

**YAKIN ENFRARUJ SPEKTROMETRESİ İLE ZEYTİNYAĞI
TAĞŞIŞININ KOLAY VE HIZLI TESPİTİ İÇİN GENETİK
ALGORİTMALARA DAYALI KEMOMETRİK METODLAR
GELİŞTİRİLMESİ**

Proje No: 107T037

Doç.Dr. Durmuş ÖZDEMİR

Betül ÖZTÜRK

Ayşegül YALÇIN

ARALIK 2009

İZMİR

ÖNSÖZ

Tüketimi ve üretimi açısından önemli bir yere sahip olan zeytinyağının ekonomiye katkısı kaçınılmaz derecede büyüktür. Öte yandan, sağlıklı beslenme konusunda son yıllarda artan tüketim talebi zeytin yağına olan ilgiyi giderek bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde artırmıştır. Bunun sonucu olarak özellikle merdiven atı diye tabir edilen çeşitli üretim şekillerinde zeytin yağına ekonomik değeri daha düşük olan çeşitli bitkisel yağlar karıştırılarak çok sayıda tağşiş girişimleri kamuoyu gündemine gelmiştir. Bu durum ilk aşamada tüketiciyi yanıltmak ve haksız kazanç elde etmek gibi direk sonuçlar doğursada uzun vadede ülkemizin zeytin yağı ticaretindeki itibarını zedeleyecek çok daha vahim sonuçlarla karşı karşıya gelmesi ile sonuçlanacaktır. Bu nedenle zeytin yağının daha ucuz olan bitkisel yağlarla karıştırılarak satışının önüne geçilmesi ve bu tür olası tağşiş vakalarının hızlı ve pratik bir şekilde tespit edilmesi son yıllarda büyük önem kazanmıştır.

Bu projede, zeytin yağı çeşitli bitkisel yağlarla (ayçiçek, mısırözü, soya, pamuk, kanola, fıstık yağları gibi) karıştırılarak çoklu sentetik karışımlar elde edilmiş ve bu sentetik karışımlar yakın infrared (NIR), Fourier dönüştürücülü infrared (FTIR) ve floresans spektrometreleri ile ölçülmüş, karışımlara ait spektrumlar çok değişkenli kalibrasyon metodu olan genetik algoritmaya dayalı ters en küçük kareler (GILS) yöntemi ile analizlenerek zeytin yağının ve tağşiş amaçlı kullanılan diğer bitkisel yağların ağırlıkça yüzdeleri kalibrasyon modelleri ile elde edilmiştir. Böylelikle geliştirilen kalibrasyon modelleri sadece tağşiş edilmiş örneklerdeki zeytin yağı miktarlarını modellemekle yetinmemiş ayrıca tağşiş eden diğer bitkisel yağlarında kantitatif tayinleri mümkün olmuştur. Bunun yanında bu tür tağşiş çalışmalarında en önemli konulardan biri olan tağşişte kullanılan bitkisel yağların türleri ve sayılarına bakılmaksızın tağşiş edilmiş olan zeytin yağının hassas bir şekilde kantitatif modellenmesi gerçekleştirilmiştir. Bu projede yer alan GILS metodunun kullanılabilirliği değişik örnek karışımlarında denenerek elde edilen sonuçlar ulusal ve uluslararası kongrelerde sözlü ve poster bildiri olarak sunulmuştur. Ayrıca proje ile doktora öğrencisi Betül Öztürk, projenin ilk yılında

yüksek lisans öğrencisi Aysun Arıkan ve ikinci yılında Ayşegül Yalçın verilen burslarla tez aşamalarında maddi olarak desteklenmiştir. Proje gelişme aşamasında elde edilen sonuçlarla ilgili makaleler yayınlanmıştır. Ayrıca bir adet makale bu raporun düzenlendiği tarihlerde hazırlanarak “Journal of Near Infrared Spectroscopy” dergisinde yayınlamak üzere gönderilmiş olup yine proje kapsamında bir başka makalenin yazım çalışmaları devam etmektedir. Bu proje TÜBİTAK kurumu tarafından 107T037 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|----|
| BÖLÜM 1 GİRİŞ | 1 |
| BÖLÜM 2 SPEKTROSKOPİ..... | 4 |
| 2.1. Spektroskopi | 4 |
| 2.2. İnfrared Spektroskopi..... | 5 |
| 2.2.1. Yakın İnfrared (Near Infrared, NIR) Spektroskopi | 5 |
| 2.2.1.1. Prensipleri | 5 |
| 2.2.1.2. Enstrümental..... | 7 |
| 2.2.2. Fourier Transform İnfrared (FTIR) Spektroskopi | 8 |
| 2.2.2.1. Prensipleri | 8 |
| 2.2.2.2. Enstrümental..... | 9 |
| 2.2.3. Floresans Spektroskopi..... | 11 |
| 2.2.3.1. Prensipleri | 11 |
| 2.2.3.2. Enstrümental..... | 14 |
| BÖLÜM 3 ÇOK DEĞİŞKENLİ ANALİZ YÖNTEMLERİ | 18 |
| 3.1. Kalibrasyon Yöntemleri | 18 |
| 3.1.1. Genel Bakış..... | 18 |
| 3.1.1.1. Klasik Kalibrasyon..... | 19 |
| 3.1.1.2. Ters Kalibrasyon | 20 |
| 3.1.2. Çok Değişkenli Kalibrasyon..... | 22 |
| 3.1.2.1. Klasik En Küçük Kareler (Classical Least Squares, CLS)..... | 24 |
| 3.1.2.2. Ters En Küçük Kareler Yöntemi (Inverse Least Squares ,ILS) | 25 |
| 3.1.2.3. Genetik Ters En Küçük Kareler (Genetic Inverse Least Squares) (GILS) | 26 |
| 3.1.2.3.1. Oluşum (Initialization)..... | 27 |

| | |
|---|-----|
| 3.1.2.3.2. Hesaplamalar ve Popülasyonun Sıralanması (Evaluate and Rank the Population)..... | 28 |
| 3.1.2.3.3. Gen Seçimi (Selection of Genes for Breeding) | 29 |
| 3.1.2.3.4. Tek Noktadan Çaprazlama (Crossover and Mutation) | 30 |
| 3.1.2.3.5. Ebeveyn Genlerin Yavru Genlerle Yer Değiştirmesi (Replacing the Parent Genes by Their Off-springs) | 30 |
| 3.1.2.3.6. Sonlandırma (Termination)..... | 31 |
| BÖLÜM 4 Örnek Hazırlama, Enstrümental Ölçüm ve Veri Analizi..... | 32 |
| BÖLÜM 5 BULGULAR VE TARTIŞMA..... | 34 |
| 5.1. Yakın İnfrared Ölçüm Sonuçları | 34 |
| 5.1.1. Zeytin, Pamuk, ve Soya Yağı İkili Ve Üçlü Karışımlara Ait Yakın İnfrared Sonuçları..... | 34 |
| 5.1.2. Zeytin, Ayçiçek, Mısırozü ve Kanola Yağı Dörtlü Karışımlar İçin Yakın İnfrared Sonuçları, | 48 |
| 5.2. Floresans Ölçüm Sonuçları:..... | 55 |
| 5.2.1. Zeytin, Mısırozü, ve Ayçiçek yağına ait Üçlü Karışımlar için Floresans Ölçüm Sonuçları | 55 |
| 5.2.2. Dörtlü Karışımlar için Floresans Ölçüm Sonuçları | 64 |
| 5.2.3. Beşli Karışımlar için Floresans Ölçüm Sonuçları..... | 78 |
| 5.3. FTIR-ATR Ölçüm Sonuçları | 88 |
| 5.3.1. Dörtlü Karışım için FTIR Sonuçları | 88 |
| 5.3.2. Beşli Karışım FTIR sonuçları..... | 96 |
| BÖLÜM 6 SONUÇ | 104 |
| REFERANSLAR | 105 |

ŞEKİL LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1.1. Dünyadaki zeytinyağının tüketim ve üretimine ait istatistiksel grafikleri. a) 2005 yılındaki ana üretim ülkeleri, b) 2005 yılındaki ana tüketim ülkeleri, c) 1970 – 2005 yılları arasındaki Dünya'daki ve Avrupa ülkelerindeki üretim ve tüketim grafiği (1000 ton) | 1 |
| Şekil 2.1. Elektromanyetik ışınım bölgeleri | 4 |
| Şekil 2.2. Temel geçiş ve overton bantlarının enerji seviyeleri.. | 6 |
| Şekil 2.3. Yakın infrared absorpsiyon bantları | 6 |
| Şekil 2.4. Metanolün yakın ve orta infrared bölgesindeki spektrumu. | 7 |
| Şekil 2.5. Yakın infrared spektroskopi cihaz tasarımı. | 8 |
| Şekil 2.6. Orta infrared bölgesindeki gerilme ve eğilme titreşimleri (Stuart 2004). | 8 |
| Şekil 2.7. Fourier Transformun şematik gösterimi. | 9 |
| Şekil 2.8. Fourier transform infrared spektroskopi optik şekli..... | 10 |
| Şekil 2.9. Azaltılmış toplam reflektans aksesuarının şematik gösterimi. | 10 |
| Şekil 2.10. Singlet/Triplet uyarılmış haller..... | 12 |
| Şekil 2.11. Jabłoński diyagramı. | 13 |
| Şekil 2.12. a) Uyarılmış flofor, b) dinamik sönümlenme, c) statik sönümlenme, d) uzun aralıklı sönümlenme, e) inner filter effect (Kaynak: Rinnan 2004). | 14 |
| Şekil 2.13. Tipik bir floresans cihazın optik diyagramı. | 15 |
| Şekil 2.14. Tipik bir uyarılma-yayılma floresan spektrumu..... | 16 |
| Şekil 3.1. (a) Klasik ve (b) Ters kalibrasyon modellerinde hata dağılımları | 21 |
| Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlara sahip ve girişim olmayan bir örneğin (a) spektrumları ve (b) tek değişkenli kalibrasyonla oluşturulan kalibrasyon eğrisi. Farklı konsantrasyonlara sahip ve girişim olan bir örneğin (c) spektrumları ve (d) tek değişkenli kalibrasyonla oluşturulan kalibrasyon eğrisi..... | 23 |
| Şekil 3.3. GILS'de kullanılan genetik algoritmanın genel akım şeması..... | 27 |
| Şekil 3.4. Bir odun örneğine ait NIR spektrumundan seçilmiş bir genin gösterimi | 28 |

| | |
|---|----|
| Şekil 5.1. Saf haldeki soya yağı, zeytin yağı ve pamuk yağlarının 2 mm ışınıoluna sahip kuvars küvetler kullanılarak alınan yakın infrared spektrumları..... | 35 |
| Şekil 5.2. NIR spektrometresi ile 2 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı, b) zeytin yağı..... | 42 |
| Şekil 5.3. NIR spektrometresi ile 5 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) zeytin yağı, b) soya yağı..... | 42 |
| Şekil 5.4. NIR spektrometresi ile 10 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı, b) zeytin yağı..... | 43 |
| Şekil 5.5. NIR spektrometresi ile 2 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı b) soya yağı c) zeytin yağı | 45 |
| Şekil 5.6. NIR spektrometresi ile 5 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı b) soya yağı c) zeytin yağı | 46 |
| Şekil 5.7. NIR spektrometresi ile 10 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı b) soya yağı c) zeytin yağı | 47 |
| Şekil 5.8. Dörtlü karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağlarının saf hallerinin FTNIR spektrumları..... | 49 |
| Şekil 5.9. FTNIR spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağı derişimleri. | 51 |
| Şekil 5.10. GILS ile zeytin yağı için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri..... | 53 |
| Şekil 5.11. GILS ile ayçiçek yağı için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri | 53 |
| Şekil 5.12. GILS ile mısırözü yağı için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri | 54 |
| Şekil 5.13. GILS ile kanola yağı için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri | 54 |
| Şekil 5.14. Saf haldeki (a) zeytin, (b) mısırözü, (c) ayçiçek yağlarının ve (d) üçlü karışımının 1 cm ışın yoluna sahip küvetlerle alınmış floresans | |

| | |
|---|----|
| spektrumları (emisyona dalgalıbyu aralığı; 320-800 nm, uyarılma dalgalıbyu aralığı; 320-425 nm) | 56 |
| Şekil 5.15. Zeytin, mısırözü, ayçiçek yağlarının ve üçlü karışımlarının 250-750 nm aralığında senkronize floresans spektrumları | 57 |
| Şekil 5.16. (a,b,c) EEF verilerine göre zeytin, mısırözü ve ayçiçek yağlarının üçlü karışımlarına ait bileşenlerin gerçek değerlerine karşılık tahmin değerleri, (d,e,f) SF verilerine göre zeytin mısırözü ve ayçiçek yağlarının üçlü karışımlarına ait bileşenlerin gerçek değerlerine karşılık tahmin değerleri..... | 60 |
| Şekil 5.17. Zeytin, mısırözü ve ayçiçek yağlarına ait, EEF verileri için 8 ayrı uyarılma dalgalıbyundaki emisyon spektrumları üzerinden seçilen dalgalıbyolarının frekans dağılım grafikleri | 62 |
| Şekil 5.18. Zeytin, ayçiçek ve mısırözü yağlarına ait, SF verileri için emisyon spektrumları üzerinden seçilen dalgalıbyolarının frekans dağılım grafikleri ... | 63 |
| Şekil 5.1. Saf haldeki (a) zeytin, (b) ayçiçek, (c) mısırözü ve (d) kanola yağlarının 1 cm ışın yoluna sahip kuvvetlerle alınmış emisyon–uyarılma floresans spektrumları (emisyona dalgalıbyu aralığı; 320-800 nm, uyarılma dalgalıbyu aralığı; 320-425 nm)..... | 65 |
| Şekil 5.20. Dörtlü karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağlarının dörtlü karışımının uyarılma–yayılma floresans spektrumu | 66 |
| Şekil 5.21. Dörtlü karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağlarının saf hallerinin senkronize floresans spektrumları. | 67 |
| Şekil 5.22. Emisyon-uyarılma floresans spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağı derişimleri | 72 |
| Şekil 5.23. Senkronize floresans spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağı derişimleri | 73 |
| Şekil 5.24. GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalgalıbyu dağılım grafikleri | 75 |
| Şekil 5.25. GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalgalıbyu dağılım grafikleri | 78 |

| | |
|---|-----|
| Şekil 5.2. Saf haldeki (a) zeytin, (b) ayçiçek, (c) mısırozü, (d) kanola ve (e) fıstık yağlarının 1 cm ışın yoluna sahip küvetlerle alınmış emisyon–uyarıma floresans spektrumları (emisyon dalgaboyu aralığı; 320-800 nm, uyarılma dalgaboyu aralığı; 320-425 nm)..... | 80 |
| Şekil 5.27. Emisyon-uyarıma floresans spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır, kanola ve fıstık yağı derişimleri. | 84 |
| Şekil 5.28. GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri. | 87 |
| Şekil 5.29. Dörtlü karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağlarının saf hallerinin FTIR-ATR spektrumları..... | 91 |
| Şekil 5.30. FTIR-ATR spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağı derişimleri | 93 |
| Şekil 5.31. GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri. | 96 |
| Şekil 5.32. Beşli karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağlarının saf hallerinin FTIR-ATR spektrumları..... | 97 |
| Şekil 5.33. FTIR-ATR spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır, kanola ve fıstık yağı derişimleri. | 99 |
| Şekil 5.34. GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri. | 103 |

TABLO LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Tablo 5.1 Kalibrasyon setindeki üçlü karışımlara ait her bir bileşenin kütlece yüzde içerikleri..... | 36 |
| Tablo 5.2. Validasyon setindeki üçlü karışımlara ait her bir bileşenin kütlece yüzde içerikleri..... | 37 |
| Tablo 5.3. Kalibrasyon setindeki zeytin-pamuk yağı ikili karışımlarına ait herbir bileşenin kütlece yüzde içerikleri | 38 |
| Tablo 5.4. Kalibrasyon setindeki zeytin–soya yağı ikili karışımlarına ait herbir bileşenin kütlece yüzde içerikleri | 38 |
| Tablo 5.5. Validasyon setindeki zeytin–soya yağı ikili karışımlarına ait herbir bileşenin kütlece yüzde içerikleri | 39 |
| Tablo 5.6. Validasyon setindeki zeytin-pamuk yağı ikili karışımlarına ait herbir bileşenin kütlece yüzde içerikleri | 39 |
| Tablo 5.7. (a) 2 mm (b) 5 mm (c) 10 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetle ölçümleri alınan ikili karışımların kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları ile beraber ortalama geri kazanım değerleri (APR) ve onlara ait standart sapma değerleri (SD) | 41 |
| Tablo 5.8. (a) 2 mm (b) 5 mm (c) 10 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetle ölçümleri alınan üçlü karışımların kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları ile beraber ortalama geri kazanım değerleri (APR) ve onlara ait standart sapma değerleri (SD) | 44 |
| Tablo 5.9. Dörtlü karışımların kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları..... | 50 |
| Tablo 5.10. EEF ve SF veri setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon ve tahmin hataları | 58 |

| | |
|---|----|
| Tablo 5.11. Kalibrasyon setini oluşturan 32 adet örneğe ait derişim tablosu. | 69 |
| Tablo 5.12. Validasyon setini oluşturan 18 adet örneğe ait derişim tablosu | 70 |
| Tablo 5.13. EEF ve SF veri setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon ve tahmin hataları. | 71 |
| Tablo 5.14. Kalibrasyon setindeki her bir örneğe ait kütlece yüzde miktarları | 81 |
| Tablo 5.15. Validasyon setindeki her bir örneğe ait kütlece yüzde miktarları | 82 |
| Tablo 5.16. GILS sonucu kurulan kalibrasyon modellerine ait SEC ve SEP değerleri | 83 |
| Tablo 5.17. Kalibrasyon setini oluşturan 32 adet örneğe ait derişim tablosu. | 89 |
| Tablo 5.18. Validasyon setini oluşturan 18 adet örneğe ait derişim tablosu. | 90 |
| Tablo 5.19. Dörtlü karışımlara ait kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları | 92 |
| Tablo 5.20. Beşli karışımlara ait kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları | 98 |

ÖZ

Sağlıklı beslenme alışkanlıkları konusunda bütün dünyada giderek artan toplumsal bilinçlenmenin sonucunda zeytinyağının sağlıklı yaşam üzerinde etkileri giderek daha da ön plana çıkmış ve bunun sonucunda zeytin yağı tüketimindeki eğilim giderek artmıştır. Bu artan ilgi, zeytin yağının ekonomik değeri daha düşük çeşitli bitkisel yağlarla tağışış edilerek tüketiciye sunulması girişimlerini artırmıştır. Bu çalışma zeytin yağının bitkisel yağlarla tağışışının çok değışkenli kalibrasyon yaklaşımları kullanılarak spektroskopik tayinini amaçlamıştır. Bu amaçla soya, ayçiçek, mısırözü, kanola, pamuk ve fıstık yağlarıyla sentetik olarak tağışış edilmiş zeytin yağının ikili, üçlü, dörtlü ve beşli karışımları gelişigüzel örnek tasarımı kullanılarak yüzde ağırlıkça hazırlanmıştır. Bu örneklerin spektrumları yakın infrared (NIR), Fourier dönüştürücülü orta infrared (FTIR), ve floresans spektroskopisi metotları kullanılarak kaydedilmiştir. Elde edilen spektrumlar kullanılarak bir genetik algoritmaya dayalı değışken seçimi algoritmasıyla birleştirilmiş olan ters en küçük kareler (inverse least squares, ILS) çok değışkenli kalibrasyon metodu (GILS) kullanılarak olası tağışış ediciler ve zeytin yağı için kalibrasyon modelleri geliştirilmiştir. Sentetik örneklerdeki gerçek derişimlere karşı, geliştirilen çok değışkenli kalibrasyon modelleri ile elde edilen tahmini derişim değerlerinden elde edilen korelasyon katsayıları araştırmada kullanılan yağlar için 0.90 ile 0.99 arasında değışmiştir. Bu sonuçlar, araştırma kapsamında kullanılan NIR, FTIR ve floresans spektroskopisi metotlarının GILS çok değışkenli kalibrasyon metodu ile beraber kullanılması halinde zeytin yağı tağışışının tağışış amacıyla kullanılan bitkisel yağların türüne ve sayısına bakılmaksızın çok geniş bir derişim aralığında tespit edilebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: zeytin yağı tağışışı, yakın infrared spektroskopisi, Fourier dönüştürücülü infrared spektroskopisi, floresans spektroskopisi, çok değışkenli kalibrasyon, genetik algoritma.

ABSTRACT

There has been a growing public awareness about the health benefits of olive oil through the world in recent years resulting in a significant increase in its consumption as part of daily diet. This demand has attracted fraudulent attempts about marketing of adulterated olive oil with cheaper oils. This study focuses on the spectroscopic determination of adulteration of olive oil with vegetable oils by using multivariate calibration. The binary, ternary quaternary and quinary mixtures of olive, soybean cotton, corn, canola, sunflower and peanut oils were prepared by using random design. The spectra of these synthetic samples were measured by a near infrared (NIR), Fourier transform infrared (FTIR), and fluorescence spectrometers. A genetic algorithm based variable selection algorithm coupled with inverse least squares multivariate calibration method (GILS) was used to build calibration models for possible adulterants and olive oil in the adulterated mixtures. The correlation coefficients of actual versus predicted concentrations resulted from multivariate calibration models for the different oils were found between 0.90 and 0.99. The results demonstrated that NIR, FTIR and fluorescence spectroscopy in conjunction with GILS method make it possible to determine the adulteration of olive oils regardless of adulterant vegetable oils in a wide range of concentrations.

