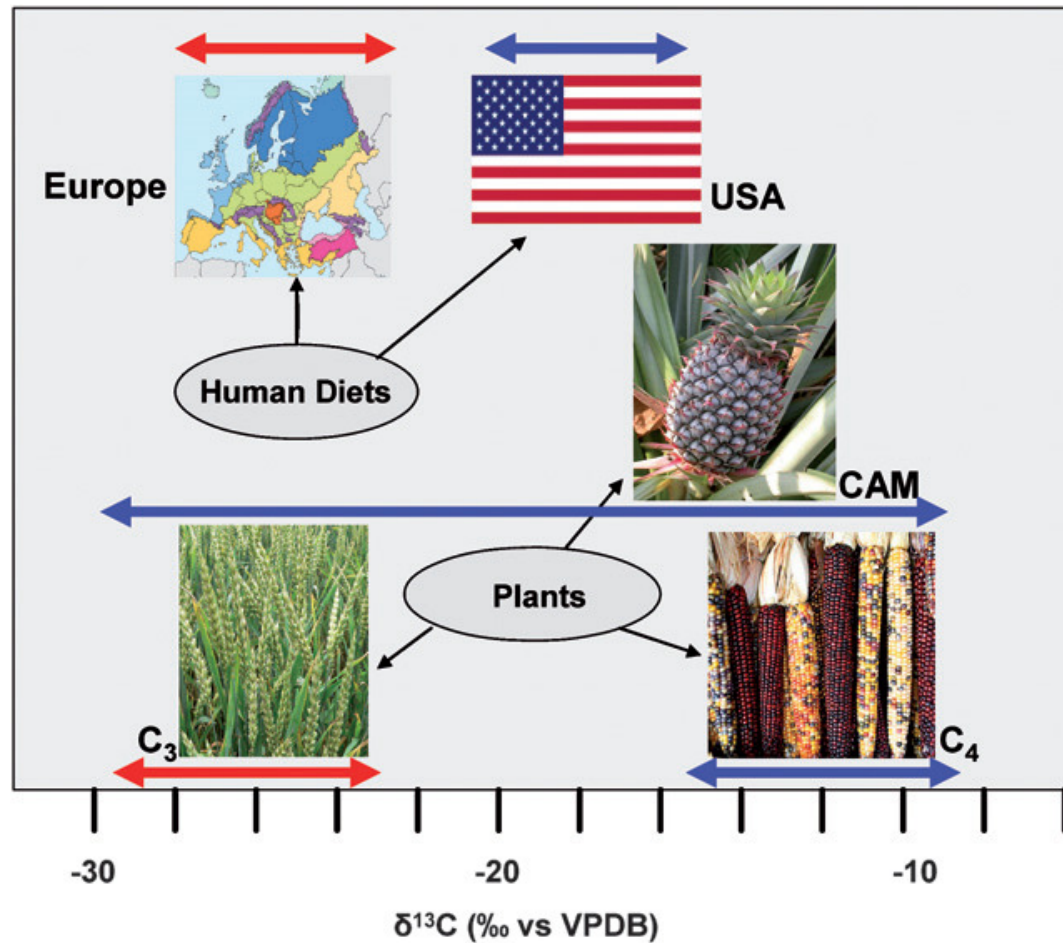
Ürün	Adulteration	Analiz
Meyve suları	Sulandırma	(D/H) ve ^{18}O -IRMS
Meyve suları	Tatlandırma	^{13}C -IRMS ve SNIF-NMR
Bal	Şeker kamışı veya dönüştürülmüş şekel ilavesi	^{13}C -IRMS
Aromalar, tatlar (vanilin raspberry, ketone,..)	Yanlış etiketleme (yapay ↔ doğal)	^{13}C -IRMS , ^{18}O -IRMS , SNIF-NMR
Alkollü içecekler	Yanlış etiketleme (coğrafi ve botanik orjinleri)	^{13}C -IRMS, ^{18}O -IRMS, SNIF-NMR, (D/H)
Şaraplar	Sulandırma	(D/H) , ^{18}O -IRMS
Şaraplar	Kaptalizasyon (şeker ekleme)	^{13}C -IRMS, SNIF-NMR
Zeytin yağı	Ucuz yağ ekleme	^{18}O -IRMS
Süt ürünleri	Bildirimi yapılmamış süt ekleme, yanlış etiketleme(coğrafi orjin)	^{13}C -IRMS, ^{15}N -IRMS
Et (sığır, koyun..)	Yanlış etiketleme (coğrafi orjinleri)ve besleme rejimi	^{18}O -IRMS, ^1H , ^2H ve ^{13}C NMR
Balık eti	Yanlış etiketleme (doğal ↔ kültür)	Multi izotop izleme