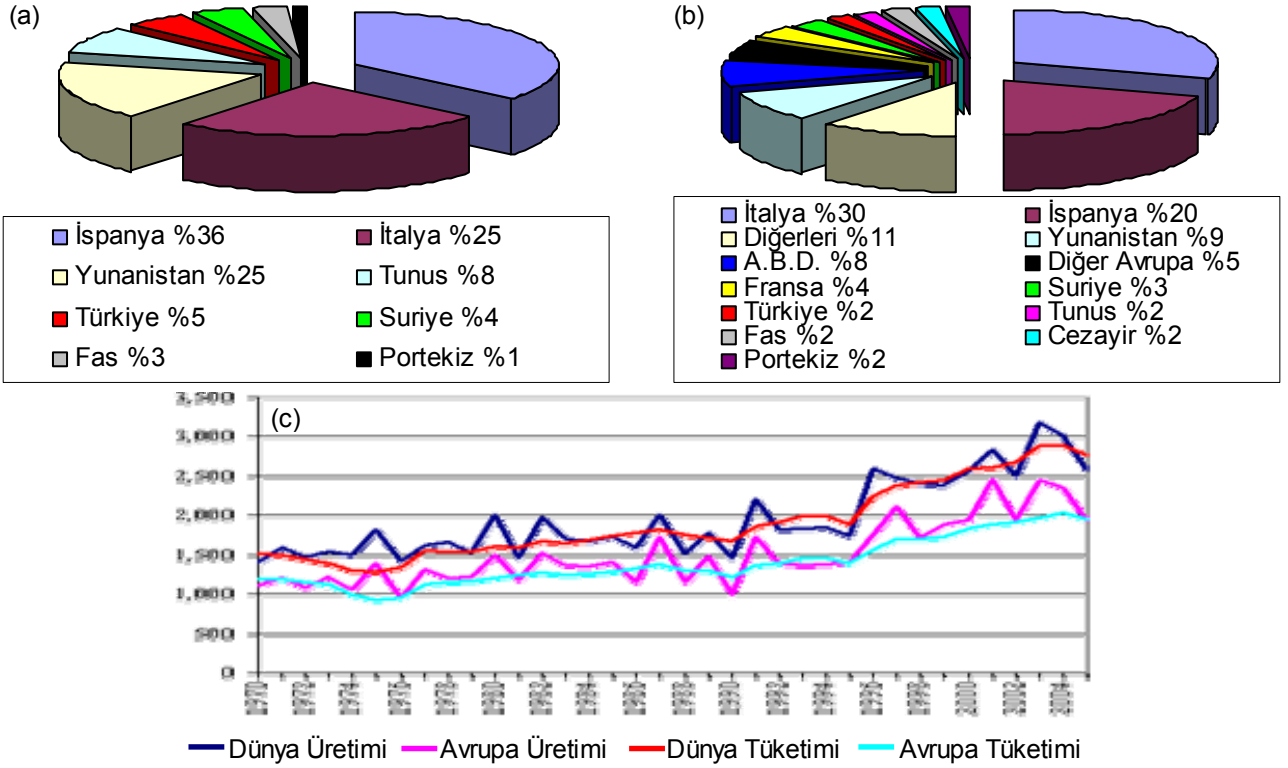
Keywords: olive oil adulteration, near infrared spectroscopy, Fourier transforms infrared spectroscopy, fluorescence spectroscopy, multivariate calibration, genetic algorithms.

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Zeytinyağı üretimi özellikle İspanya, Portekiz, Türkiye, Tunus ve Fas gibi Akdeniz ülkelerinde yoğunlaşmıştır. Üretim ve tüketim oranları 1970'lerin sonlarından başlayarak 90'ların başına kadar yavaş bir artış gösterirken 90'ların ortasında hızla büyümüştür.

Şekil 1.1, üretim ve tüketim oranlarının ülkelere göre dağılımını gösteren istatistiksel grafikleri içermektedir.



Şekil 1.1. Dünyadaki zeytinyağının tüketim ve üretimine ait istatistiksel grafikleri. a) 2005 yılındaki ana üretim ülkeleri, b) 2005 yılındaki ana tüketim ülkeleri, c) 1970 – 2005 yılları arasındaki Dünya'daki ve Avrupa ülkelerindeki üretim ve tüketim grafiği (1000 ton).

(Kaynak: 86. Uluslararası Zeytinyağı Konseyinin sunmuş olduğu rapor, Haziran 2002)

Zeytinyağının bu hızla üretiminin artması ve tüketimde de talebin artması ile beraber, satışlardan daha fazla kar etmek isteyen üretici ve satıcı firmalar hile yoluna başvurmasına sebep olmuştur. Özellikle daha ucuz bitkisel yağlarla karıştırılarak satışa sunulan zeytinyağının oranları gün geçtikçe artmıştır. Pamuk, ayçiçek veya soya yağı gibi ucuz bitkisel yağlar karıştırılabileceği gibi daha kalitesiz zeytinyağları da karıştırılarak tağşiş edilmiş zeytinyağları piyasaya sürülmektedir.

Günümüzde yaygın olarak kullanılan spektroskopik ve kromatografik yöntemler bulunmaktadır. Özellikle kromatografik yöntemler zeytinyağının hem nicel hem nitel analizlerinde sıkça kullanılmaktadır. Bu yöntemler, doğrulukları ve hassasiyetleri açısından tercih edilmesine karşın, spektroskopik yöntemlerle kıyaslandığında, özellikle çok bileşenli sistemler için, pahalı ve zaman alan analiz yöntemleridir. Buna karşılık spektroskopik yöntemler hem daha hızlı sonuçlar vermekte hem de nitel analizlerde sıkça tercih edilmektedirler. Modern spektroskopik teknikler, çok kısa sürede, çok bileşenli sistemler için yüzlerce spektrum üretebilmektedir. Ancak bu durum, tek değişkenli kalibrasyon yöntemlerinin iyi sonuçlar vermesine engel teşkil eder. Bu sebeple, çok değişkenli kalibrasyon teknikleri, yüzlerce verinin bulunduğu spektrumların çözümlenerek kantitatif analizlerin daha sağlıklı sonuçlar vermesi açısından umut vericidir. Bu teknikler, cihazdan elde edilen sonuçların bir kimyasal veya fiziksel özellik ile ilişkilendirilmesine olanak vererek çok bileşenli sistemler için dahi kantitatif sonuçlar elde edilmesini mümkün kılmaktadır.

Son yıllarda bilgisayar sektöründeki gelişmeler kemometrinin hızla gelişimini sağlamış ve spektral verilerin değerlendirilmesinde üreticiye hem zaman, hem malzeme tasarrufu, hem de kalitenin doğru tayin edilmesi bakımından avantajlar sunmuştur.

Zeytinyağlarının safsızlığının araştırılması için, zeytin yağına pamuk, soya, ayçiçek, mısırözü gibi bitkisel yağlar karıştırılarak sentetik örnekler hazırlanmış, kalibrasyon modelleri kurulmuş ve test edilmiştir. Kalibrasyon modelinin kurulması aşamasında kullanılan örnek seti “kalibrasyon seti” olarak adlandırılırken, test aşamasında kullanılan set ise “validasyon seti” olarak adlandırılır. Başarılı kalibrasyon modelleri için en önemli kriter modelleme hatasının en aza indirgenmesidir. Bu nedenle, özellikle çok bileşenli sistemlerde, uygun bir kalibrasyon metodunun seçilmesi önem teşkil etmektedir. Kemometrik çalışmalarda sıkça kullanılan bu tip yöntemlere çok

değişkenli kalibrasyon metotları denir. Çok değişkenli kalibrasyon metotlarından en yaygın olarak kullanılanları, klasik en küçük kareler (CLS), ters en küçük kareler (ILS), kısmi en küçük kareler (PLS), temel bileşenler regresyonu (PCR) ve genetik algoritmaya dayalı yöntemlerdir.

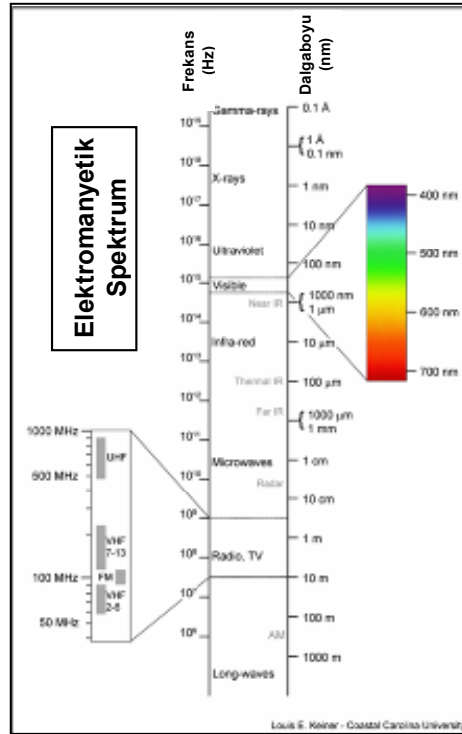
Çok bileşenli sistemlerin kullanıldığı çalışmalarda, yüzlerce örnekten oluşan setler hazırlanması gerekebilir. Bu durum hem maliyet hem malzeme hem de zaman açısından kayıplara sebep olmaktadır. Ayrıca enstrümental kalibrasyonların günden güne farklılık göstermesi de başarılı kalibrasyon modellerinin kurulmasında dezavantaja yol açmaktadır. Deney sürecinde zaman ve malzemedan tasarruf etmek amacıyla kullanılan diğer bir kemometrik yöntem de deney tasarılarıdır. Örneklerin doğasına uygun ve daha az sayılı örnek setleri hazırlayarak en iyi kalibrasyon modellerinin elde edilmesine çalışılır.

BÖLÜM 2

SPEKTROSKOPİ

2.1. Spektroskopi

Spektroskopi, elektromanyetik ışımının bir çok çeşitlerinin madde ile olan etkileşimini inceleyen bilim dalıdır. Elektromanyetik ışıma, elektromanyetik spektrum ile tanımlanırlar. Şekil 2.1. Elektromanyetik ışıma bölgeleri geniş aralıktaki dalgalıyı ve frekanslarını göstermektedir.



Şekil 2.1. Elektromanyetik ışıma bölgeleri.

Spektroskopik tekniklerde, dışarıdan gönderilen ışık, maddenin yüksek enerji seviyelerine geçişi sağlar. Bundan dolayı, spektroskopik teknikler kullanılan ışın dalga

boyuna göre farklı gruplara ayrılırlar. Mesela, 200 ile 800 nm arası elektromanyetik ışığın madde ile etkileşimine UV-Görünür bölge spektroskopisi adını veriyoruz. Spektroskopik tekniklerin çoğunda, madde tarafından absorblanan veya geçirilen ışığın enerjisi ölçülür. UV-Görünür bölge spektroskopisi ve infrared spektroskopisi bu tip tekniklere örnektir. Öte yandan bazen, sadece absorblanan enerji değil madde tarafından ışınan enerji de ölçülür. Floresans spektroskopisi bu tekniğe örnektir.

Bu çalışmada, örneklerin analizi için infrared ve floresans spektroskopik teknikleri kullanılmıştır. Örnekleri infrared bölgesinde incelemek amacıyla yakın infrared (NIR) spektrometresi ve Fourier Transform infrared (FTIR) spektrometresi kullanılmıştır. Daha sonra örnekler, floresans spektrometresinin uyarılma-emisyon ve senkronize floresans modunda spektrumları toplanmıştır. Bu tekniklerin teorileri ayrıntılarıyla verilmeyecektir, bu bölümle ilgili bilgiler kaynaklarda yer almaktadır (Skoog et al. 1998, Ingle et al. 1988, Lakowicz 1999, Valuer, 2001, Stuart 2004, Burns et al. 2001, Smith 1996).

2.2. İnfrared Spektroskopisi

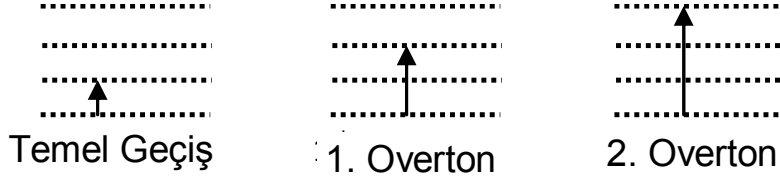
İnfrared spektroskopisi, maddenin titreşim ve dönme enerji seviyeleri arasındaki ışığın absorpsiyon ve geçirilimini inceler. Elektromanyetik spektrumdaki infrared bölge (0.78–1000 μm), yakın, orta ve uzak infrared olarak üç bölgeye ayrılır. Bu üç sınıf titreşimsel ve dönsel seviyelerinde meydana gelen proseslere göre ayrılır. (Skoog et al. 1998).

2.2.1. Yakın İnfrared (Near Infrared, NIR) Spektroskopisi

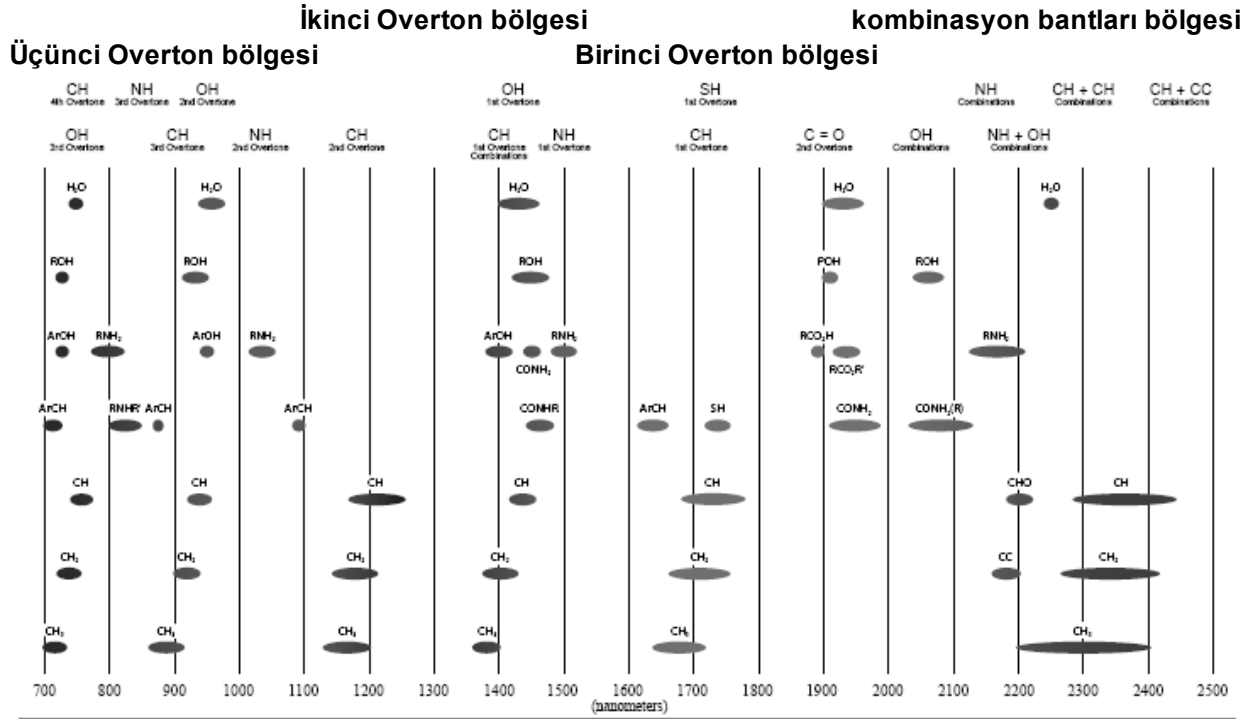
2.2.1.1. Prensipler

Yakın infrared bölgesi, elektromanyetik spektrumda 13,000 ve 4000 cm^{-1} arasında yer alır. Bu bölgede gözlenen absorpsiyonlar, 3000–1700 cm^{-1} aralığında overton ve temel gerilme titreşim bantlarına aittir. Gözlenen bantlar genellikle CH, OH, NH gerilme bantlarıdır. (Stuart 2004). Overtonlara ait enerji seviyeleri Şekil 2.2' de

gösterilmiştir. Kombinasyon bantları, v_1 ve v_2 enerjisindeki iki temel bantların absorplanmasıyla ortaya çıkar. Sonuç olarak gözlenen bant, $(v_1 + v_2)$ enerjisindedir.



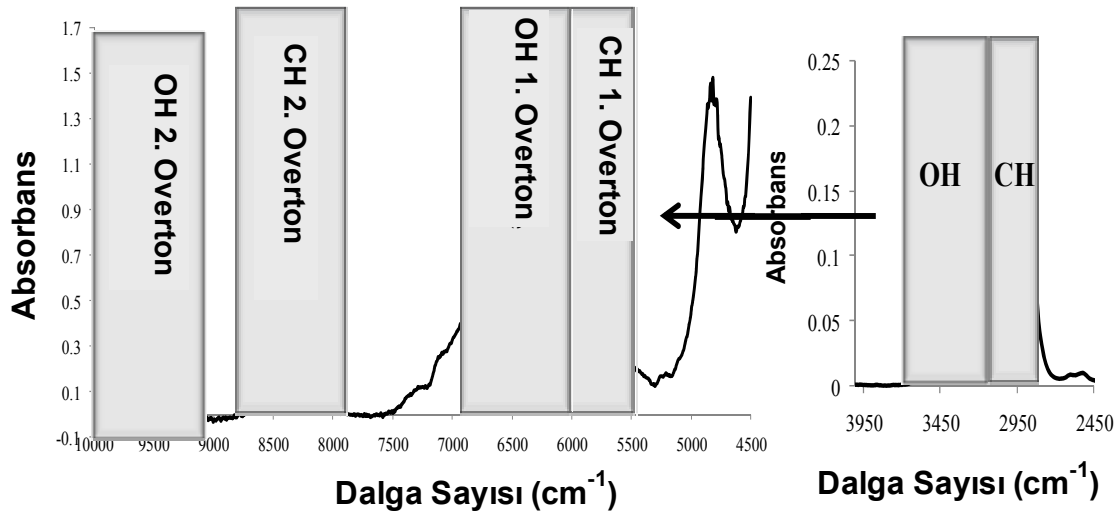
Şekil 2.2. Temel geçiş ve overtone bantlarının enerji seviyeleri.



Şekil 2.3. Yakın infrared absorpsiyon bantları.

Yakın infrared bölgesindeki bantlar, genellikle zayıf sinyal verirler ve bir overtone sinyalin şiddeti diğerini düşürür. Elde edilen spektrumda genellikle, dalgasayısına

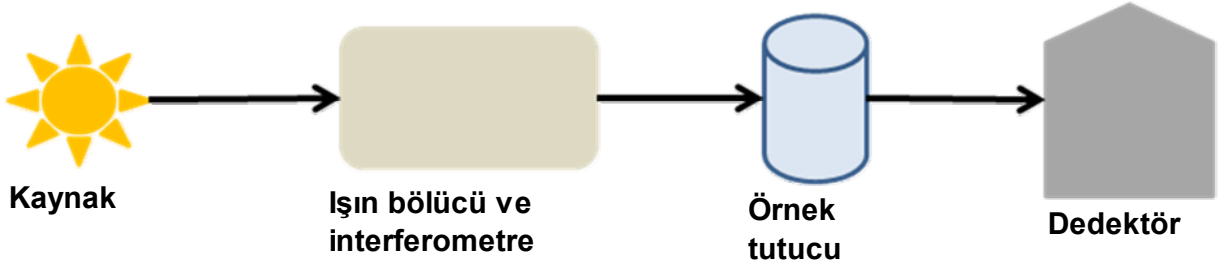
karşılık absorbans çizilir ve spektrumdaki bantlar, CH, OH, NH, ve SH içeren fonksiyonel gruplardan kaynaklanır (Şekil 2.3). Yakın infrared bölgesinde gözlenen bantlar genellikle çakışır (Şekil 2.4), bundan dolayı, bu bölgede yapılan kalitatif analizler orta infrared bölgesinde yapılanlara göre zordur. Spektrumları karakterize etmek için kemometrik metotlara ihtiyaç duyulur. Orta infrared bölgesindeki temel CH ve OH gerilme bantları vurgulanır ve 1., 2. overtonlar, yakın infrared bölgesinde, farklı şiddetlerde gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Metanolün yakın ve orta infrared bölgesindeki spektrumu.

2.2.1.2. Enstrümental

Infrared bölgesindeki enstrümentasyon UV-görünür bölge absorpsiyon spektroskopisine benzerdir. Tungsten-halojen lambaları genellikle ışık kaynağı olarak kullanılır. 3000 nm'ye kadar geçirgen olan kuvars ve cam hücreler, örnek ölçüm hücresi olarak kullanılır. Sülfid foton detektörleri de genellikle bu cihazlarda kullanılır. (Skoog et al. 1998).

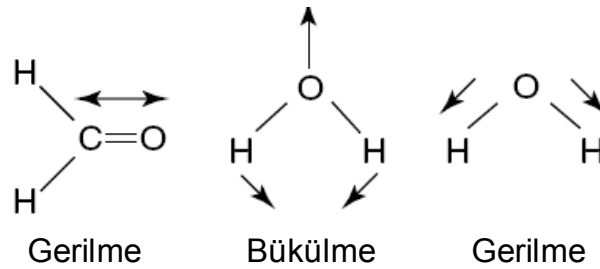


Şekil 2.5. Yakın infrared spektroskopi cihaz tasarımı.

2.2.2. Fourier Transform İnfrared (FTIR) Spektroskopi

2.2.2.1. Prensipleri

Elektromanyetik spektrumda orta infrared bölgesi, 4000 cm^{-1} ile 400 cm^{-1} arasındadır. İnfrared ışığı elektronik enerji seviyelerindeki geçişlere yetecek kadar enerjiye sahip değildir. Geçişler sadece titreşimsel ve dönme enerji seviyeleri arasında gerçekleşir. Titreşimler, bağ uzunluğunda ya da bağ açısındaki değişimler sonucu oluşabilir (Şekil 2.6). Bazı bantlar düzlem içi (simetrik gerilme) veya düzlem dışı (asimetrik gerilme) gerçekleşebilir. Eğilme titreşimleri dört şekilde olabilir: düzlemde sallanma, düzlemde makaslanma, düzlem dışı salınma ve düzlem dışı burkulma.

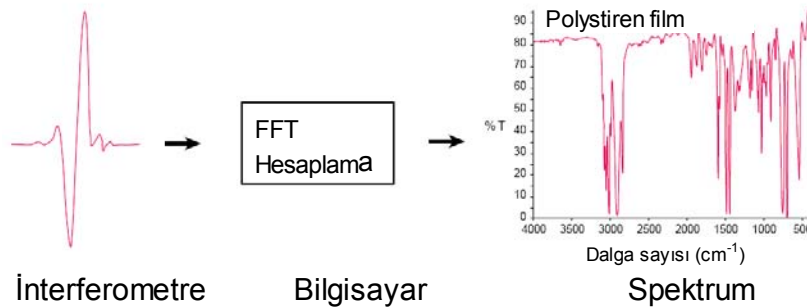


Şekil 2.6. Orta infrared bölgesindeki gerilme ve eğilme titreşimleri (Stuart 2004).

Molekül bağları, element ve bağ tipine bağlı olarak bir çok frekansta titreşimler yapabilir.

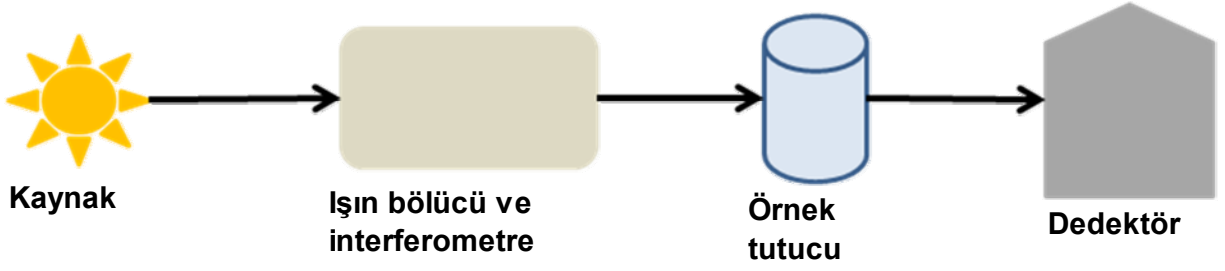
2.2.2.2. Enstrümental

Orta infrared bölgesi için, Fourier transform infrared spektrometreleri, tercih edilir. Bu cihazlar dispersif cihazlardaki limitasyonları gidermek amacıyla geliştirilmiştir. Dispersif cihazları kullanmada en temel zorluk, yavaş tarama yapmasıdır. Bu cihazlarda eş zamanlı ölçüme ulaşmak amacıyla interferometreler geliştirilmiştir. İnterferometrelerin çoğu, infrared ışığını iki ışık demetine bölen demet bölücü olarak kullanılır. Sonuçta elde edilen sinyale “interferogram” adı verilir. İnterferogramlar, ışın kaynağından gelen infrared ışığın frekansından oluşturduğu sinyalin her bir veri noktasını içerir. Analistlerin, spektrumdan madde tanımlaması yapabilmeleri için frekans bilgisine ihtiyaçları vardır. İnterferogramdaki bilgiler bu işlem için yardımcı olmayacaktır. Bu nedenle, interferogramların dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu dönüşüm, matematikte iyi bilinen Fourier transform yöntemiyle yapılır (Şekil 2.7).



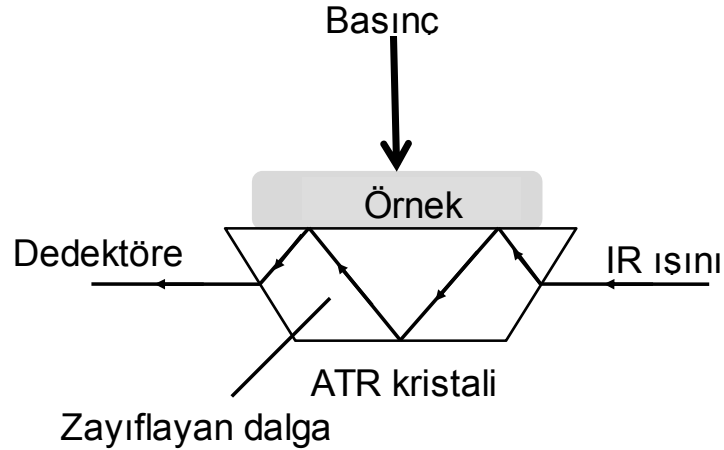
Şekil 2.7. Fourier Transformun şematik gösterimi.

İnfrared cihazlarında kullanılan ışık kaynakları, Nernst glower, globar, tungsten, civa ark veya CO₂ lazerlerdir. Bu kaynaklar özellikleri nedeni ile sıcaklığa dayanıklıdır. İnfrared cihazlarında kullanılan detektörler ise: bolometreler, fotoiletken tüpler veya piroelektrik detektörlerdir ve en çok kullanılan interferometre Michelson interferometreleridir. Şekil 2.8'de infrared cihazlarının optik şekli yer almaktadır.



Şekil 2.8. Fourier transform infrared spektroskopi optik şekli.

İnfrared spektroskopide transmittans yanında yansıma (reflection) da ölçülebilir. Reflektans ölçümlerinde en çok azaltılmış toplam reflektans (attenuated total reflectance, ATR) kullanılır. Reflektans ölçümlerinde infrared ışığı örnek içerisinden geçirilmez, yansıtılır. Azaltılmış toplam reflektans ölçümlerinde, aksesuarın kalbi yüksek refraktif indekse sahip geçirgen kristaldir. Genellikle kristal olarak, çinko selenit, talyum iyodat/talyum bromat (KRS5) ve germanyum kullanılır. Şekil 2.9'da ATR'nin şematik gösterimi yer almaktadır. Şekilden de görüldüğü gibi, sönmülenen dalga örneğin soğurması ile azaltılmıştır. Bu sebeple, bu tekniğe azaltılmış toplam reflektans (ATR) denilmiştir.



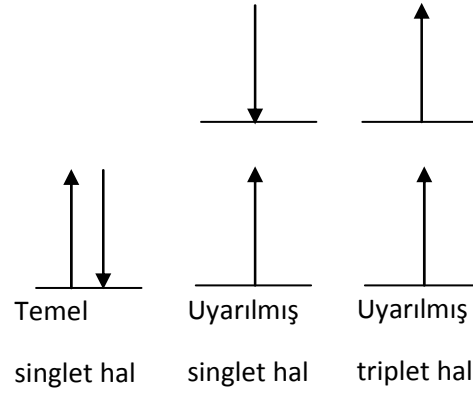
Şekil 2.9. Azaltılmış toplam reflektans aksesuarının şematik gösterimi.

2.2.3. Floresans Spektroskopi

Moleküler lüminesans spektrometri bir maddede, elektronların elektronik olarak uyarılmış halden kararlı hale geçişlerinde ışık yaymasına dayanır (Lakowicz 1999). Floresans ve fosforesans olmak üzere iki alt başlığa ayrılır. Bir üçüncü lüminesans çeşidi de kemilüminesans olarak adlandırılır (Skoog, et al. 1998). Tüm bu lüminesans çeşitleri, uyarılmış halin özelliğine göre sınıflandırılır. Floresans ve fosforesansta uyarılma, foton soğurma yoluyla gerçekleştiğinden, çok benzer yöntemlerdir. Kemilüminesans olarak adlandırılan yöntem ise bir kimyasal tepkimede oluşan uyarılmış türlerin yayılma spektrumuna dayanır (Skoog, et al. 1998). Bu bölümde sadece floresans spektroskopi anlatılacaktır.

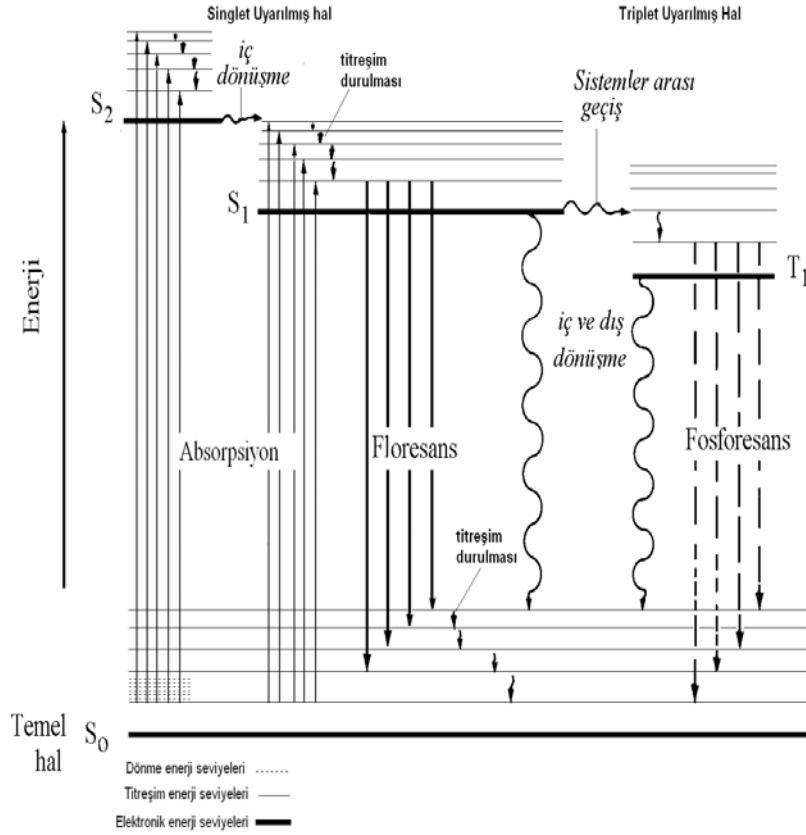
2.2.3.1. Prensipleri

Floresans ve fosforesans elektronik enerji geçişleri bakımından farklıdır. Bütün elektron spinlerinin eşleşmiş olduğu bir moleküler elektronik hal; bir singlet hal olarak adlandırılır. Bu elektronlardan biri daha yüksek bir enerji seviyesine uyarıldığında, singlet veya triplet hal oluşur. Floresansta uyarılan orbital elektronu temel hal orbitalindeki ikinci electron ile eşleşir ve elektronun spini değişmez. Elektronlar, uyarılmış halden temel hale dönerken yayılan ışık floresans olarak adlandırılır ve bu olay nanosaniye içerisinde gerçekleşir. Fosforesans ise triplet uyarılmış haldeki elektronun aynı spin düzenine sahip temel hale dönerken yaydığı ışıktır. Triplet uyarılmış halden temel hale geçiş durumu yasak olduğundan yayılma hızları yavaştır. Bu sebeple fosforesans, floresansa göre daha uzun ömürlüdür. Aşağıdaki şekil singlet/triplet uyarılmış halleri göstermektedir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Singlet/Triplet uyarılmış haller

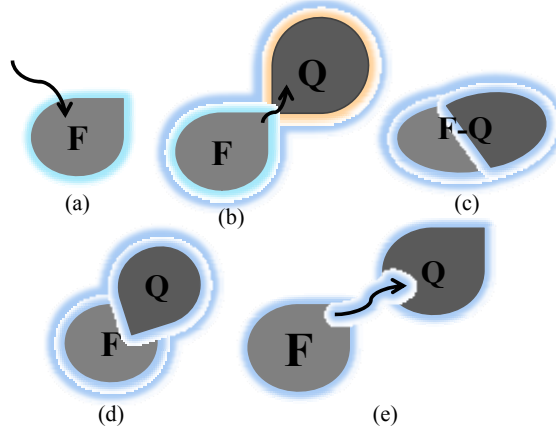
Işığın soğrulma ve yayılma arasındaki süreç Jablonski diyagramında gösterilmiştir (Şekil 2.11). Bu diyagram, floresans ve fosforesans olaylarını enerji düzeyleri açısından açıklar. Ayrıca iç dönüşme (IC), sistemler arası geçiş (ISC) ve titreşim durulması olmak üzere 3 farklı ışımsız geçiş süreci de burada açıklanmıştır. İç dönüşme aynı spin haline sahip enerji düzeyleri arasındaki geçişlerde gerçekleşir. Farklı spin halleri arasındaki geçiş sistemler arası geçiş olarak tanımlanırken, titreşim durulması ise uyarılmış titreşim ve dönme halleri arasında gerçekleşen ışımsız geçiş olarak tanımlanır.



Şekil 2.11. Jablonski diyagramı.

Aromatik halka içeren birçok molekülde floresans gözlenir, çünkü floresans $\pi-\pi^*$ geçişlerini kapsamaktadır. Floresans verimi, sadece maddenin moleküler yapısına değil, ayrıca sıcaklığa, pH'a, ve örnek çözgenine de bağlıdır. Floresans spectrum verileri çoğunlukla floroforların emisyon spektrumları ile gösterilir. Floresans spektrometre ile çalışmanın en temel faydası diğer spektroskopik teknikler arasında yüksek duyarlılığa sahip oluşudur. Düşük derişimlerde bile intensite ve florofor derişimleri arasında doğrusal bir ilişki gözlenir. Ancak daha yüksek derişimlerde, doğrusallıktan sapma görülür. Floresans verimini düşüren ve sıkça gözlenen sönümlenme, dinamik ve statik olmak üzere iki çeşittir (Şekil 2.12). Dinamik sönümlenmede, uyarılan floroforlar ile sönümlenmeyi gerçekleştiren türün temas halinde olması gerekir. Statik sönümlenmede ise florofor ile sönümlenmeyi sağlayan madde temel halde kararlı bir bileşik oluştururlar.

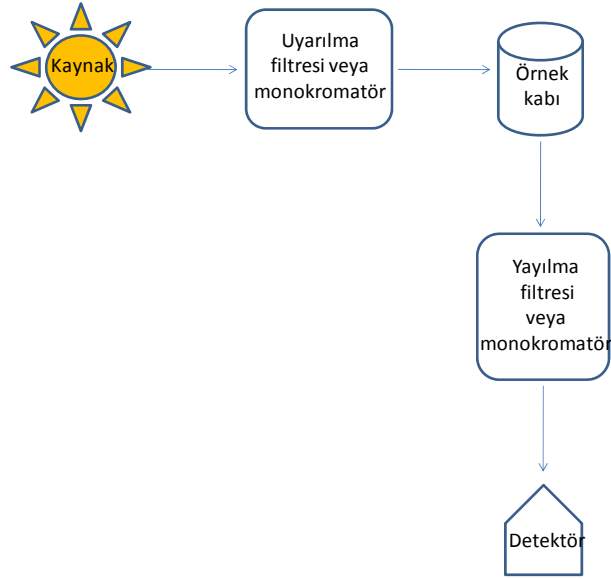
Eğer florofor ve sönmüleyici arasında dipol-dipol etkileşimi gerçekleşiyorsa, uzun aralıklı sönmüleme oluşur. Son olarak “inner filter effect” olarak tanımlanan ve floroforun yayılan ışığı soğurması sonucu oluşan etki de floresans verimini düşürür (Ingle et al., 1988).



Şekil 2.12. a) Uyarılmış florofor, b) dinamik sönmüleme, c) statik sönmüleme, d) uzun aralıklı sönmüleme, e) inner filter effect (Kaynak: Rinnan 2004).

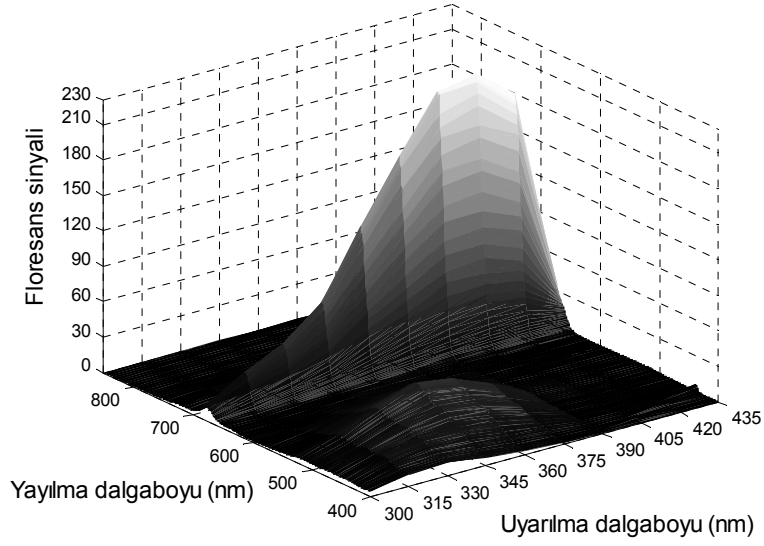
2.2.3.2. Enstrümental

Genel bir floresans cihazı, ışık kaynağı, uyarılma ve yayılma filtreleri olmak üzere iki ayrı dalgaboyu seçici ve detektörden oluşur. Şekil 2.13 tipik bir floresans cihazının optik diyagramını göstermektedir. Floresans cihazlar kullanılan dalgaboyu seçicilerine göre sınıflandırılır. Eğer her iki dalgaboyu seçici de filter ise cihaz, Florometre olarak adlandırılır. Eğer dalgaboyu seçiciler monokromatör ise bu durumda cihaz spektrofotometre olarak adlandırılır (Skoog et al. 1998). Genellikle florometrelerde kaynak olarak, erimiş silika pencerelere sahip düşük basınç civa buharı lambaları kullanılırken, spektrofotometrelerde ise ksenon ark lambalar kullanılır. Floresans sinyalleri genelde düşük intensitelere karşılık geldiğinden foto-çoğaltıcı tüpler detector olarak kullanılır. Ayrıca diyot-array ve yük transfer detektörleri de spektrofotometrelerde yaygın olarak kullanılan dedektörlerdir (Skoog et al. 1998).



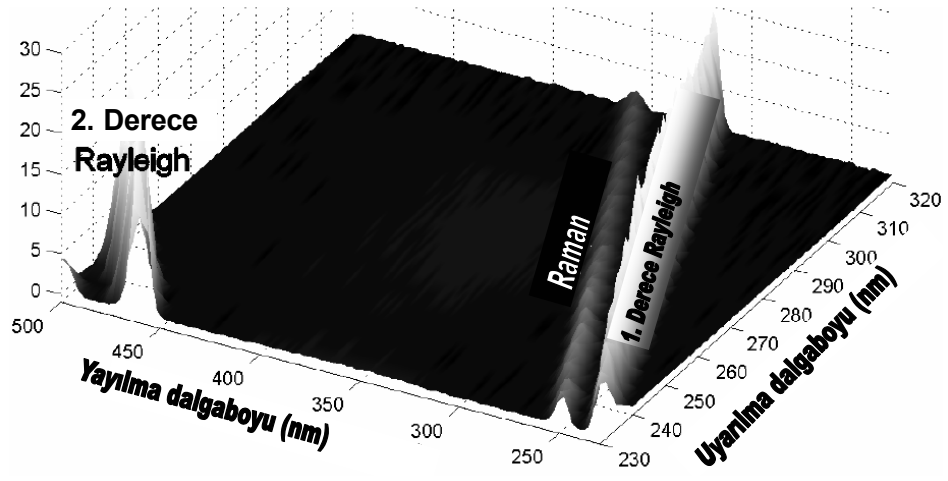
Şekil 2.13. Tipik bir floresans cihazın optik diyagramı.

Floresans cihazlarda, ışın demeti örneğin içinden geçer. Monokromatör veya filtreler aracılığıyla uyarılma spektrumu taranırken yayılma dalgaboyu sabit tutulur, yayılma spektrumu taranırken de uyarılma dalgaboyu sabit tutulur. (Her iki durumda da, iki monokromatör arasında sabit dalgaboyu offsetleri ile tarama gerçekleştirilir.) Sonuç olarak, floresans spectrum elde edilmiş olur. Eğer uyarılma dalgaboyu sabit tutularak yayılma spektrumu kaydedildiyse, üç boyutlu bir uyarılma-yayımla spektrumu elde edilir (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Tipik bir uyarılma-yayılma floresans spektrumu.

Uyarılma-yayılma spektrumlarında gözlenen bir diğer özellik de Raman ve Rayleigh saçılmalarıdır (Şekil 2.15) (Lakowicz 1988, Skoog et al. 1998). Rayleigh saçılması genellikle örnek çözeltideki çözünen ve floroforun kendisinden kaynaklanır. Saçılmaların boyutları gelen ışının dalgaboyundan daha küçüktür. Floresans ölçümlerinde, soğurma ve yayılma dalgaboyları aynıdır ve birden fazla dalgaboyunda gerçekleşen soğurmalarda, spektrumda saçılmalar gözlenir. Bu sebeple Rayleigh saçılmaları 1., 2. gibi numaralandırılır. Rayleigh saçılmaları esnek iken Raman saçılmaları esnek değildir. Raman saçılması, genellikle moleküllerin titreşim ve dönme enerji seviyelerine bağlıdır. Bu saçılmalar bazen, saçılma açılarına göre değişen küçük frekans kaymaları şeklinde oluşur (Ingle et al. 1988).



Şekil 2.15. Deiyonize suyun Raman ve Rayleigh saçılmalarını gösteren uyarılmayayılma floresans spektrumu. (iki Rayleigh piki (1. ve 2. dereceden) ve bir Raman piki) (Kaynak: Rinnan 2004).

BÖLÜM 3

ÇOK DEĞİŞKENLİ ANALİZ YÖNTEMLERİ

Uluslararası Kemometri Topluluğu'na göre kemometri, kimyasal sistemlerde yapılan ölçümlerin matematiksel veya istatistiksel yöntem uygulamaları ile ilişkilendirilmesidir. Kemometri, günümüzde analitik kimyanın bir dalı olarak kabul edilmektedir. Kemometrik teknikler, kaliteli veri toplama (deneysel parametrelerin optimizasyonu, deneysel tasarım, kalibrasyon, sinyal işleme) ve elde edilen veriden bilgi ayıklama (istatistik, örüntü tanıma, temel bileşen analizi) olarak iki alt grupta toplanabilir. Kemometri kullanımının amacı, kemometrik yöntemler ile kimya alanında yapılan çeşitli uygulamaları birleştirmektir. Bu bölümde kalibrasyon hakkında ön bilgi ve projede kullanılan genetik ters en küçük kareler yönteminin detayları verilecektir.