Gıda Güvenilirliği

Kararlı izotoplar gıdaların coğrafi orjinlerinin tayinine yardım eder

İzotop Oranı	Ayrımlaşma(fractionation)	Bilgi
$^2\text{H}/^1\text{H}$	Buharlaşma, yoğunlaşma,yağış	Coğrafi
$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	C3 ve C4 bitkileri	Beslenme düzeni(coğrafik temsil)
$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	Tropik seviye, deniz ve karasal bitkiler	Coğrafi
$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	Buharlaşma, yoğunlaşma,yağış	Coğrafi (deniz)
$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	Bakteriyel	Coğrafi

Gıda Güvenilirliği





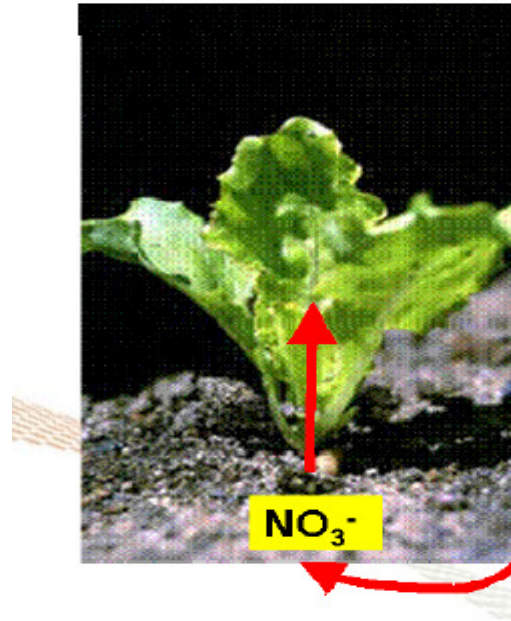
Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde İzotopik Değişmeler I

İzotopik analizler hayvanın beslendiği bitkinin (veya bunlardan elde edilen yemlerin) hangi fotosentez grubuna dahil olduğu hakkında bilgi verir. Bu nedenle bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin coğrafi orjin ve otantisiteleri tayin edilebilir.

Fotosentez grubu	Örnek Bitki	δ Değeri
C3 Bitkileri	Üzüm, şeker pancarı, elma vb.	-26 / -28 ‰
C4 Bitkileri	Şeker kamışı, mısır vb.	-10 / -20 ‰
CAM Bitkileri	Ananas, kaktüs vb.	-11 / -13.5 ‰

Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde İzotopik Değişmeler II

$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ oranı ise organik veya doğal beslenme hakkında bilgi verir. Gübre kullanımı veya çevresel kirliliklerden gelen azot içeriği topraktaki ve bunun sonucunda bitkilerdeki ^{15}N miktarını arttıracak için süt ve peynirde ^{15}N miktarı değişir.



Kimyasal Gübre Kullanımı
(NH_3 veya NH_4)