3.1. Kalibrasyon Yöntemleri

3.1.1. Genel Bakış

Kalibrasyon, bir cihazdan elde edilen ölçüm verileri ile ölçülen örnekler için kimyasal ya da fiziksel özellikler arasında bağlantı kurmaya yarayan bir model kurma işlemidir. Tahmin işlemi de örnekler için özelliklerin cihazdan elde edilen veriler kullanılarak kurulan model ile tespit edilmesidir. Modelleme, örneklerin belli konsantrasyon seviyelerindeki kimyasal içeriklerinin standart bir yöntemle ölçülmesi ve bu ölçümlerin cihaz verileriyle ilişkilendirilmesiyle yapılır. Sonra bu model, ileride bilinmeyen içerikteki örnekler için kullanılır (Beebe, et al. 1998). Bu projede, cihaz verileri yakın infrared spektrumlarından elde edilen absorpsiyon değerlerini temsil etmektedir. İçerik olarak, hazırlanan örneklerde bulunan çeşitli yağların kütlece yüzdesi (%w/w) kullanılmıştır.

Birçok uygulamada, cihazdan tek bir veri alınır ve konsantrasyon verisi ile ilişkilendirilir. Bu yöntem tek değişkenli kalibrasyon denilir, çünkü her bir örnek için cihazdan sadece bir veri kullanılır. Eğer bu işlem birden fazla cihaz verisi kullanılarak yapılırsa, bu işleme çok değişkenli kalibrasyon denilir. Ayrıca örnekler birden fazla bileşen içerebilir. Burada amaç bu bileşenlerin konsantrasyonlarını örneğin bir UV-Görünür absorpsiyon ölçümlerinden tahmin edebilmektir (Beebe, et al. 1998).

Bu kalibrasyon türü yıllardır kimyasal analizlerde kullanılmaktadır. Bir absorpsiyon çalışmasında veya kromatografik çalışmada, bir dalgaboyunda ölçülen absorbans değeri veya belli süredeki pik alanı alınır ve örneğin konsantrasyonu ile ilişkilendirilerek model kurulur. Eğer bu ilişki lineer ise iki tür kalibrasyon seçeneği vardır.

- Klasik kalibrasyon
- Ters kalibrasyon

Bu modeller Beer yasasına dayanmaktadır; yani bir dalgaboyundaki absorbans, absorptivite katsayısı, ışın yolu uzunluğu ve konsantrasyon ile doğru orantılıdır.

3.1.1.1. Klasik Kalibrasyon

Bu kalibrasyonda, spektroskopik bir dalgaboyundaki absorbans veya kromatografik bir pik alanı, konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak ele alınır. Klasik kalibrasyon için genel formül aşağıdaki gibidir:

$$\mathbf{a} \approx \mathbf{c} \cdot s \quad (3.1)$$

\mathbf{a} : belirli sayıdaki örneğe ait tek dalgaboyundaki absorbans değerlerinden oluşan vektör, \mathbf{c} : ölçülen absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyon değerlerinden oluşan vektör.

Burada s skalar bir katsayıdır ve aşağıdaki denklem kullanılarak tespit edilir.

$$s \approx (\mathbf{c}' \cdot \mathbf{c})^{-1} \cdot \mathbf{c}' \cdot \mathbf{a} \quad (3.2)$$

\mathbf{c}' : konsantrasyon vektörünün transpozu.

s değeri bulunduktan sonra, bilinmeyen bir örnek için tahmin modeli aşağıdaki gibi kurulur.

$$\hat{c} \approx \hat{a} / s \quad (3.3)$$

Burada a ve c skalar değerlerinin üzerindeki şapka sembolleri bu değerlerin tahmin değerleri olduğunu göstermektedir.

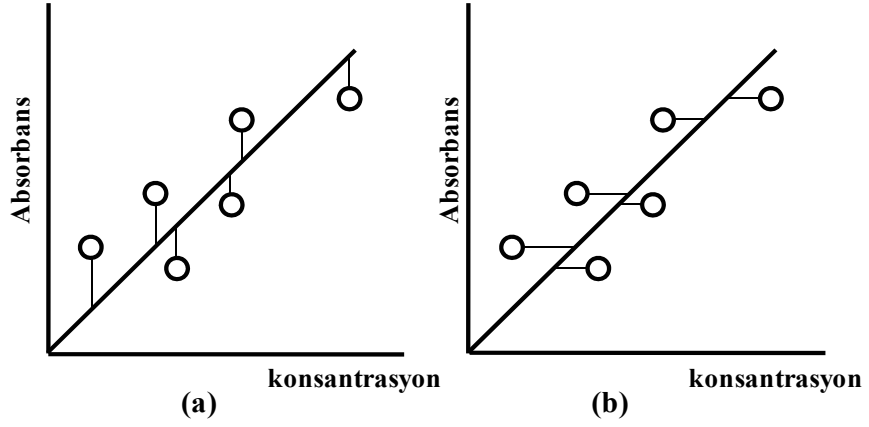
Tahmin modelinin başarısını kontrol etmek için hata değerleri hesaplanır. Hata değerleri gözlenen konsantrasyon değerleri ile tahmin edilen konsantrasyon değerleri arasındaki farktır.

$$e = c - \hat{c} \quad (3.4)$$

Daha düşük hata değeri modelin daha iyi olduğunu belirtmektedir (Brereton 2000).

3.1.1.2 Ters Kalibrasyon

Kalibrasyon modellerinin kullanımındaki amaç bir spektrumdan ya da kromatogramdan örneğe ait konsantrasyon değeri tahmin etmektir. Klasik kalibrasyonda hatalar cihaz kaynaklıdır. Fakat, günümüzde cihazların ölçüm tekrarlanabilirliğindeki gelişmeler cihazları daha güvenilir yapmaktadır. Öyleki, örneklerin derişim değerleri çoğunlukla gravimetrik olarak çeşitli seyreltmelerle tespit edildiğinden, bu işlemde gelecek hatalar cihazdan gelecek olan hatalardan daha yüksektir denilebilir. Daha uygun deyişle, hata kaynağı konsantrasyondan kaynaklanmaktadır. Aşağıdaki şekilde, cihaz kaynaklı ve konsantrasyon kaynaklı hataların farkları gösterilmektedir.



Şekil 3.1. a) Klasik ve (b) Ters kalibrasyon modellerinde hata dağılımları

O halde, ters kalibrasyon aşağıdaki gibi modellenenir.

$$\mathbf{c} \approx \mathbf{a} \cdot \mathbf{b} \quad (3.5)$$

Burada \mathbf{b} bir skalar değerdir ve \mathbf{s} değerinin yaklaşık olarak tersidir, çünkü her model hatalar için farklı biçimde varsayımda bulunur. \mathbf{b} değeri aşağıdaki denklem kullanılarak bulunur.

$$\mathbf{b} \approx (\mathbf{a}' \cdot \mathbf{a})^{-1} \cdot \mathbf{a}' \cdot \mathbf{c} \quad (3.6)$$

Elde edilen \mathbf{b} değeri kullanılarak konsantrasyonu bilinmeyen bir örneğin tahmini kolayca yapılabilir. (Brereton 2003).

$$\hat{\mathbf{c}} \approx \hat{\mathbf{a}} \cdot \mathbf{b} \quad (3.7)$$

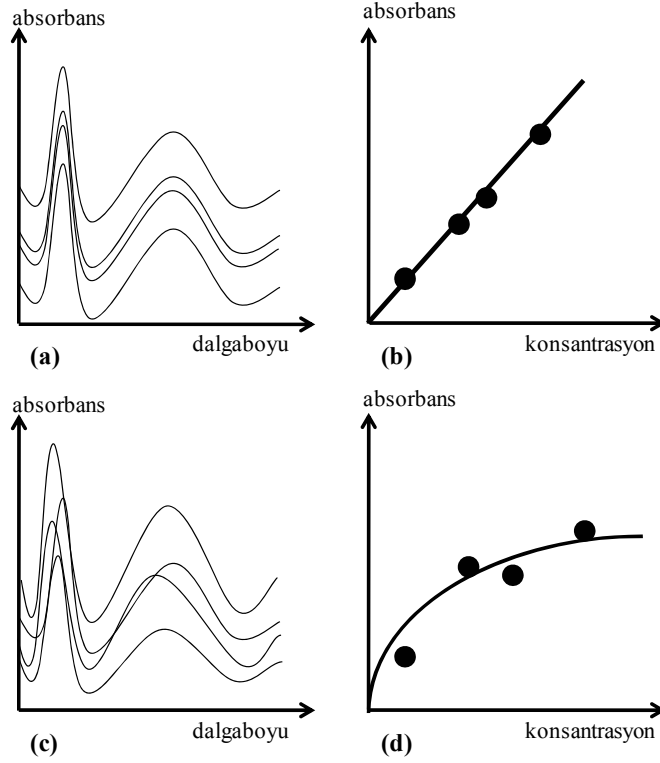
Kemometri alanında çalışanlar ters kalibrasyon modellerini tercih ederler ancak geleneksel analitik kitaplarında kalibrasyon yöntemleri çoğunlukla klasik kalibrasyon modelleri ile temsil edilmektedir. İyi bir veri seti için her iki model benzer tahmin değerleri vermelidir. Vermiyorsa, diğer faktörler (intersept, lineerlikten sapmalar, aykırı değerler, spektrumdaki gürültüler, vs.) gözden geçirilerek model yenilenmelidir (Brereton 2000).

3.1.2. Çok Değişkenli Kalibrasyon

Çok değişkenli kalibrasyon, karışım halinde bulunan örneklerdeki herhangi bir komponentin içeriğinin bulunması için çeşitli cihazlar aracılığı ile kullanılabilir. Ayrıca çok değişkenli kalibrasyon kullanımı yeni analitik cihazların geliştirilmesinin önünü açmıştır. Çünkü cihazlardan kaliteli veri elde etmek önem kazanmıştır. Bununla birlikte, çok değişkenli kalibrasyon geleneksel cihazların analitik kapasitesine ve güvenilirliğine katkı sağlamaktadır (Martens ve Naes 1989).

Çok değişkenli kalibrasyonun tek değişkenli kalibrasyona göre bazı avantajları vardır.

- 1) Bir örneğin aynı anda birden fazla komponenti için analiz yapılabilir. Tek değişkenli kalibrasyon ile her komponent için tek bir ölçüm kullanılır. Bu durumda harcanan zaman fazla olur (Beebe et al. 1998).
- 2) Tahmin aşamasında kesinlik, ölçümlerin tekrarı ve ortalamalarının hesaplanması ile geliştirilebilir. Bu da ortalamanın standart sapmasının azalmasına sebep olmaktadır. Bu işleme sinyal ortalanması denir (Beebe et al. 1998).
- 3) Çok değişkenli kalibrasyonun hata saptama özelliği bulunmaktadır. Yani, örnekteki bilinmeyen girişimlerin etkileri çok değişkenli kalibrasyon ile üstesinden gelinebilir. Tek değişkenli kalibrasyonda, girişim dolayısıyla analit konsantrasyonu hatalı tahmin edilebilir. Bu problemden kurtulmak için, analitin girişim yapan maddeden fiziksel olarak ayrılması sağlanabilir ya da daha seçici cihazlarla ölçümler yapılabilir. Ancak bu durum daha fazla çaba sarfetmek demektir. Aşağıdaki şekilde kalibrasyon eğrisinin girişimlerden nasıl etkilendiği görülmektedir. Çok değişkenli kalibrasyon ile girişimler yüzünden oluşan lineerlikten sapmalar daha fazla değişken seçilerek azaltılabilir ve daha iyi bir kalibrasyon eğrisi oluşturma imkanı sağlanabilir. Bu nedenle, girişimleri fiziksel olarak yok etmek için harcanan zaman ve çaba büyük ölçüde azaltılmış olur (Öztürk 2003).



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlara sahip ve girişim olmayan bir örneğin (a) spektrumları ve (b) tek değişkenli kalibrasyonla oluşturulan kalibrasyon eğrisi. Farklı konsantrasyonlara sahip ve girişim olan bir örneğin (c) spektrumları ve (d) tek değişkenli kalibrasyonla oluşturulan kalibrasyon eğrisi.

Çok değişkenli kalibrasyonda eşitliklerin iki şekilde yazılması mümkündür. İlki klasik kalibrasyondaki gibi absorbansın konsantrasyonun bir fonksiyonu olması durumudur. İkincisi ise ters kalibrasyondaki gibi konsantrasyonun absorbansın bir fonksiyonu olması durumudur. Tek değişkenli kalibrasyondan farkı, her bir örnek için birden fazla değişken veya tüm spektrumun kullanılmasıdır. Böylelikle tek değişkenli kalibrasyonda kullanılan absorbans vektörü bir matris haline dönüşür. Aynı zamanda birden fazla komponent için analiz yapılacaksa, konsantrasyon vektörü de bir matrise dönüşür.

Bu projede, genetik ters en küçük kareler yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemi açıklamadan önce, çok değişkenli kalibrasyon yöntemlerine genel bakış amacıyla klasik

en küçük kareler yönteminin ve ters en küçük kareler yönteminin detaylarından bahsetmekte yarar vardır.

3.1.2.1. Klasik En Küçük Kareler (Classical Least Squares, CLS)

Beer yasası dikkate alındığında, klasik en küçük kareler yöntemi aşağıdaki eşitlikteki gibi modellenir.

$$\mathbf{A} = \mathbf{C} \times \mathbf{K} + \mathbf{E} \quad (3.8)$$

A: örneklere ait farklı dalgalı boylarında alınan absorpsiyon değerlerinden oluşan matris.

C: çoklu komponente sahip örneklere ait konsantrasyon değerlerinden oluşan matris. Eğer örnekte bir komponentin analizi yapılıyorsa **c** vektörü olarak kullanılır.

K: absorptivite katsayısı ve ışın yolu uzunluğunun çarpımından gelen sabit matris. Bu matrisin her elemanı örneğin belli dalgalı boyundaki absorpsiyon ölçümlerine ait absorptivite katsayılarına karşılık geldiği söylenebilir.

E: hata matrisi.

K matrisi aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$\mathbf{K} = (\mathbf{C}' \cdot \mathbf{C})^{-1} \cdot \mathbf{C}' \cdot \mathbf{A} \quad (3.9)$$

Tahmin basamağında, bilinmeyen konsantrasyonlu bir örneğin spektrumu alınır (**â**). Hesaplanan **K** matrisi ve **â** vektörü kullanılarak konsantrasyon değerine aşağıdaki eşitlik yardımı ile ulaşılır.

$$\hat{\mathbf{c}} = \hat{\mathbf{a}} \cdot \mathbf{K}' \cdot (\mathbf{K} \cdot \mathbf{K}')^{-1} \quad (3.10)$$

Burada, tahmin için kullanılan notasyonların vektör olduğu görülmektedir. Bunun sebebi, bilmeyen örnekte birden fazla komponent olması ve birden fazla absorpsiyon değeri bulunmasıdır. Tahmin basamağının ardından hata değeri referans ve tahmin konsantrasyon değerlerinin farkından aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$\mathbf{e} = \mathbf{c} - \hat{\mathbf{c}} \quad (3.11)$$

Özetlenecek olursa, CLS yöntemi örneklerdeki bütün komponentlerin ölçülebildiği basit sistemlere uygulanabilir. Bir CLS modeli oluşturmak için, örneklere ait her analitin bilgisini içeren spektrumlar alınır. Bu spektrumlar kullanılarak spektral matris oluşturulur ve ardından modelleme yapılır. Bu kalibrasyon modeli de bilinmeyen örneklerdeki komponentlerin konsantrasyonunu tahmin etmede kullanılır.

CLS yönteminin kullanım amacına bağlı olarak avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Ölçümlerin konsantrasyonla lineerlik göstermesi, lineer toplanabilirlik ve örnekteki bütün komponentlerin bilinmesi gibi şartlar vardır. Modellemenin kolayca yapılabilmesi ise bir avantajdır. Az sayıda örnekle kalibrasyon modeli oluşturulabilir. Çok sayıda değişken kullanıldığı için, spektrumlardan gelen örtüşme kaynaklı sorunların azaltılması ihtimali bulunmaktadır (Beebe, et al. 1998).

3.1.2.2. Ters En Küçük Kareler Yöntemi (Inverse Least Squares, ILS)

Bazı durumlarda CLS ile başarılı sonuç alınmayabilir, çünkü sistem kolay olmayabilir veya bilinmeyen örneklerdeki analitler için düzgün spektrum elde edilemeyebilir. Böyle durumlar için daha önce çeşitli yaklaşımlar olmuş ve günümüze ışık tutmuştur (Haaland and Thomas 1988).

Ölçümler ile konsantrasyon değerleri arasındaki ilişki CLS'deki gibi modellenir, ancak bu durumda konsantrasyon absorbans değerlerinin fonksiyonu olarak ele alınır. Bu ilişki aşağıdaki eşitlikteki gibidir.

$$\mathbf{C} = \mathbf{A} \times \mathbf{P} + \mathbf{E} \quad (3.12)$$

Bu eşitlikte aynı CLS'deki gibi \mathbf{C} konsantrasyon matrisi, \mathbf{A} absorbans matrisi ve \mathbf{E} hata matrisidir. \mathbf{P} matrisi ise model katsayılarını içerir ve aşağıdaki gibi hesaplanır.

$$\mathbf{P} = (\mathbf{A}' \cdot \mathbf{A})^{-1} \cdot \mathbf{A}' \cdot \mathbf{C} \quad (3.13)$$

Çoklu komponente sahip bir örneğin konsantrasyonu aşağıdaki eşitlik kullanılarak tahmin edilir.

$$\hat{\mathbf{c}} = \hat{\mathbf{a}} \cdot \mathbf{P} \quad (3.14)$$

Hata, yine CLS modelindeki gibi, referans ve tahmin edilen konsantrasyon değerlerinin farkıdır.

$$\mathbf{e} = \mathbf{c} - \hat{\mathbf{c}} \quad (3.15)$$

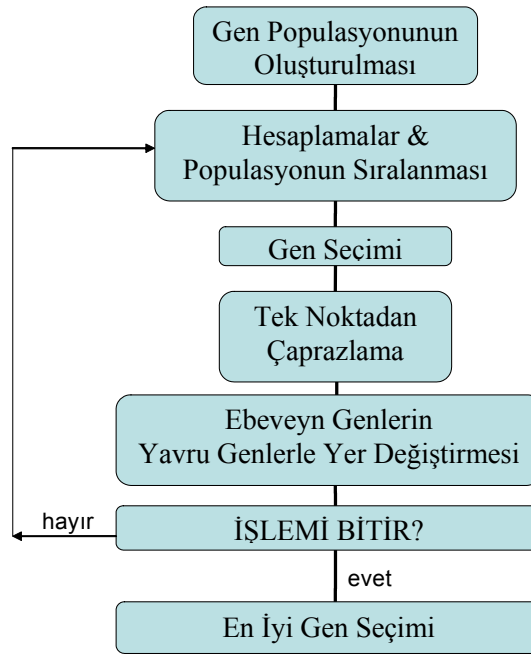
Özetlenecek olursa, ILS sadece analit konsantrasyonunun bilindiği durumlarda başarılı kalibrasyonlar kurmada kullanılabilir. Yani, örneğin içinde bulunan tüm komponentlerin bilinmesine gerek yoktur. ILS yönteminde bütün spektrumu kullanmak yerine değişkenlik gösteren bölgelerin kullanılması gerekir. Ayrıca ILS'de aykırı değerlerin tespiti ve dalgaboyu seçimi için verimli yöntemler bulunmasının zorluğu gibi zayıflıklar bulunmaktadır. Ayrıca, absorbans değerleri arasındaki kolineerlik modelin validasyonunda sorunlara yol açabilmektedir. Bu sebeple, kalibrasyon kurulurken en iyi dalgaboyu setininin seçilmesi oldukça önemlidir (Beebe, et al. 1998).

3.1.2.3. Genetik Ters En Küçük Kareler (Genetic Inverse Least Squares) (GILS)

Bu yöntem, genetik algoritmaların (GA) dalgaboyu seçiminde kullanıldığı, ILS'nin değiştirilmiş halidir. GA, Darwin'in doğal seleksiyon prensibine dayanan optimizasyon yöntemleridir (Wang, et al. 1991). Darwin teorisine göre, çevreye daha iyi uyum sağlayan bireyler hayatta kalmaya ve üremeye daha yatkındırlar; böylelikle genetik bilgilerini bir sonraki nesillere aktarabilmektedirler. Çevreye uyum sağlayamayan bireyler de yok olmaya mahkumdurlar. Bu işlem nesiller boyu süren ve yavaş işleyen bir süreçtir ve yaşayan türler daha iyiye doğru gelişim sürecindedir. 1960'larda, biyologlar bilgisayar ile genetik sistem simülasyonları yapmaya başlamışlardır. GA ile ilk çalışmaları Holland yapmış ve bağdaşır sistemler üzerine olan çalışmalarında kullanmıştır (Gilbert, et al. 1997). Sonraki yıllarda GA bilim adamlarının dikkatini çekmiş ve kemometri dahil olmak üzere bir çok optimizasyon problemlerine uygulanmıştır (Fontain 1992, Cong and Li

1994, Wienke, et al. 1993, Hibbert 1993, Lucasius and Kateman 1991). Kalibrasyon açısından da GA'ın dalgaboyu seçimi için kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır (Lucasius, et al. 1994, Lucasius and Kateman 1992, Paradkar and Williams 1997, Ozdemir, et al. 1998a, Ozdemir, et al. 1998b, Ozdemir and Williams 1999).

Tipik bir genetik algoritmanın uygulanması beş temel basamaktan oluşmaktadır. Bu basamaklar aşağıdaki şekilde gösterilmektedir.



Şekil 3.3. GILS'de kullanılan genetik algoritmanın genel akım şeması

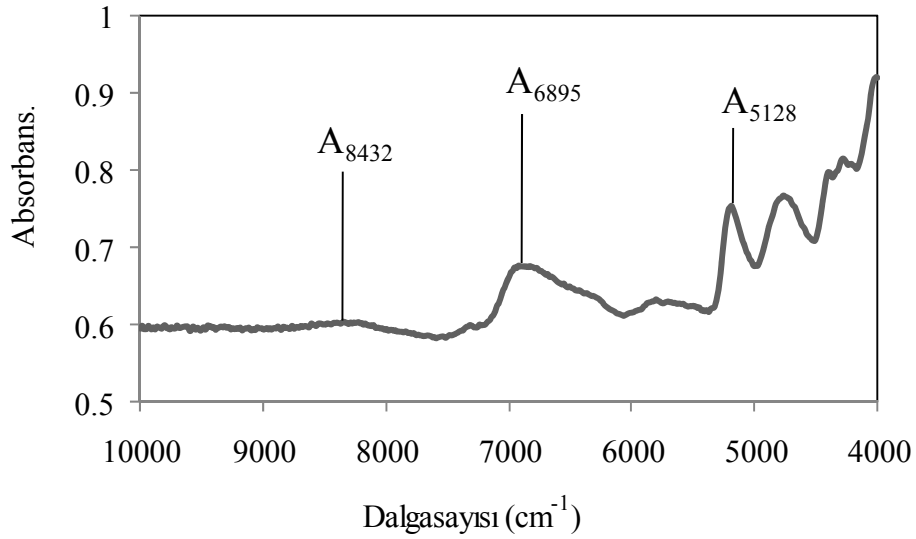
3.1.2.3.1. Oluşum (Initialization)

Gen, verilen bir problemin potansiyel çözümü olarak tanımlanır. Bir genin şekli, uygulamadan uygulamaya veya araştırılan probleme göre değişiklik gösterebilir. Popülasyon ise o anki nesle ait genlerden oluşan bir topluluk olarak tanımlanır.

Oluşturulan gen havuzunda, bir gen gelişigüzel seçilen dalgaboylarına karşılık gelen absorbans değerlerinden oluşur. Gen uzunluğu önceden belirlenir. Örnek bir gen aşağıdaki gibidir:

$$S = [A_{8432} A_{6895} A_{5128}]$$

Burada S bir geni temsil eder, A ise belirtilen dalgaboyundaki absorptans değerini temsil eder. Her rnek için absorptans değerinin bir vektör olduğu düşünüldüğünde, bu vektörler birleştirilince absorptans matrisi oluşur, yani gen aslında bu matristir. Aşağıdaki şekilde bir odun örneğine ait seçilen gen şematik olarak gösterilmektedir. Popülasyon da önceden belirlenen sayıdaki genlerden oluşmaktadır.



şekil 3.4. Bir odun örneğine ait NIR spektrumundan seçilmiş bir genin gösterimi

(Kaynak: Karaman 2008)

3.1.2.3.2. Hesaplamalar ve Popülasyonun Sıralanması (Evaluate and Rank the Population)

Bir genin analit konsantrasyonunu tahmin etmedeki başarisını ölçmek için bir uygunluk fonksiyonu kullanılır. Burada kalibrasyon standart hatasının (SEC) tersi

kullanılmıştır. SEC değeri gene ait absorbands değerleriyle oluşturulan ILS modelinden aşağıdaki eşitlik ile hesaplanır.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (c_i - \hat{c}_i)^2}{m-2}} \quad (3.16)$$

Burada c_i referans, \hat{c}_i ise tahmin konsantrasyon değerleridir, her biri i 'nci örneğe aittir ve m örnek sayısıdır. Özgürlük derecesi $m-2$ 'dir, çünkü lineer model düşünüldüğünde referansa karşı tahmin konsantrasyon değerlerinin grafiğinde sadece iki parametreyi çıkarabiliriz. Bunlarda doğrunun eğimi ve kesim noktasıdır. Her basamakta, uygunluk değerinin artması amaçlanır.

3.1.2.3.3. Gen Seçimi (Selection of Genes for Breeding)

Bu basamakta, geçerli popülasyondaki ebeveyn genler üreme için uygunluk değerlerine göre seçilir. Burada amaç yüksek uygunluk değerine sahip genlere daha fazla üreme şansı vermektir. Böylelikle uzun vadede daha iyi olan bireyler bilgilerini diğer nesillere daha yüksek ihtimalle aktarırlar. Yani probleme daha uygun olan genlerin daha iyi yavru vermesi beklenmektedir. Düşük uygunluk değerli olan genlere daha az üreme şansı verilir ve bunun sonucunda çoğunluğu bilgisini aktaramaz. Ebeveyn seçimi için birkaç yöntem bulunmaktadır (Wang, et al. 1991). Üstten alta doğru seçim en basit yöntemdir. Genler uygunluk değerlerine göre sıralanır ve baştan ikiye bölünür. Genlerin çaprazlanması sağlanır. Rulet tekerleği yönteminde, ki GILS'de bu yöntem kullanılmakta, genin seçilme ihtimali uygunluk değeri ile doğru orantılıdır. Rulet tekerleğinin üzerindeki her bölme bir geni temsil etmektedir. Ancak yüksek uygunluk değerine sahip olan gen rulet tekerleğinde daha büyük bir alana sahiptir. Aynı şekilde, daha düşük uygunluk değerine sahip olan gen daha az bir alana sahiptir. Bu durumda, rulet tekerleği döndürüldüğünde yüksek uygunluk değerine sahip olan genin seçilme ihtimali daha yüksek olmaktadır. Bu yöntemde, bazı genler birden fazla defa seçilebilir,

bazısı da hiç seçilmeyip bir sonraki nesile geçemeyebilir. Seçilen genlerin üstten ikişerli olarak çaprazlanması sağlanır ve bir sonraki aşamaya geçilir.

3.1.2.3.4. Tek Noktadan Çaprazlama (Crossover and Mutation)

Genetik alırtmada işlemin çoğu bu basamakta yapılır. Bu basamakta genlerin gelişigüzel seçilen birer noktadan kopması sağlanır ve çapraz eşleşmeleri aşağıdaki örnekteki gibi yapılır:

S_1 ve S_2 'nin ebeveyn genler, S_3 ve S_4 'ün de bu genlere ait yavru genler olduğunu varsayalım.

$$S_1 = [A_{4255} A_{5732} \oplus A_{9237} A_{4890}]$$

$$S_2 = [A_{5123} A_{8457} A_{9743} A_{7832} \oplus A_{8922}]$$

$$S_3 = [A_{4255} A_{5732} A_{8922}]$$

$$S_4 = [A_{5123} A_{8457} A_{9743} A_{7832} A_{9237} A_{4890}]$$

Burada, S_1 'in birinci parçası S_2 'nin ikinci parçası ile birleşerek S_3 'ü, aynı şekilde S_1 'in ikinci parçası S_2 'nin birinci parçası ile birleşerek S_4 'ü oluşturmaktadır. Bu işleme tek noktadan çaprazlama denir ve GILS'de bu kullanılmıştır. \oplus sembolü, genlerin ayrıldığı yeri belirtmek için kullanılmıştır. Tek noktadan çaprazlama, ebeveyn genler aynı olduğu durumda farklı yavrular üretmez. Bu duruma rulet tekerleği yönteminde rastlanabilir. Bu durumu azaltmak için iki noktadan çaprazlama kullanılabilir.

3.1.2.3.5. Ebeveyn Genlerin Yavru Genlerle Yer Değiştirmesi (Replacing the Parent Genes by Their Off-springs)

Çaprazlamanın ardından, ebeveyn genler yavru genler ile yer değiştirir. Daha sonra aynı işlemler yavru genler için tekrarlanır. Önceden belirlenen iterasyon sayısı kadar devam eder.

İterasyonlar tamamlandığında, en düşük SEC değerine (en büyük uygunluk değeri) sahip gen modelleme için seçilir. Bu model validasyon setindeki analizi yapılan örnekteki komponentin konsantrasyonunu tahmin etmede kullanılır. Modelin validasyon setini tahmin etmedeki başarısı tahmin standart hatası (SEP) ile ölçülür:

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (c_i - \hat{c}_i)^2}{m}} \quad (3.17)$$

Bu eşitlikte m validasyon setindeki örnek sayısıdır.

3.1.2.3.6. Sonlandırma (Termination)

Algoritmanın sonlandırılması daha önceden tanımlanmış olan iterasyon sayısına ulaşıldığında yapılır. Ancak bunu optimize etmek için bir istatistiksel test uygulanmamıştır, halbuki uygulanabilir. GILS'de rastgele işlemlere oldukça yer verildiği için, program da her komponent için belirli sayıda çalışmaya ayarlanmıştır. En iyi sonucu veren program, yani en düşük SEC veren ve aynı anda benzer aralıkta SEP veren, ileriki analizlerde kullanılmak üzere seçilir.

GILS yönteminin klasik tek değişkenli ve çok değişkenli yöntemlere göre bazı avantajları vardır. Öncelikle, modelleme ve tahmin basamağındaki matematiksel işlemler kolay ve anlaşılırdır. Ayrıca, indirgenmiş veri seti kullanan çok değişkenli kalibrasyon yöntemlerine karşı da avantajı bütün spektrumu kullanıyor olmasıdır. Bütün spektral bölgede bulunabilecek lineerlikten sapmaları da dalgaboyu seçimi ile önleyebilme özelliği de bulunmaktadır.

BÖLÜM 4

Örnek Hazırlama, Enstrümental Ölçüm ve Veri Analizi

Marketlerden alınan zeytin yağı, ayçiçek yağı, kanola yağı, fıstık yağı ve mısırözü yağlarının gelişigüzel tasarımıyla ikili, üçlü, dörtlü ve beşli karışımları hazırlanmıştır. Bu karışım setlerinin floresans, yakın infrared ve FTIR ölçümleri alınmış, bu veriler kullanılarak genetik ters en küçük kareler (GILS) yöntemiyle kalibrasyon modelleri oluşturulmuştur. Floresans ölçümleri için, ksenon flaş ışın kaynağına sahip Varian Cary Eclipse spektrofotometre kullanılmıştır. Bu ölçümler, uyarılma-emisyon floresansı (EEF) ve senkronize floresans (SF) olmak üzere iki ayrı mod kullanılarak yapılmıştır. Yakın infrared ölçümleri için Bio-Rad Excalibur serisi FTS 3000 yakın infrared spektrometresi kullanılmıştır. FTIR ölçümleri Perkin Elmer Spectrum 100 modeli FTIR spektrometresine bağlanmış Elmas-ZnSe ATR aksesuarı ile ölçüm alınmıştır.

EEF spektrumları, örneklerin 15 nm ($\Delta\lambda$) dalgaboyu artışlarla 320-425 nm dalgaboyu aralığında uyarılmasıyla toplanmıştır. Bu ölçüm sırasında emisyon dalgaboyu aralığı 320-800 nm dalgaboyu aralığına ayarlanmıştır. SF ölçümleri ise 250-750 nm dalgaboyu aralığında, 20 nm ($\Delta\lambda$) artışlarla gerçekleştirilmiştir. Uyarılma ve emisyon monokromatörlerinin slit aralığı, her iki mod için de (EEF ve SF) 5 nm olarak ayarlanmıştır. Ölçümler için 1 cm ışın yoluna sahip floresans küvetleri kullanılmıştır.

Yakın infrared (NIR) ölçümleri 8 cm^{-1} çözünürlükte 64 kere taranarak $10,000 - 4500\text{ cm}^{-1}$ dalgasayısı aralığında 5 mm ışinyoluna sahip kuartz kuvet kullanılarak alınmıştır. Her ölçümden önce boş kuartz kuvet zemin ölçümü alınmış ve örnek okuması gerçekleştirilmiştir.

FTIR ölçümleri 4 cm^{-1} çözünürlükte 4 kere taranarak Elmas-ZnSe ATR aksesuarı ile $4,000 - 600\text{ cm}^{-1}$ dalgasayısı aralığında gerçekleştirilmiştir.

Toplanan tüm spektrumlar bir başka bilgisayara alınarak, veri analizi gerçekleştirilmiştir. Kullanılan örneklerden bir kısmı, en yüksek ve en düşük bileşen derişimlerine sahip olanları içermesine dikkat edilerek, rastgele seçilmiş ve kalibrasyon

seti olarak belirlenerek, model kurulmuştur. Geriye kalan örnekler ise validasyon seti olarak belirlenmiştir. Kalibrasyon ve validasyon seti örneklerinin yüzde derişimleri sonuçların açıklandığı bölümde detaylı olarak tablolarla verilmiştir. Her bileşen için kurulan kalibrasyon modelleri, MATLAB 7.0.1 yazılım programı kullanılarak yaratılan, genetik algoritmaya dayalı ters en küçük kareler (GILS) yöntemiyle yapılmıştır.

BÖLÜM 5

BULGULAR VE TARTIŞMA

Zeytinyağlarının taşıdığı için marketlerden temin edilen çeşitli bitkisel yağlar ve zeytinyağı karıştırılarak örnek setleri hazırlanmıştır. Tüm bu örnekler ikili, üçlü, dördü, ve beşli karışımları içerecek şekilde dizayn edilmiştir. Örnekler direkt olarak çeşitli spektroskopik tekniklerden yararlanılarak ölçülmüştür. Kullanılan spektroskopik teknikler yakın infrared (Near infrared, NIR), orta infrared (Middle infrared, MIR) ve florescence spektroskopisi teknikleridir. Her üç cihazdan toplamda 4 değişik veri toplanmış her bir çoklu karışım için çok değişkenli kalibrasyon tekniği olan genetik algoritmaya dayalı ters en küçük kareler (Genetic inverse least square, GILS) yöntemi ile her bir bileşene ait kalibrasyon modelleri kurulmuştur. Bu bölümde elde edilen bulgular her bir teknik ve karışım setleri için ayrı ayrı verilecek ve sonuçlar tartışılacaktır.

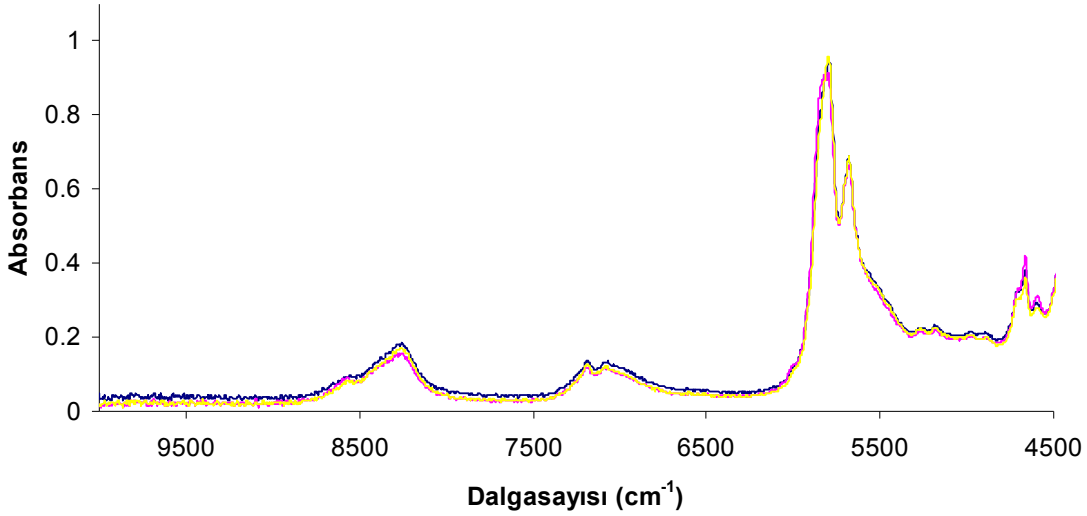
5.1. Yakın İnfrared Ölçüm Sonuçları

5.1.1. Zeytin, Pamuk, ve Soya Yağı İkili Ve Üçlü Karışımlara Ait Yakın İnfrared Sonuçları

Saf haldeki bitkisel yağlara ve karışımlarına ait NIR spektrumlarını incelediğimizde gözle ayırt etmek neredeyse imkansızdır. Özellikle bitkisel yağ karışımlarında her bir bileşen hemen hemen aynı kimyasal özelliklere sahip oldukları için spektroskopik bir çalışmada bileşenlere ait dalgaboylarını seçmek zordur (Şekil 5.1).

Spektral çalışmalarda daha önce de bahsedildiği üzere bu yağlara ait karışımlar da aynı dalgasayılarında aynı spektral özellikleri göstermekte, sadece madde miktarlarından ötürü absorbans değerinde bir artış olmaktadır. NIR spektroskopisinin temel prensibi, orta infrared bölgesindeki temel titreşim hareketlerine ait overtonlarının

yakın infrared bölgesinde gözlemlenmesidir. CH, OH ve CO, yakın infrared bölgesinde gözlemlenebilen fonksiyonel gruplardır.



Şekil 5.1. Saf haldeki soya yağı, zeytin yağı ve pamuk yağlarının 2 mm ışınıyoluna sahip kuvars küvetler kullanılarak alınan yakın infrared spektrumları.

Şekil 5.1'de 4500–10000 cm^{-1} aralığında saf haldeki yağların spektrumları verilmektedir. 4606 cm^{-1} 'de görülen bant -CH=CH- grubuna ait olup C-H bağı asimetrik gerilmesini ve C=C gerilmesini göstermektedir. 4671 cm^{-1} de yine -CH=CH- grubuna ait =C-H ve C=C gerilmelerini temsil etmektedir. Spektrumdan elde edilen maksimum absorbansın dalga sayısı 5809 cm^{-1} dir. Bu maksima -CH₂ fonksiyonel grubuna ait C-H bağının birinci overtonunu, 5682 cm^{-1} de omuz veren pik ise -C-H için birinci overtondur. 7213 cm^{-1} de görülen zayıf ve geniş bant CH₃ fonksiyonel grubuna ait C-H gerilme titreşimlerini gösterirken, 7109 cm^{-1} de omuz veren bir diğer zayıf ve geniş bant ise CH₂ grubuna ait C-H gerilme titreşimlerini göstermektedir. Spektrumda yer alan bir diğer önemli pik ise 8286 cm^{-1} de gözlenmiştir. Bu pik CH₂ fonksiyonel grubuna ait olup C-H gerilmelerini ve ikinci overtonu temsil etmektedir.

Bitkisel yağların matriksi düşünüldüğünde hemen hemen aynı matrikse ait olmaları, bu yağlara ait karışımlarının tayininde güçlük olmasına sebep olmaktadır.

Sadece yakın infrared spektrometresi ile yapılan çalışmalarda değil, kromotografik çalışmalar da bu yağların ayırımında ve tayininde kullanılan başka bir teknik olmasına rağmen zor ve çok zaman alıcıdır. Bu nedenle çok değişkenli kalibrasyon metotlarını tercih etmekteyiz.

Tablo 5.1. Kalibrasyon setindeki üçlü karışımlara ait her bir bileşenin kütlece yüzde içerikleri.

| Örnek No | Pamuk Yağı (w/w) | Soya Yağı (w/w) | Zeytin Yağı (w/w) | Örnek No | Pamuk Yağı (w/w) | Soya Yağı (w/w) | Zeytin Yağı (w/w) |
|----------|------------------|-----------------|-------------------|----------|------------------|-----------------|-------------------|
| 1 | 29,06 | 11,07 | 59,87 | 18 | 15,01 | 16,06 | 68,93 |
| 2 | 26,98 | 7,05 | 65,97 | 19 | 1,04 | 25,07 | 73,89 |
| 3 | 22,08 | 16,07 | 61,85 | 20 | 4,05 | 6,09 | 89,86 |
| 4 | 16,05 | 9,09 | 74,86 | 21 | 18,00 | 8,09 | 73,91 |
| 5 | 3,03 | 6,07 | 90,9 | 22 | 20,07 | 8,97 | 70,96 |
| 6 | 4,00 | 8,00 | 88,00 | 23 | 11,96 | 14,95 | 73,09 |
| 7 | 8,01 | 11,05 | 80,93 | 24 | 1,01 | 1,00 | 97,99 |
| 8 | 22,99 | 8,95 | 68,06 | 25 | 18,08 | 13,06 | 68,86 |
| 9 | 27,02 | 1,04 | 71,93 | 26 | 14,02 | 25,97 | 60,01 |
| 10 | 20,98 | 2,11 | 76,91 | 27 | 19,02 | 8,94 | 72,04 |
| 11 | 29,94 | 0,00 | 70,06 | 28 | 5,04 | 25,03 | 69,93 |
| 12 | 0,00 | 30,00 | 70 | 29 | 2,04 | 8,98 | 88,98 |
| 13 | 9,04 | 1,06 | 89,9 | 30 | 3,00 | 12,09 | 84,91 |
| 14 | 2,11 | 3,03 | 94,86 | 31 | 20,91 | 0,00 | 79,09 |
| 15 | 19,94 | 13,08 | 66,98 | 32 | 5,08 | 31,9 | 63,02 |
| 16 | 12,96 | 0,00 | 87,04 | 33 | 28,03 | 9,01 | 62,96 |
| 17 | 0,00 | 24,04 | 75,96 | 34 | 10,04 | 17,00 | 72,97 |

Ölçümü alınan setler kalibrasyon ve validasyon seti olarak ikiye ayrılmıştır. Üçlü karışımlarda 34 örnek kalibrasyon seti içinde yer almakta, diğer taraftan validasyon seti toplam 16 örnek içerecek şekilde düzenlenmiştir (Tablo 5.1 ve Tablo 5.2). İkili

karışımlarda ise kalibrasyon seti toplamda 22 örnek olacak şekilde düzenlenirken, validasyon setine 10 örnek ayrılmıştır (Tablo 5.3, Tablo 5.4, Tablo 5.5 ve Tablo 5.6). Kalibrasyon seti, kullanılan bitkisel yağların saf hallerini de içermektedir. Her iki örnek seti için de spektral yanıtları içeren absorbanans matrisleri oluşturulmuştur. Bu matrisler de her bir örnek için 3 tekrarlı NIR ölçümleri alındığından, toplamda örnek sayısının üç katını içeren spektrum sayısı bulunmaktadır. GILS yöntemi ile kalibrasyon modelleri her bir bileşen için tek tek kurulmuş ve test edilmiştir. Genetik algoritmanın doğası gereği rastgele seçime dayalı olan GILS yöntemi ile çalışılırken gen sayısı 50, iterasyon sayısı 30 ve program tekrar sayısı 10'a ayarlanmıştır.