$$-2\text{‰} \leq \delta^{15}\text{N} \leq +2\text{‰}$$

Mevcut topraktan daha düşük $\delta^{15}\text{N}$ değeri

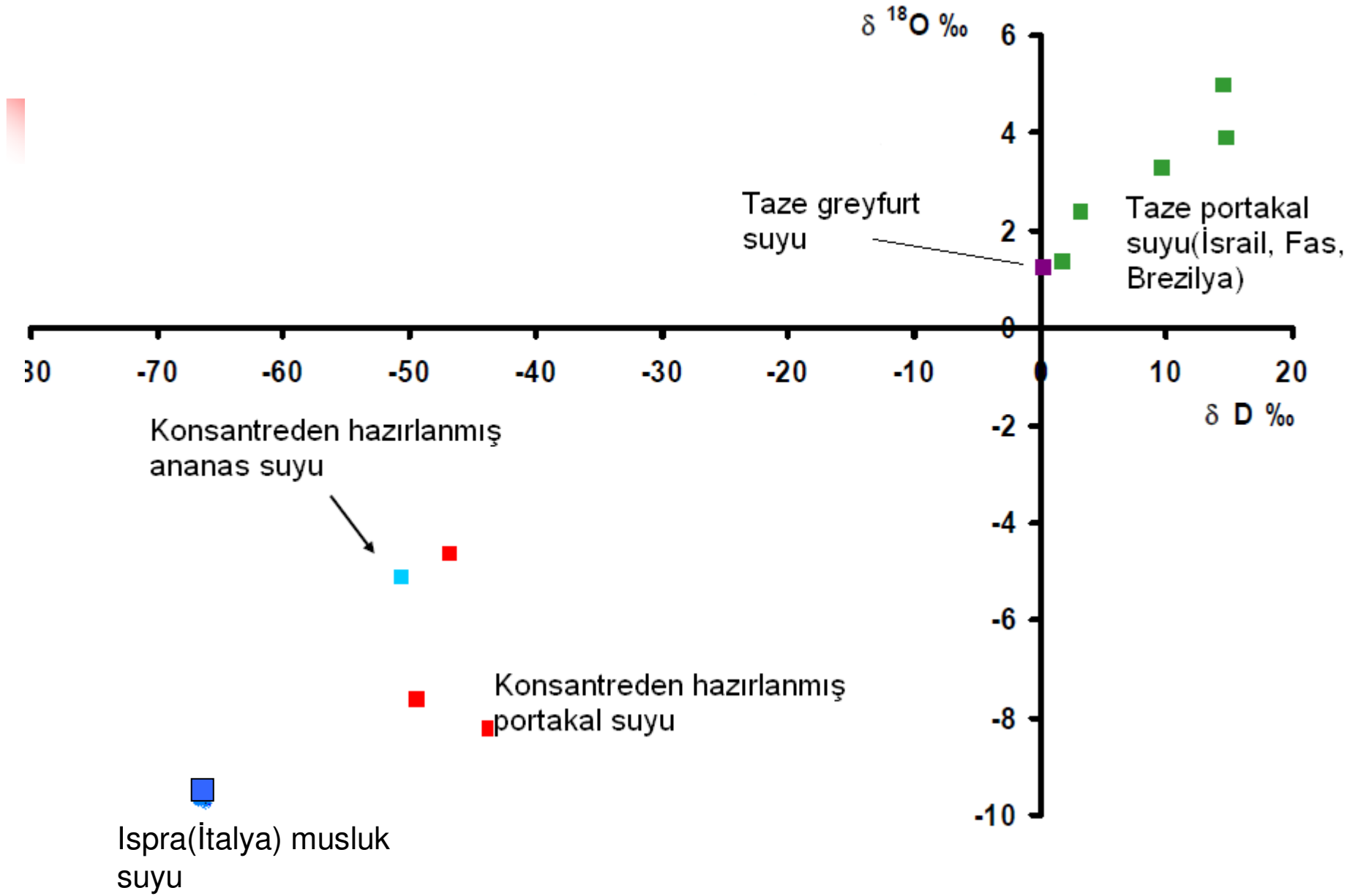
Bitkilerde daha düşük $\delta^{15}\text{N}$ değeri