Tablo 5.2. Validasyon setindeki üçlü karışımlara ait her bir bileşenin kütlece yüzde içerikleri.

| Örnek No | Pamuk Yağı (w/w) | Soya Yağı (w/w) | Zeytin Yağı (w/w) | Örnek No | Pamuk Yağı (w/w) | Soya Yağı (w/w) | Zeytin Yağı (w/w) |
|----------|------------------|-----------------|-------------------|----------|------------------|-----------------|-------------------|
| 1 | 3,97 | 18,04 | 77,99 | 9 | 13,00 | 6,08 | 80,92 |
| 2 | 2,05 | 6,96 | 90,98 | 10 | 17,02 | 13,05 | 69,93 |
| 3 | 15,07 | 25,00 | 59,93 | 11 | 18,04 | 3,01 | 78,94 |
| 4 | 18,98 | 16,97 | 64,05 | 12 | 3,98 | 19,07 | 76,95 |
| 5 | 5,05 | 10,07 | 84,88 | 13 | 7,12 | 4,94 | 87,94 |
| 6 | 10,94 | 6,10 | 82,96 | 14 | 8,06 | 25,94 | 66,01 |
| 7 | 10,97 | 15,04 | 74,00 | 15 | 18,97 | 2,08 | 78,96 |
| 8 | 12,02 | 22,04 | 65,94 | 16 | 1,02 | 13,04 | 85,93 |

Tablo 5.3. Kalibrasyon setindeki zeytin-pamuk yağı ikili karışımlarına ait herbir bileşenin kütlece yüzde içerikleri.

| Örnek No | Zeytin Yağı (w/w) | Pamuk Yağı (w/w) | Örnek No | Zeytin Yağı (w/w) | Pamuk Yağı (w/w) |
|----------|-------------------|------------------|----------|-------------------|------------------|
| 1 | 86,87 | 13,13 | 12 | 69,98 | 30,02 |
| 2 | 66,04 | 33,96 | 13 | 83,32 | 16,68 |
| 3 | 98,82 | 1,18 | 14 | 66,00 | 34,00 |
| 4 | 95,96 | 4,04 | 15 | 89,98 | 10,02 |
| 5 | 68,98 | 31,02 | 16 | 75,94 | 24,06 |
| 6 | 80,99 | 19,01 | 17 | 67,01 | 32,99 |
| 7 | 81,9 | 18,10 | 18 | 97,97 | 2,03 |
| 8 | 62,05 | 37,95 | 19 | 63,00 | 37,00 |
| 9 | 60,02 | 39,98 | 20 | 95,85 | 4,15 |
| 10 | 76,04 | 23,96 | 21 | 60,96 | 39,04 |
| 11 | 84,91 | 15,09 | 22 | 100,00 | 0,00 |

Tablo 5.4. Kalibrasyon setindeki zeytin-soya yağı ikili karışımlarına ait herbir bileşenin kütlece yüzde içerikleri.

| Örnek No | Zeytin Yağı (w/w) | Soya Yağı (w/w) | Örnek No | Zeytin Yağı (w/w) | Soya Yağı (w/w) |
|----------|-------------------|-----------------|----------|-------------------|-----------------|
| 1 | 87,01 | 12,99 | 12 | 69,95 | 30,05 |
| 2 | 65,97 | 34,03 | 13 | 83,18 | 16,82 |
| 3 | 99,00 | 1,00 | 14 | 65,99 | 34,01 |
| 4 | 95,88 | 4,12 | 15 | 89,95 | 10,05 |
| 5 | 68,98 | 31,02 | 16 | 75,97 | 24,03 |
| 6 | 81,00 | 19,00 | 17 | 66,99 | 33,01 |
| 7 | 81,99 | 18,01 | 18 | 97,99 | 2,01 |
| 8 | 61,96 | 38,04 | 19 | 62,99 | 37,01 |
| 9 | 59,93 | 40,07 | 20 | 95,91 | 4,09 |
| 10 | 75,84 | 24,16 | 21 | 60,97 | 39,03 |
| 11 | 84,96 | 15,04 | 22 | 100,00 | 0,00 |

Tablo 5.5. Validasyon setindeki zeytin–soya yağı ikili karışımlarına ait herbir bileşenin kütlece yüzde içerikleri

| Örnek No | Zeytin Yağı (w/w) | Soya Yağı (w/w) |
|----------|-------------------|-----------------|
| 1 | 87,82 | 12,18 |
| 2 | 64,01 | 35,99 |
| 3 | 92,99 | 7,01 |
| 4 | 73,95 | 26,05 |
| 5 | 90,86 | 9,14 |
| 6 | 73,97 | 26,03 |
| 7 | 80,00 | 20,00 |
| 8 | 67,95 | 32,05 |
| 9 | 96,91 | 3,09 |
| 10 | 81,93 | 18,07 |

Tablo 5.6. Validasyon setindeki zeytin-pamuk yağı ikili karışımlarına ait herbir bileşenin kütlece yüzde içerikleri

| Örnek No | Zeytin Yağı (w/w) | Pamuk Yağı (w/w) |
|----------|-------------------|------------------|
| 1 | 88,03 | 11,97 |
| 2 | 64,08 | 35,92 |
| 3 | 93,01 | 6,99 |
| 4 | 74,00 | 26,00 |
| 5 | 90,92 | 9,08 |
| 6 | 73,96 | 26,04 |
| 7 | 80,00 | 20,00 |
| 8 | 67,92 | 32,08 |
| 9 | 96,97 | 3,03 |
| 10 | 81,97 | 18,03 |

Her bileşene ait kalibrasyon modellemesinde, kalibrasyon ve validasyon için SEC ve SEP değerleri ile beraber modellerin yüzde ortalama geri kazanım değerleri standart sapmaları ile beraber hesaplanmıştır. Böylece kalibrasyonun modelinin başarısı gözlenlenmiştir.

$$PR_i = \frac{\hat{c}_i}{c_i} \times 100\% \quad (1)$$

$$APR = \frac{\sum_{i=1}^m \frac{\hat{c}_i}{c_i} \times 100\%}{m} \quad (2)$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (PR_i - APR)^2}{m-1}} \quad (3)$$

Tablo 5.7'den de görüldüğü üzere SEC ve SEP değerleri 5 ve 10 mm lik küvetlerle yapılan ölçümlerde her bir bileşen için % kütlece 0,4 ile 2,4 arasında değişmekteyken, 2 mm lik küvetle alınan ölçümlerde % kütlece 3,8 ile 7,8 arasında değişmektedir. Diğer taraftan her bir yağ için APR değerleri, 5 ve 10 mm'lik küvetle yapılan ölçümlerde 99,99 ile 103,4 arasındayken, 2mm'lik küvetle yapılan ölçümlerde 99,6 ile 135,18 arasında değişmektedir. Bu durum NIR ölçümlerinde kullanılacak küvetlerin ışın yolu uzunluğu seçiminin önemli olduğunu doğrulamaktadır.

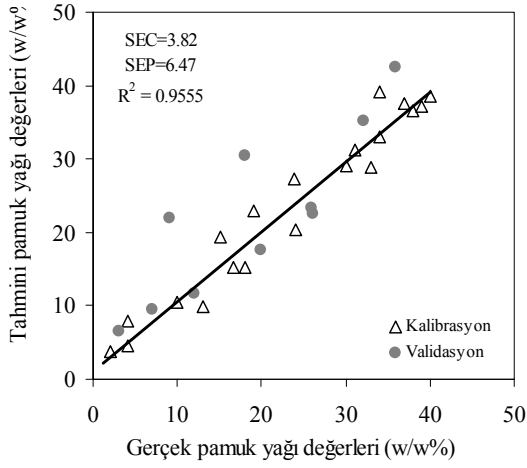
Tablo 5.7. (a) 2 mm (b) 5 mm (c) 10 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetle ölçümleri alınan ikili karışımların kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları ile beraber ortalama geri kazanım değerleri (APR) ve onlara ait standart sapma değerleri (SD).

| (a) | Kalibrasyon seti | | | Validasyon seti | | |
|--------------------|------------------|--------|-------|-----------------|--------|-------|
| | SEC (w/w%) | APR | SD | SEP (w/w%) | APR | SD |
| Zeytin yağı | 4,85 | 100,19 | 4,70 | 7,72 | 99,66 | 9,71 |
| Pamuk yağı | 3,82 | 101,62 | 43,68 | 6,47 | 135,18 | 62,81 |

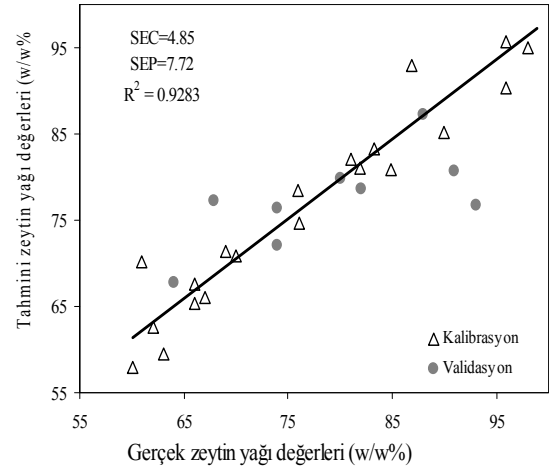
| (b) | Kalibrasyon seti | | | Validasyon seti | | |
|--------------------|------------------|--------|------|-----------------|--------|------|
| | SEC (w/w%) | APR | SD | SEP (w/w%) | APR | SD |
| Zeytin yağı | 0,41 | 99,99 | 0,38 | 0,86 | 99,90 | 1,40 |
| Soya yağı | 0,45 | 100,36 | 6,20 | 0,94 | 101,77 | 8,87 |

| (c) | Kalibrasyon seti | | | Validasyon seti | | |
|--------------------|------------------|--------|-------|-----------------|--------|-------|
| | SEC (w/w%) | APR | SD | SEP (w/w%) | APR | SD |
| Zeytin yağı | 1,61 | 100,02 | 1,47 | 2,04 | 100,38 | 3,31 |
| Pamuk yağı | 1,01 | 102,16 | 12,68 | 2,35 | 103,41 | 22,19 |

İkili karışımlar için her bir bileşene ait konsantrasyon değerlerine karşı tahmin değerleri de grafiğe geçirilmiş (Şekil 5.2, 5.3, 5.4) ve bu değerler arasındaki korelasyon incelenmiştir. Regresyon katsayılarından da anlaşılacağı üzere kalibrasyon modellerinin sonucunda elde edilen değerler lineerlik göstermektedir.

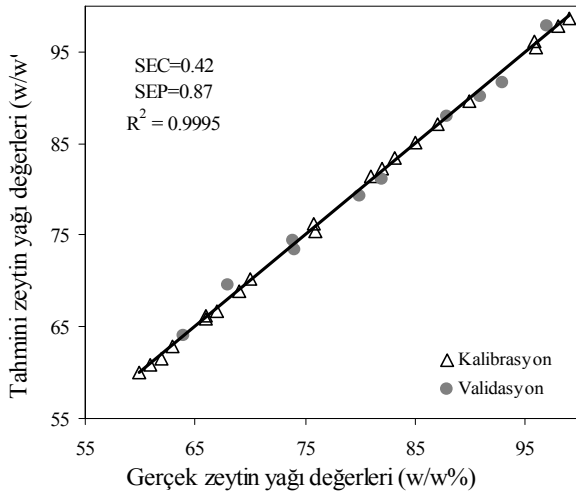


(a)

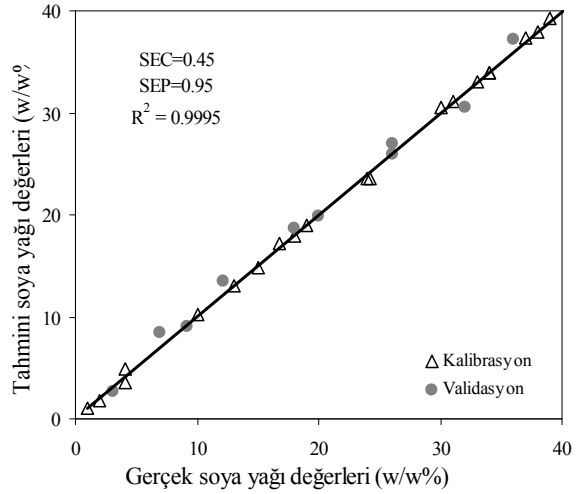


(b)

Şekil 5.2.NIR spektrometresi ile 2 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı, b) zeytin yağı.

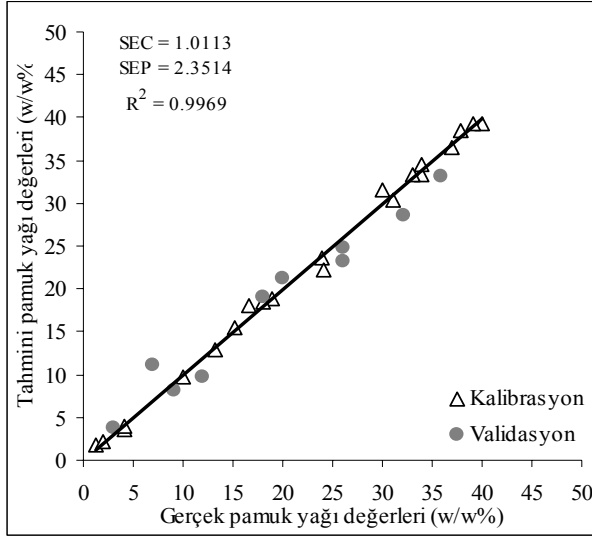


(a)

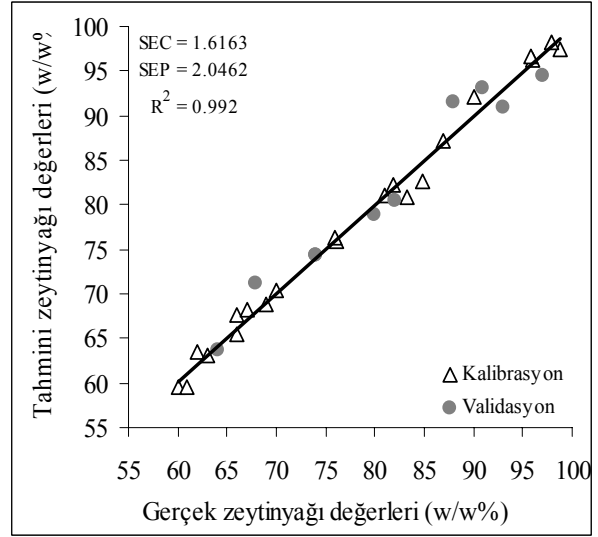


(b)

Şekil 5.3.NIR spektrometresi ile 5 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) zeytin yağı, b) soya yağı.



(a)



(b)

Şekil 5.4. NIR spektrometresi ile 10 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı, b) zeytin yağı.

Tablo 5.8'den de görüldüğü üzere SEC ve SEP değerleri 5 ve 10 mm ışın yoluna sahip örnek kaplarıyla yapılan ölçümlerde her bir bileşen için % kütlece 0,37 ile 4,40 arasında değişmekteyken, 2 mm ışın yollu örnek kabıyla alınan ölçümlerde % kütlece 6 ile 9,94 arasında değişmektedir. Diğer taraftan her bir yağ için APR değerleri 98,87 ile 103,5 arasındadır. Diğer taraftan her bir yağ için APR değerleri, 5 ve 10 mm ışın yoluna sahip örnek kaplarıyla yapılan ölçümlerde 79,62 ile 145,9 arasındayken, 2 mm ışın yollu örnek kabıyla yapılan ölçümlerde 99,6 ile 239,6 arasında değişmektedir. Bu durum ikili karışımlarda gözlemlenenle aynıdır. Tüm bunlar incelendiğinde en iyi ve sağlıklı sonuçların 10 mm ışın yoluna sahip küvetlerle yapılan ölçümlerde elde edildiği görülmektedir.

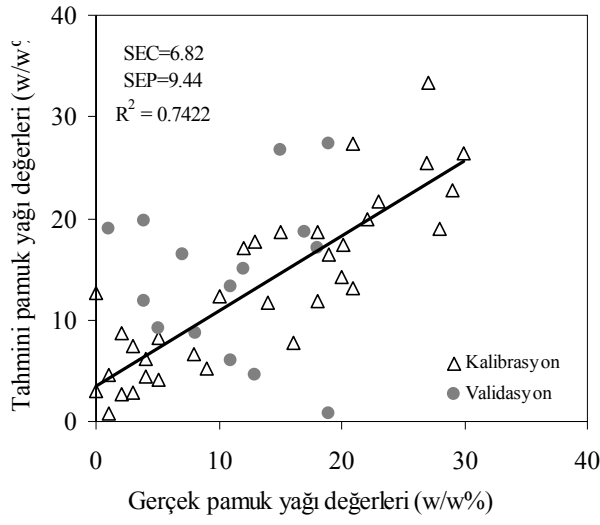
Tablo 5.8. (a) 2 mm (b) 5 mm (c) 10 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetle ölçümleri alınan üçlü karışımların kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları ile beraber ortalama geri kazanım değerleri (APR) ve onlara ait standart sapma değerleri (SD).

| (a) | Kalibrasyon seti | | | Validasyon seti | | |
|-------------|------------------|--------|--------|-----------------|--------|--------|
| | SEC (w/w%) | APR | SD | SEP (w/w%) | APR | SD |
| Zeytin yağı | 7,01 | 100,41 | 6,77 | 9,95 | 99,66 | 12,99 |
| Pamuk yağı | 6,82 | 122,55 | 86,51 | 9,44 | 239,63 | 442,49 |
| Soya yağı | 6,09 | 121,64 | 142,70 | 8,39 | 117,82 | 121,59 |

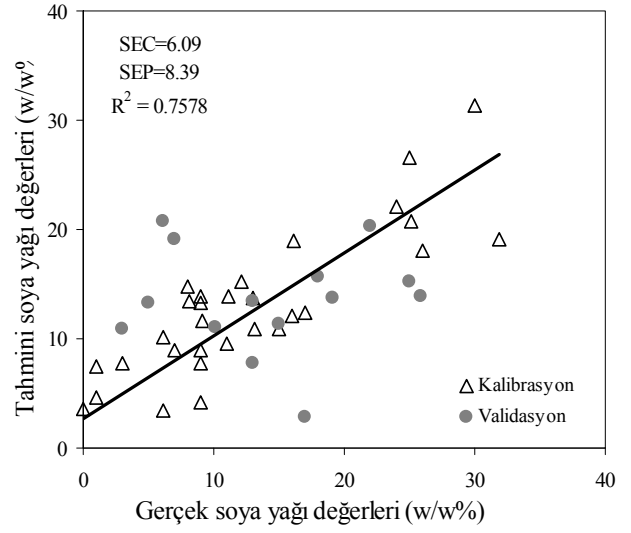
| (b) | Kalibrasyon seti | | | Validasyon seti | | |
|-------------|------------------|--------|-------|-----------------|--------|--------|
| | SEC (w/w%) | APR | SD | SEP (w/w%) | APR | SD |
| Zeytin yağı | 2,29 | 100,04 | 2,14 | 3,49 | 100,11 | 4,90 |
| Pamuk yağı | 3,38 | 122,28 | 68,45 | 3,89 | 145,96 | 121,45 |
| Soya yağı | 0,37 | 98,84 | 6,31 | 1,12 | 101,06 | 11,84 |

| (c) | Kalibrasyon seti | | | Validasyon seti | | |
|-------------|------------------|--------|-------|-----------------|--------|-------|
| | SEC (w/w%) | APR | SD | SEP (w/w%) | APR | SD |
| Zeytin yağı | 2,62 | 100,06 | 2,45 | 2,37 | 100,77 | 3,10 |
| Pamuk yağı | 2,40 | 103,70 | 38,18 | 4,40 | 79,62 | 80,41 |
| Soya yağı | 0,81 | 97,89 | 15,30 | 1,70 | 96,61 | 18,24 |

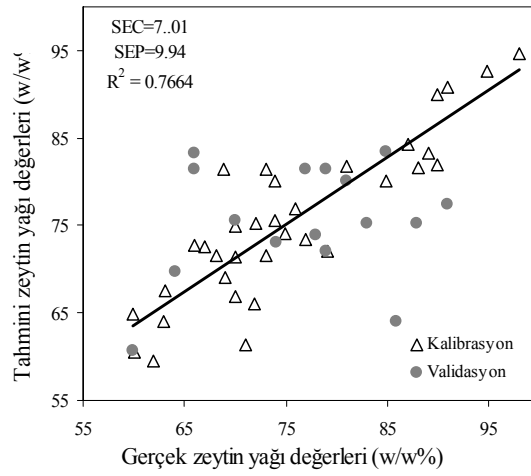
Üçlü karışımlar için her bir bileşene ait konsantrasyon değerlerine karşı tahmin değerleri de grafiğe geçirilmiş ve bu değerler arasındaki korelasyon incelenmiştir (Şekil 5.5., 5.6, ve 5.7).



(a)

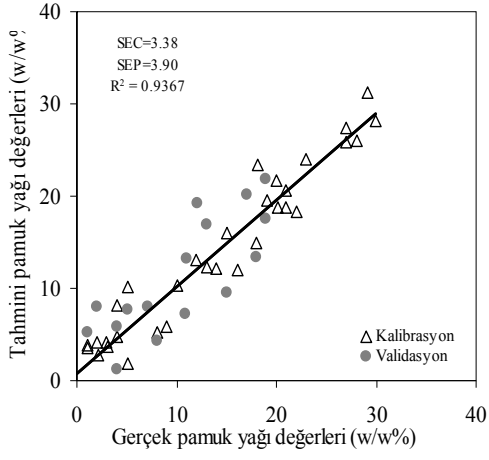


(b)

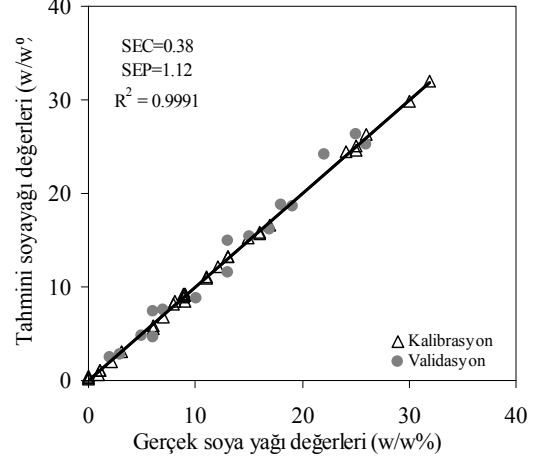


(c)

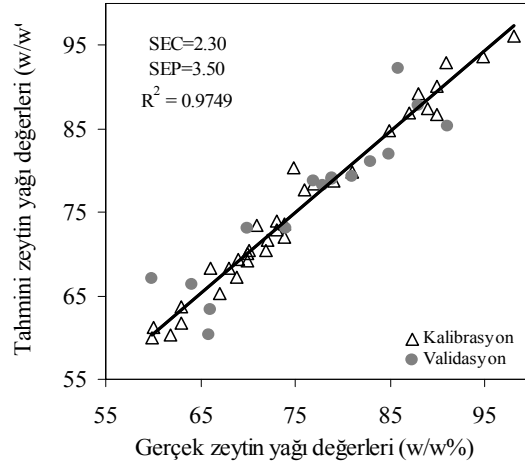
Şekil 5.5. NIR spektrometresi ile 2 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı b) soya yağı c) zeytin yağı.



(a)

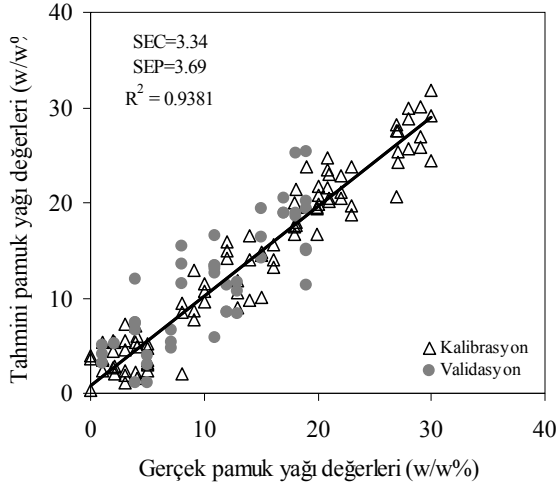


(b)

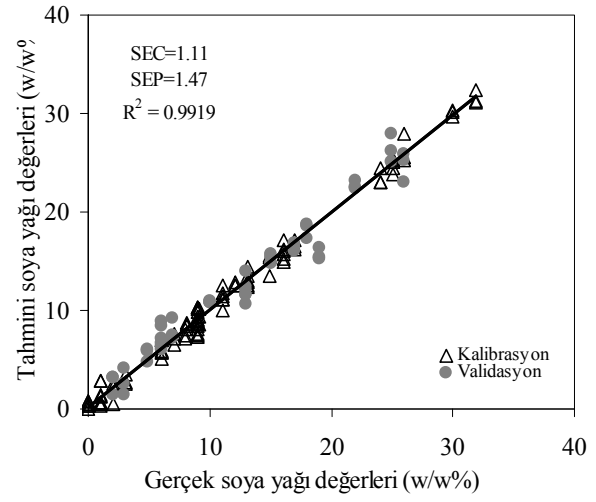


(c)

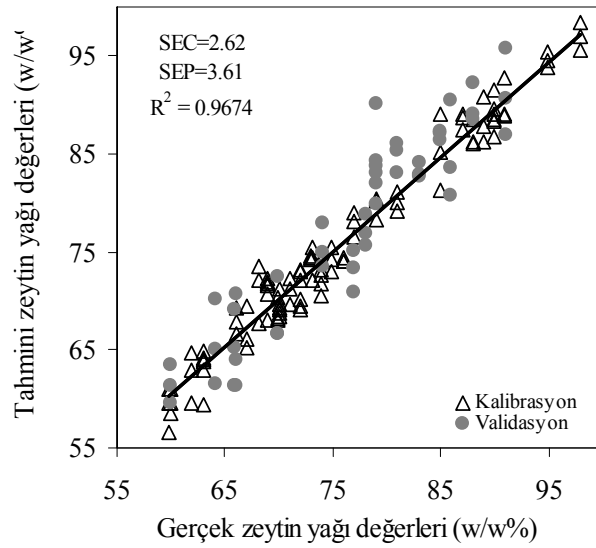
Şekil 5.6. NIR spektrometresi ile 5 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı b) soya yağı c) zeytin yağı.



(a)



(b)



(c)

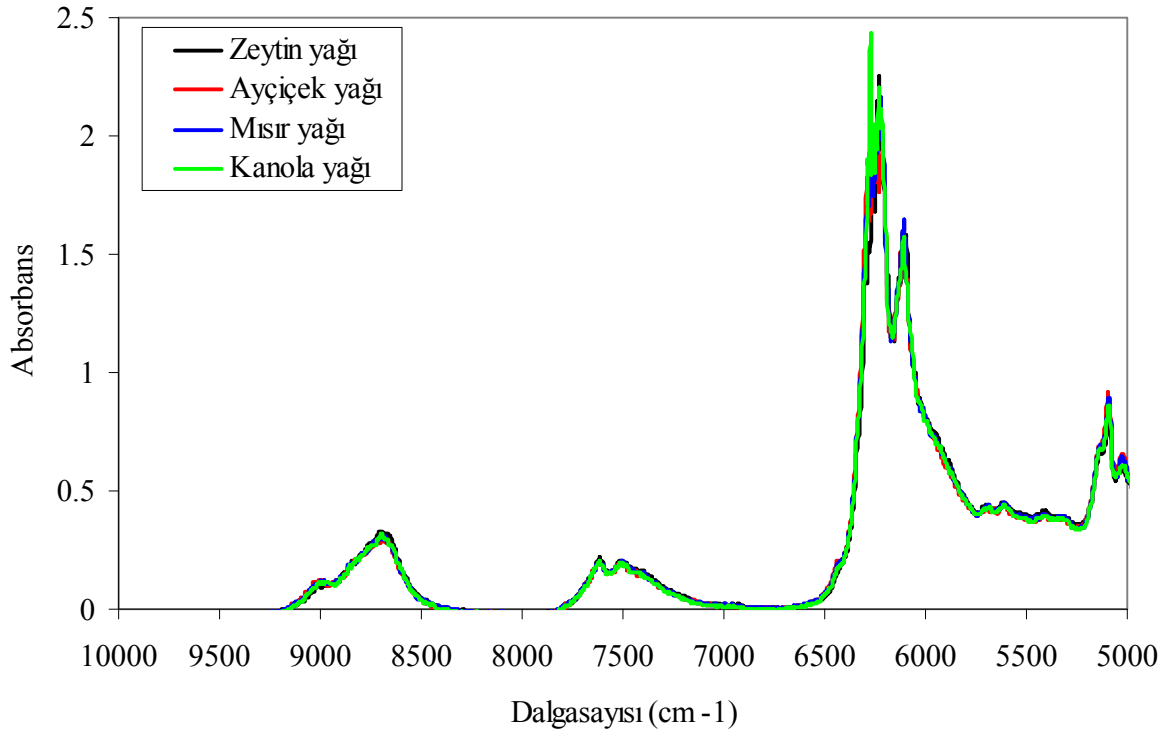
Şekil 5.7. NIR spektrometresi ile 10 mm ışın yoluna sahip kuvars küvetlerle ölçülen ikili karışımlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri grafiği a) pamuk yağı b) soya yağı c) zeytin yağı.

Regresyon katsayılarından da anlaşılacağı üzere özellikle 10 mm ışınıyoluna sahip örnek kaplarının kullanıldığı ölçümlerin kalibrasyon modellerinin sonucunda elde edilen değerler lineerlik göstermektedir.

Sonuç olarak, GILS yöntemi ile beraber spektroskopik yöntemlerle elde edilen absorban spektrumları kullanılarak, kalibrasyon modelleri oluşturulabilmekte ve gözle ayırt edilemeyen spektrumlardan gerekli ve yararlı bilgi kolaylıkla elde edilebilmektedir.

5.1.2. Zeytin, Ayçiçek, Mısırözü ve Kanola Yağı Dörtlü Karışımlar İçin Yakın İnfrared Sonuçları

Daha önce de belirtildiği gibi saf haldeki bitkisel yağlara ve karışımlarına ait NIR spektrumlarını incelediğimizde gözle ayırt etmek neredeyse imkansızdır. Özellikle bitkisel yağ karışımlarında her bir bileşen hemen hemen aynı kimyasal özelliklere sahip oldukları için spektroskopik bir çalışmada bileşenlere ait dalgaboylarını seçmek zordur. Şekil 5.8'den saf haldeki zeytin yağı, ayçiçek yağı, mısırözü yağı ve kanola yağının aynı dalgasayılarında benzer spektral özellikler gösterdiğini daha ayrıntılı bir şekilde görülmektedir.



Şekil 5.8. Dörtlü karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağlarının saf hallerinin FTNIR spektrumları.

Spektral çalışmalarda daha önce de bahsedildiği üzere bu yağlara ait karışımlar da aynı dalgasayılarında aynı spektral özellikleri göstermekte, sadece madde miktarlarından ötürü absorbans değerinde bir artış olmaktadır. NIR spektroskopisinin temel prensibi, orta infrared bölgesindeki temel titreşim hareketlerine ait bantların overtonlarının yakın infrared bölgesinde gözlemlenmesidir. CH, OH ve CO, yakın infrared bölgesinde gözlemlenebilen fonksiyonel gruplardır. Şekil 1 incelendiğinde, 4606 cm^{-1} 'de görülen bant -CH=CH- grubuna ait olup C-H bağı asimetric gerilmesini ve C=C gerilmesini göstermektedir. 4671 cm^{-1} de yine -CH=CH- grubuna ait =C-H ve C=C gerilmelerini temsil etmektedir. Spektrumdan elde edilen maksimum absorbansın dalga sayısı 5809 cm^{-1} dir. Bu maksima -CH₂ fonksiyonel grubuna ait C-H bağının birinci overtonunu, 5682 cm^{-1} de omuz veren pik ise -C-H için birinci overtonudur. 7213 cm^{-1} de görülen zayıf ve geniş bant CH₃ fonksiyonel grubuna ait C-H gerilme titreşimlerini gösterirken, 7109 cm^{-1} de omuz veren bir diğer zayıf ve geniş bant ise CH₂ grubuna ait

C-H gerilme titreşimlerini göstermektedir. Spektrumda yer alan bir diğer önemli pik ise 8286 cm^{-1} de gözlenmiştir. Bu pik CH_2 fonksiyonel grubuna ait olup C-H gerilmelerini ve ikinci overtonu temsil etmektedir.

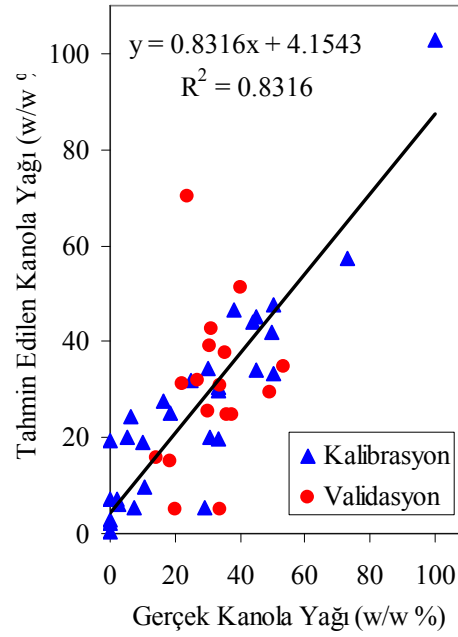
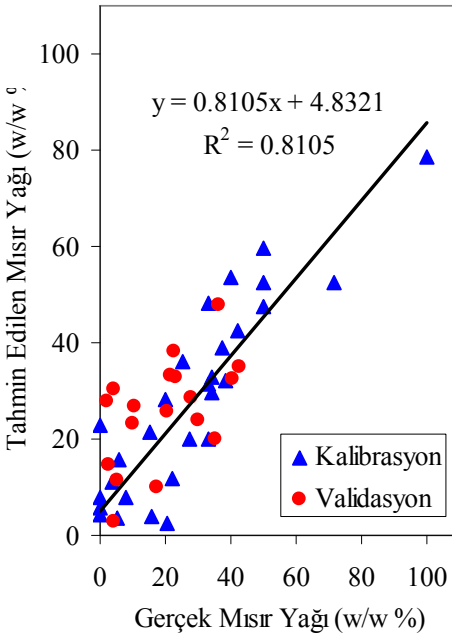
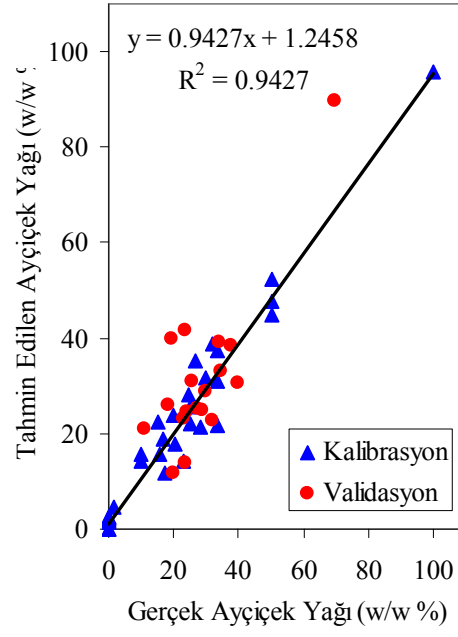
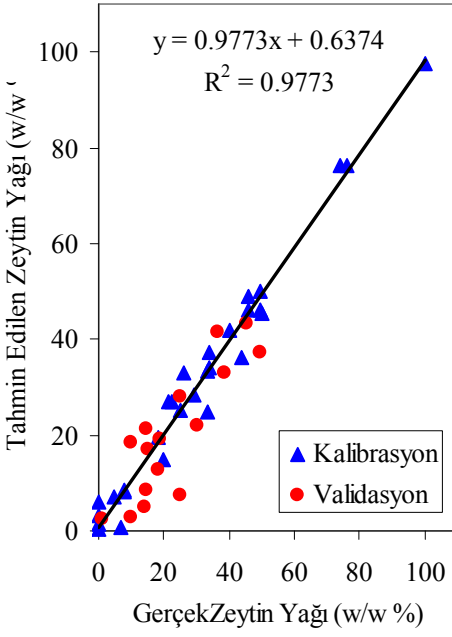
Bitkisel yağların matriksi düşünüldüğünde hemen hemen aynı matrikse sahip olmaları, bu yağlara ait karışımlarının tayinininde zorluklara sebep olmaktadır. Sadece yakın infrared spektrometresi ile yapılan çalışmalarda değil, kromatografik çalışmalar da bu yağların ayırımında ve tayininde kullanılan başka bir teknik olmasına rağmen zor ve çok zaman alıcıdır. Bu nedenle çok değişkenli kalibrasyon metotları tercih edilmektedir.

Yapılan analizlerde, her bileşene ait kalibrasyon modellemesinde, kalibrasyon ve validasyon için SEC ve SEP değerleri hesaplanmıştır.

Tablo 5.9. Dörtlü karışımların kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları

| | Zeytin yağı | Ayçiçek yağı | Mısır yağı | Kanola yağı |
|-------------|-------------|--------------|------------|-------------|
| SEC (w/w %) | 3,86 | 5,11 | 9,84 | 10,15 |
| SEP (w/w %) | 7,81 | 9,76 | 14,09 | 16,52 |

Tablo 5.9'da da görüldüğü üzere, SEC değerleri % kütlece 3,8 ile 10,2 arasında değişmekteyken, SEP değerleri % kütlece 7,8 ile 16,6 arasında değişmektedir. Elde edilen değerlere bakıldığında, NIR kalibrasyonunun dörtlü karışımlarda zeytin yağını ve ayçiçek yağını mısırözü yağına ve kanola yağına göre daha iyi tahmin ettiği görülmektedir. Ayrıca bu fikri desteklemek için dörtlü karışımların her bir bileşenine ait konsantrasyon değerlerine karşı tahmin değerleri de grafiğe geçirilmiş (Şekil 5.9) ve bu değerler arasındaki korelasyon incelenmiştir.

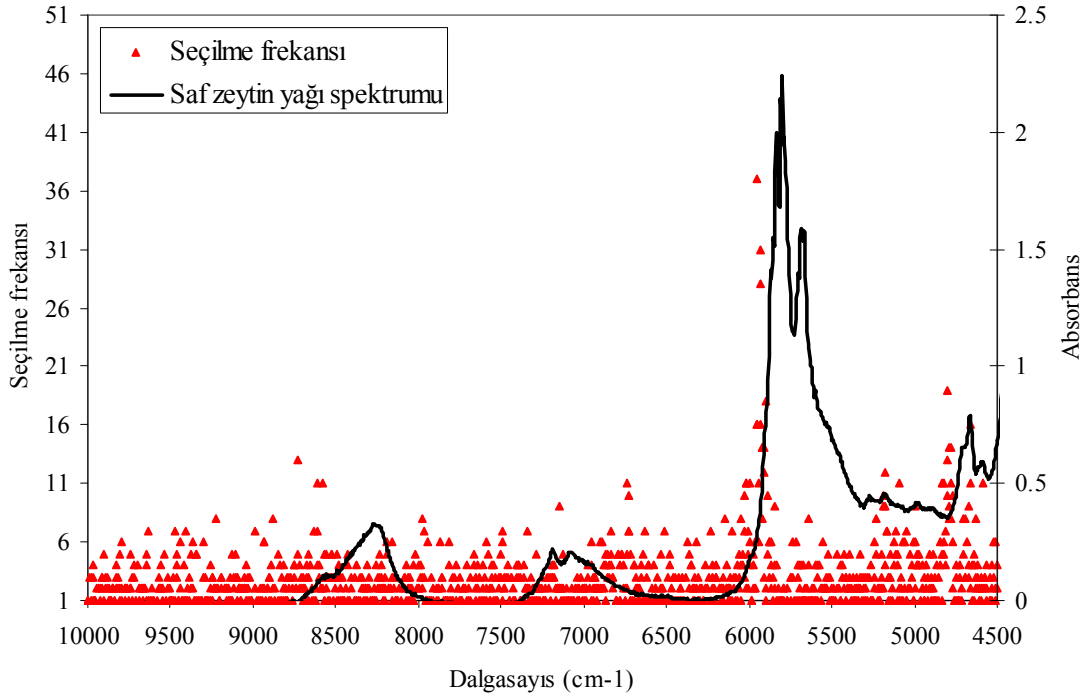


Şekil 5.9. FTNIR spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağı derişimleri.

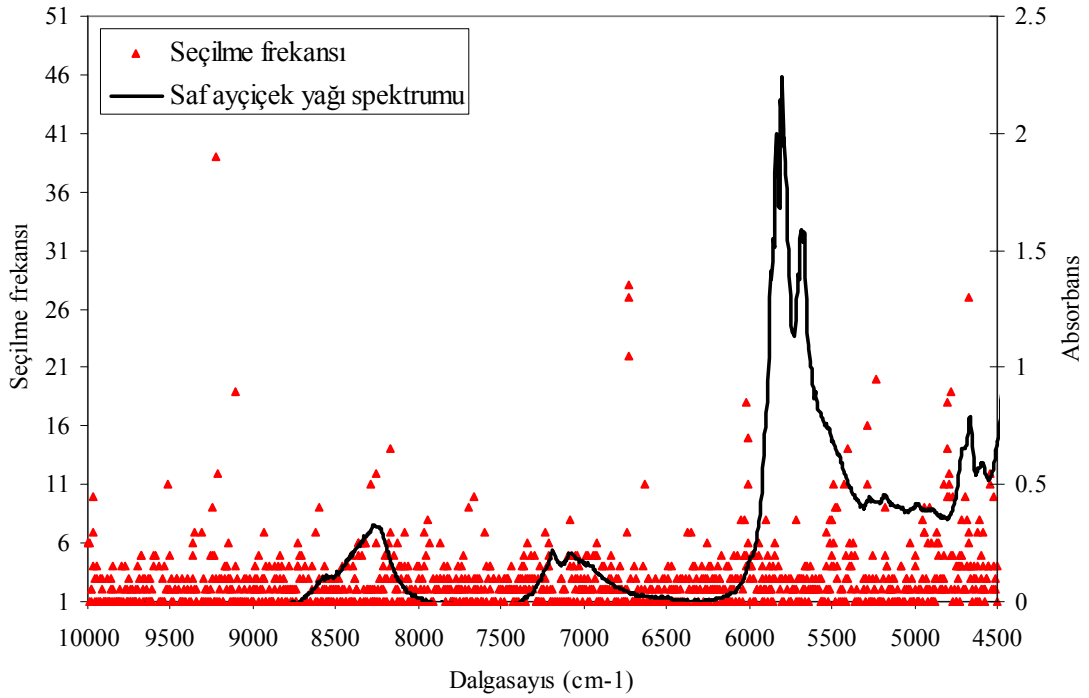
Regresyon katsayılarından da anlaşılacağı üzere kalibrasyon modellerinin sonucunda elde edilen değerler lineerlik göstermektedir. Ayrıca zeytin yağı ve ayçiçek

yağına ait regresyon katsayıları 0,9'un üzerinde, mısırözü yağı ve kanola yağına ait olanlar ise 0,8'e yakın değerler olarak görülmektedir. Sonuç olarak, NIR spektroskopisi, çok değişkenli kalibrasyon yöntemleriyle birlikte kullanıldığında zeytin yağının tağışışının tayin edilmesi için karışımı oluşturan bileşenlerden sadece zeytin yağını kısmi olarak daha iyi tayin edebilirken diğer bileşenlerde aynı başarıyı gösterememektedir. Daha önce sunulan gelişme raporlarında ikili ve üçlü karışımlarda NIR çok daha başarılı olurken karışımı oluşturan bileşenlerin sayıları arttıkça bu başarı düşmektedir. Bunun muhtemel sebeplerinden birisi diğer floresans teknikleri ile kıyaslandığında NIR daha genel bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır.