Genel Gıdalarda İzotopik Değişmeler

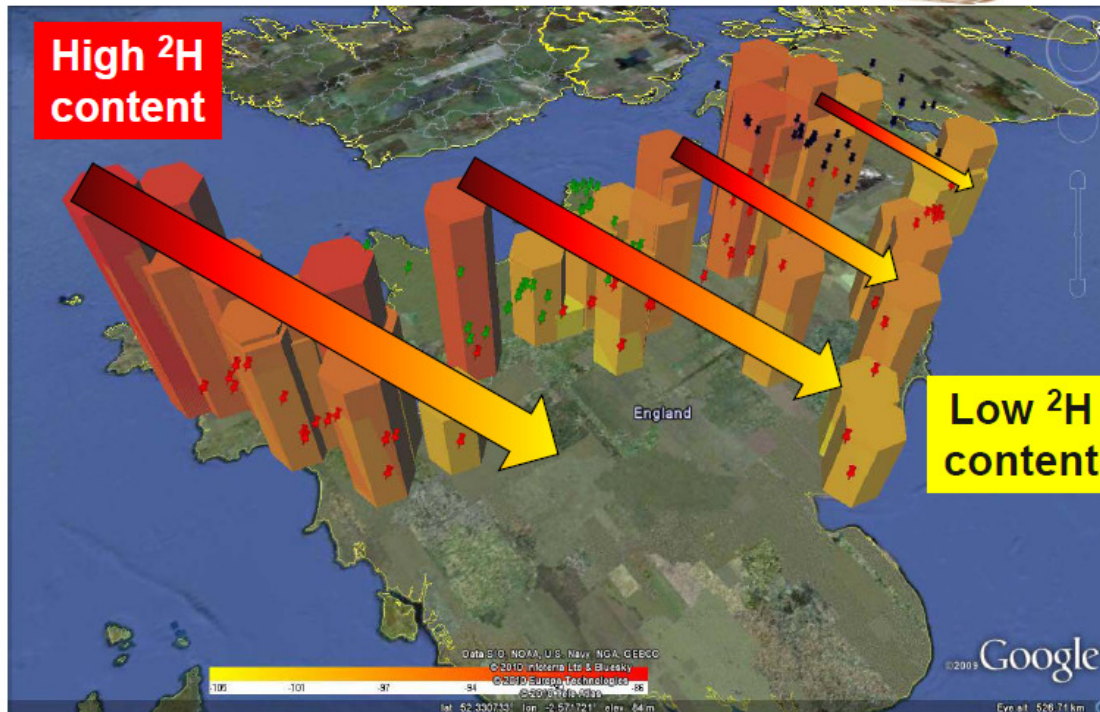
Zeytin yağı ve şarap ve meyve sularından elde edilen büyük kazanç bu ürünlerde sahteciliği arttırmıştır. Örneğin; 1 L şarap içerisin 17 gram şeker ilavesi alkol derecesini %1 arttırır.

Bu ürünlerde $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ ve $\delta^2\text{H}$ değerinin tayini coğrafi orjin ve ürünlere yapılan ilavelerin ortaya çıkarılmasını sağlar.

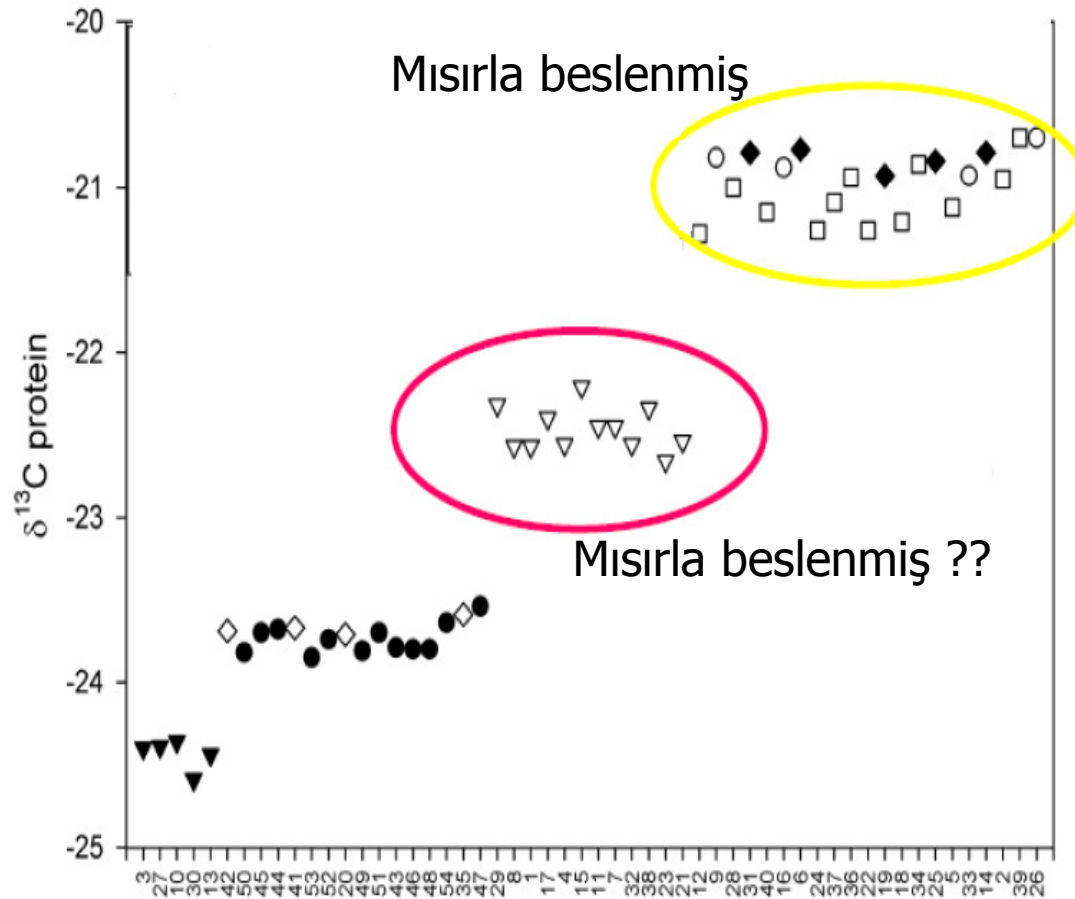




Et ve Et Ürünleri I



Et ve Et Ürünleri II



Örnek sayısı

▼ % 0 mısırla beslenmemiş

● %15 mısır (çiftlik)

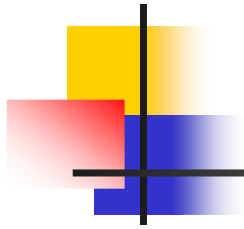
◇ 1. Market Mısırla beslenilmemiş etiketli

▽ 2. Market mısırla beslenmiş (tavuk baget)

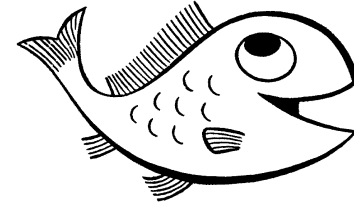
□ 3. Marketmısırla beslenmiş(tavuk baget)

○ 3. Market mısırla beslenmiş (bütün tavuk)

◆ 5. Market %50 mısırla beslenmiş



Balık



$\delta^{13}\text{C}$ ve $\delta^{15}\text{N}$ değerlerinin bulunması balıkların kültür veya doğal balık olmadığı hakkında bilgi verir.

Balık kas dokusundan yapılan analiz sonuçlarına göre Atlas okyanusunda yaşayan somon balıklarından elde edilen sonuçlar

	$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰}$	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$
Deniz Balığı	12.75 ± 0.38	-20.51 ± 0.23
Kültür balığı	10.96 ± 0.19	-19.25 ± 0.17

Bal

“Otantik gıda” doğallığı, içeriği ve kalitesi tanımlanabilen gıda olarak açıklanabilir. Balda otantisite fiyatı belirleyen en önemli parametredir.

İzotopik Analizler

Su aktivitesi

pH



Uçucu bileşenler

Polen

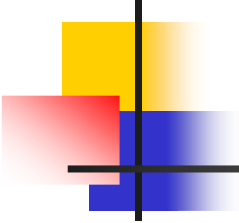
Karbohidratlar
(fruktoz, glikoz, sakroz vb)

Serbest amino aistler
(Ala, Lys, Thr vb.)

SANAEM de Yürütölen Çalıřmalar

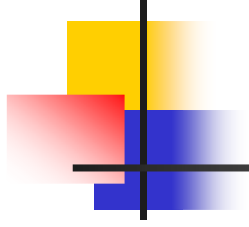
- * Bazı geleneksel süt ürünlerinde kararlı izotop oranı ölçümüyle bölgesel ölçekli karakterizasyon.
- * Türkiye'de gıda izlenebilirliğinde kararlı izotop ölçümlerinin uygulanması





Kaynaklar

- 1-2009 ThermoFisherScientific Food Safety Seminar Tour Europe, USA, Canada, Asia, Japan
- 2-Fera/JIFSAN symposium, 16-18 June. York, UK
- 3-Food Traceability and Authenticity-Global Issues Andrew Cannavan FAO/IAEA Agriculture & Biotechnology Lab.
- 4-Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma (Vol. XXVI, 2006) pag. 193 - pag. 204
- 5-Food Chemistry 107 (2008) 897–911
- 6-Stable isotopes of light elements, Benny Geypens, IRMM
- 7-Isotopes: theory, principles and practicalities, Ian Boomer, *Stable Isotope & Luminescence Laboratory,(SILLA) University of Birmingham*
- 8-Detection Technologies for intentionally added Adulterants/Contaminants, Simon Kelly - Food and Environment Research Agency, Sand Hutton, York, UK
- 9-Food Chemistry, Vol. 63, No. 4, pp. 549±562, 1998
- 10-Food Chemistry 105 (2007) 1119–1125
- 11-Eur Food Res Technol (2006) 223: 811–820



TEŞEKKÜRLER...