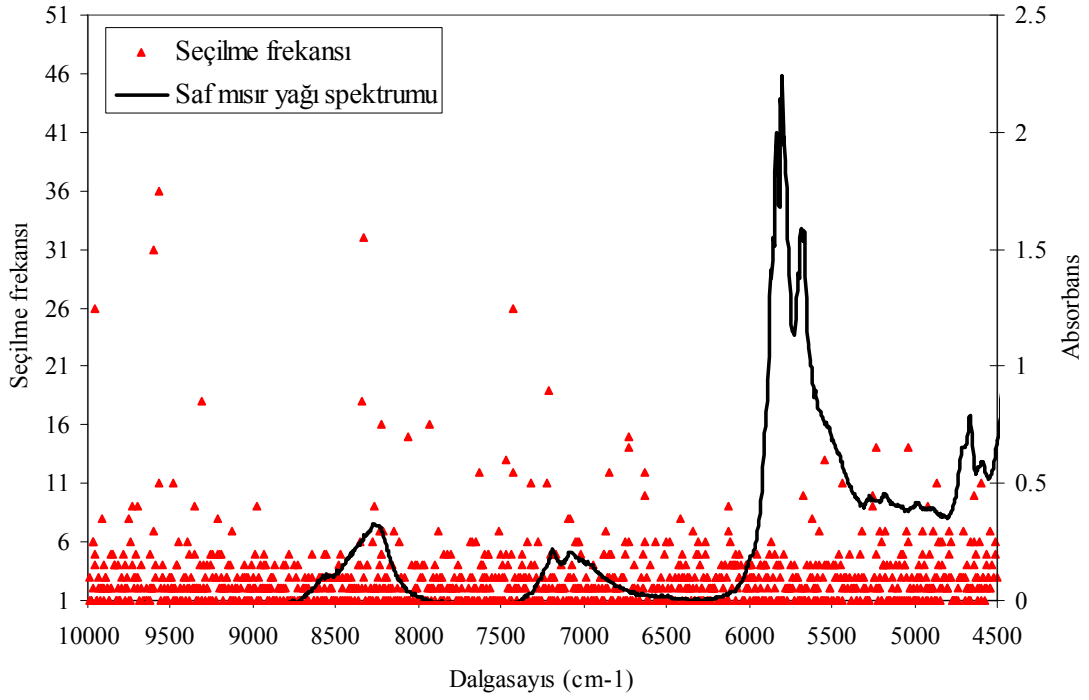
GILS yöntemi dalgaboyu seçimine dayalı bir yöntem olduğundan, tüm spektral bölgeden seçilen dalgaboylarının dağılımını gözlemlemek de mümkündür. Şekil 13'te zeytin, ayçiçek, mısırözü ve kanola yağlarına ait, NIR verileri için seçilen dalgasayılarının frekans dağılım grafikleri gösterilmektedir. Zeytinyağı için, en sık seçilen dalgaboyları 4800 ve 5800 cm^{-1} dolaylarında gözlenirken, ayçiçek yağı için 4800, 5250, 6900 ve 9300 cm^{-1} dolaylarında, mısırözü yağı için 6800, 8300 ve 9500 cm^{-1} dolaylarında ve kanola yağı için de 4800 ve 7500 cm^{-1} dolaylarında yoğunlaşmıştır. Ayrıca, seçilme frekanslarının spektrumun bazı düşük absorbanlı bölgelerde yoğunlaşmış olması, GILS yönteminin rastgele dalgaboyu seçimine dayanmasına rağmen, spektrumun zengin bilgi içeren bölgelerine odaklandığını göstermektedir.



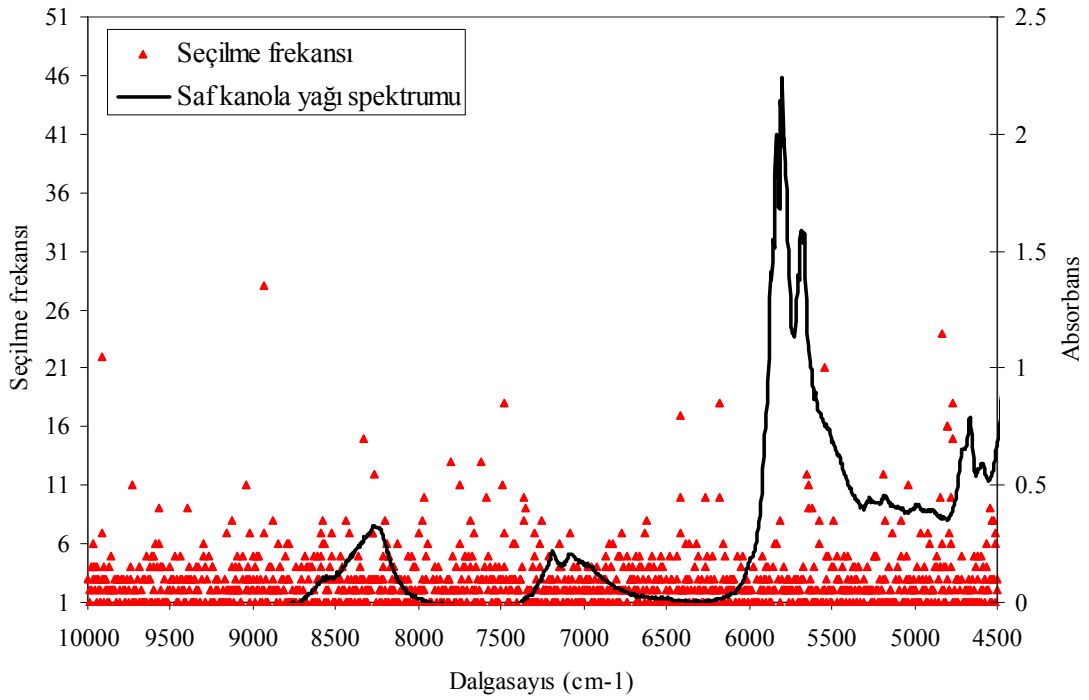
Şekil 5.10. GILS ile zeytin yağı için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri.



Şekil 5.11. GILS ile ayçiçek yağı için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri.



Şekil 5.12. GILS ile mısırözü yağı için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri.



Şekil 5.13. GILS ile kanola yağı için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri.

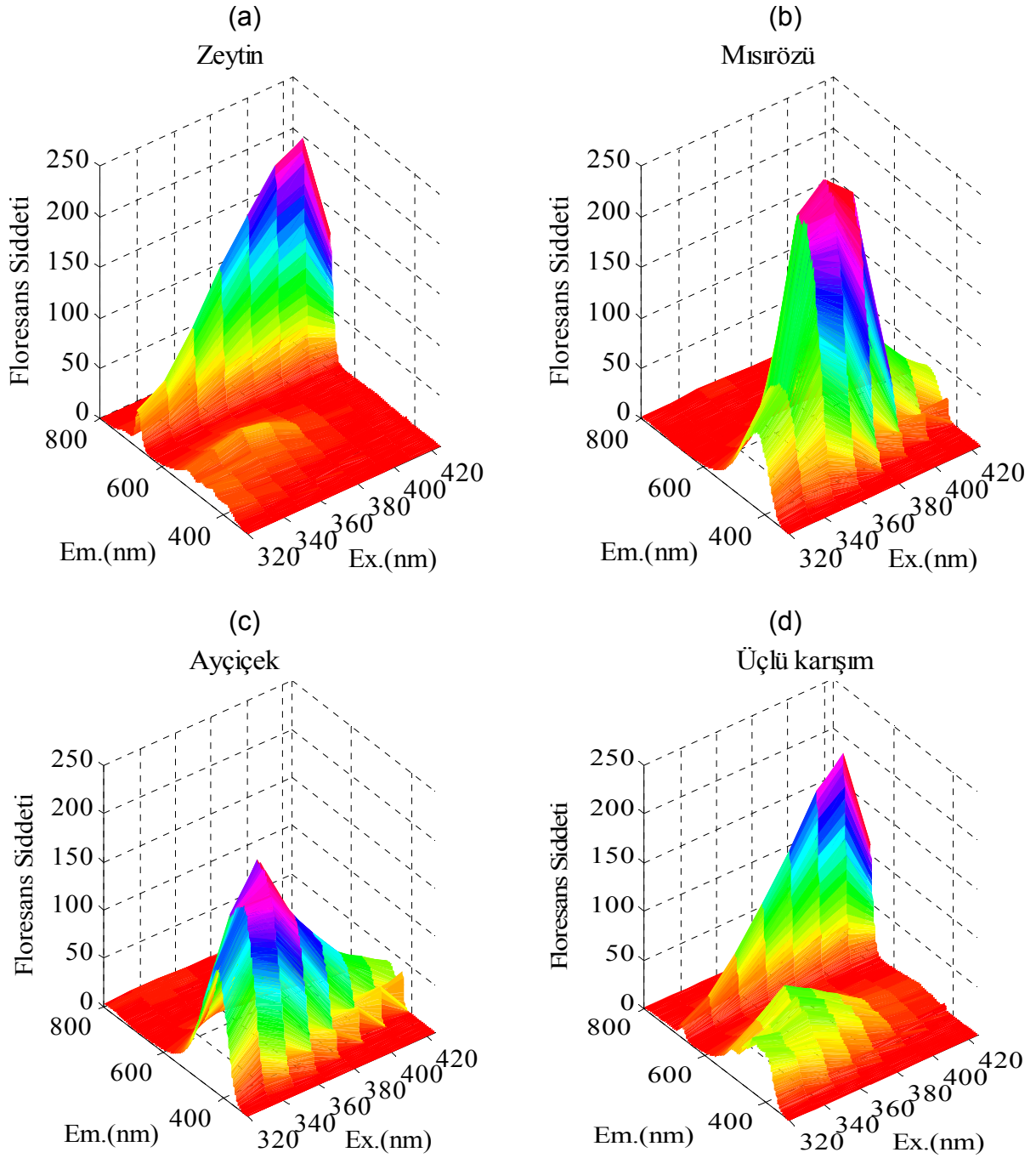
5.2. Floresans Ölçüm Sonuçları

5.2.1. Zeytin, Mısırozü, ve Ayçiçek yağına ait Üçlü Karışımlar için Floresans Ölçüm Sonuçları

Floresans spektroskopisi; daha yüksek bir enerji seviyesine uyarılan bir molekülün elektronlarının, fazla enerjilerini kaybederek daha düşük enerji seviyelerine geçişlerinde yaydıkları enerjinin ışık enerjisi olduğu prensibine dayanır. Bu bilgi doğrultusunda da kantitatif ve kalitatif analizler yapmak mümkündür. Floresans spektroskopisi, kantitatif analizlerde absorban yöntemlerine göre daha nadir kullanılmasına rağmen, çok değişkenli kalibrasyon yöntemleriyle birlikte uygulandığında, başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir.

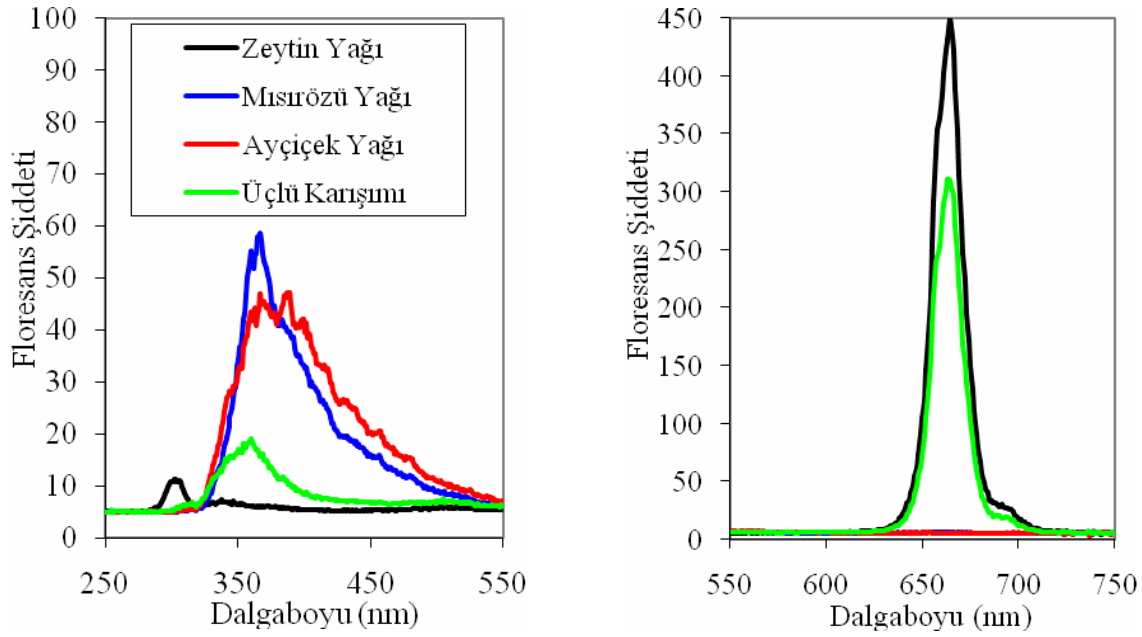
Saf haldeki bitkisel yağların ve karışımlarının floresans spektrumları incelendiğinde, gözle ayırt etmek neredeyse imkansızdır. Bitkisel yağ karışımlarının her bir bileşenin hemen hemen aynı kimyasal özelliklere sahip oldukları göz önünde bulundurulunca, spektroskopik bir çalışmada bileşenlere ait dalgaboylarını seçmek oldukça zordur.

Şekil 5.14'den de görülebileceği gibi aynı spektral özellikler gösteren bu yağların, sadece madde miktarlarının farklılığından ötürü floresans şiddetlerinde değişiklikler gözlenir. Mısırozü ve ayçiçek yağları 500 nm civarında en yüksek emisyon şiddetine ve 380 nm civarında da en yüksek uyarılma şiddetine sahipken, saf zeytin yağı ise 700 nm civarında en yüksek emisyon şiddetine ve 410 nm civarında da uyarılma şiddetine sahiptir. Buna ek olarak, zeytin yağı 500 nm civarında, mısır özü ve ayçiçek yağlarıyla çakışan, daha zayıf bir emisyon piki vermektedir.



Şekil 5.14. Saf haldeki (a) zeytin, (b) mısırrözü, (c) ayçiçek yağlarının ve (d) üçlü karışımının 1 cm ışın yoluna sahip kuvvetlerle alınmış floresans spektrumları (emisyona dalgaboyu aralığı; 320-800 nm, uyarılma dalgaboyu aralığı; 320-425 nm).

Şekil 5.15'de yine aynı yağların senkronize floresans spektrumları verilmektedir, 380 nm civarındaki emisyon pikinin şiddeti, 670 nm'deki, sadece zeytinyağında gözlemlenen emisyon pikine kıyasla, neredeyse 10 kat daha düşüktür. Bu emisyon profilini daha iyi gözlemleyebilmek için spektrumlar ikiye ayrılmıştır. Şekilden de görüleceği gibi, ayçiçek ve mısırözü yağları çok benzer senkronize floresans spektrumlarına sahiptirler. Her ikisi de 350 nm civarında maksimum şiddete sahipken, zeytinyağının emisyonu bunlara göre tamamen farklıdır.



Şekil 5.15. Zeytin, mısırözü, ayçiçek yağlarının ve üçlü karışımlarının 250-750 nm aralığında senkronize floresans spektrumları.

Bitkisel yağların hemen hemen aynı matrikse sahip olmaları gözönünde bulundurulduğunda, bu yağlara ait karışımların tayini güç olmaktadır. Daha önce de belirtildiği gibi floresans spektroskopisi tekniği çok değişkenli kalibrasyon yöntemleriyle birlikte kullanıldığında, karışımlardaki bileşen tayinini mümkün kılmaktadır.

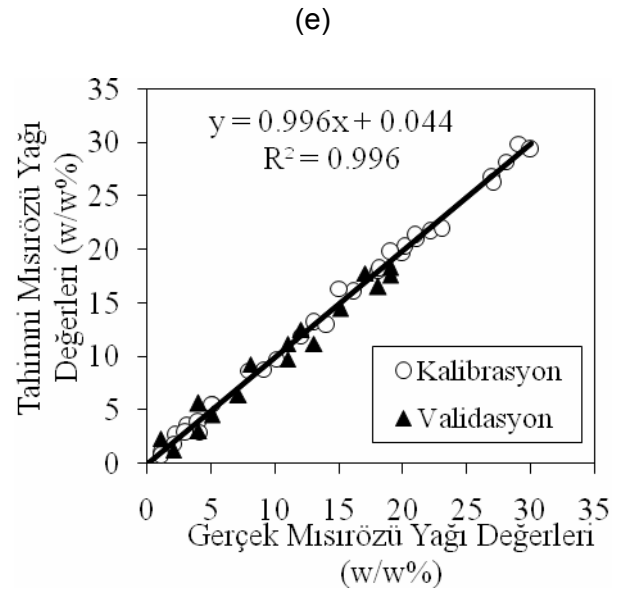
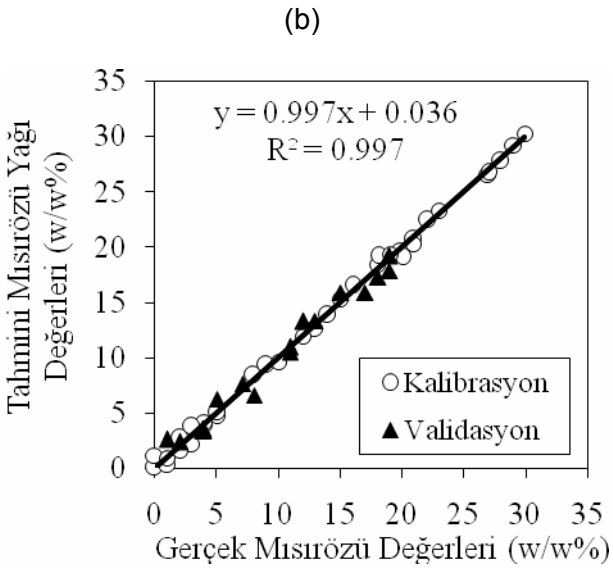
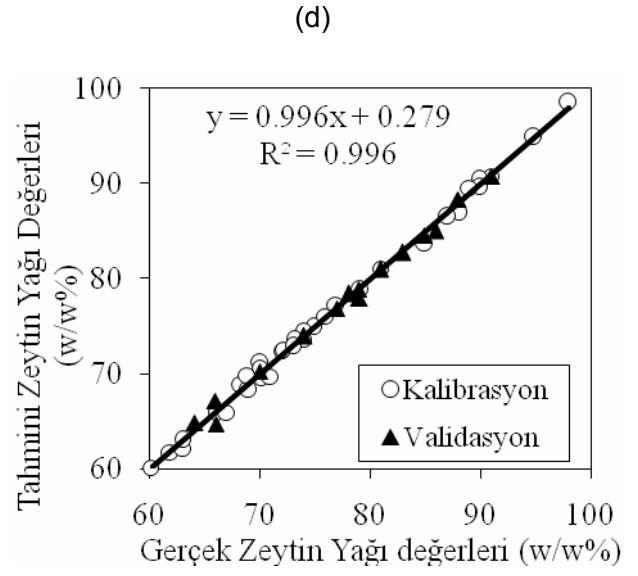
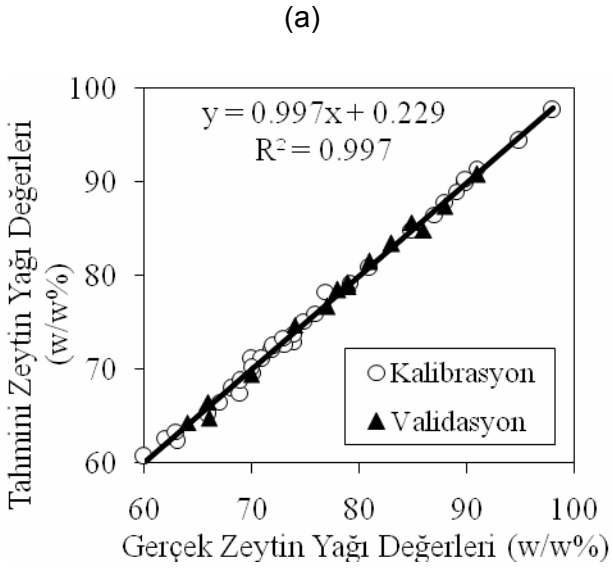
Floresans ölçümü alınan setler, kalibrasyon ve validasyon setleri olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Tablo 5.1 ve Tablo 5.2 de görüldüğü gibi üçlü karışımlardan oluşan 50

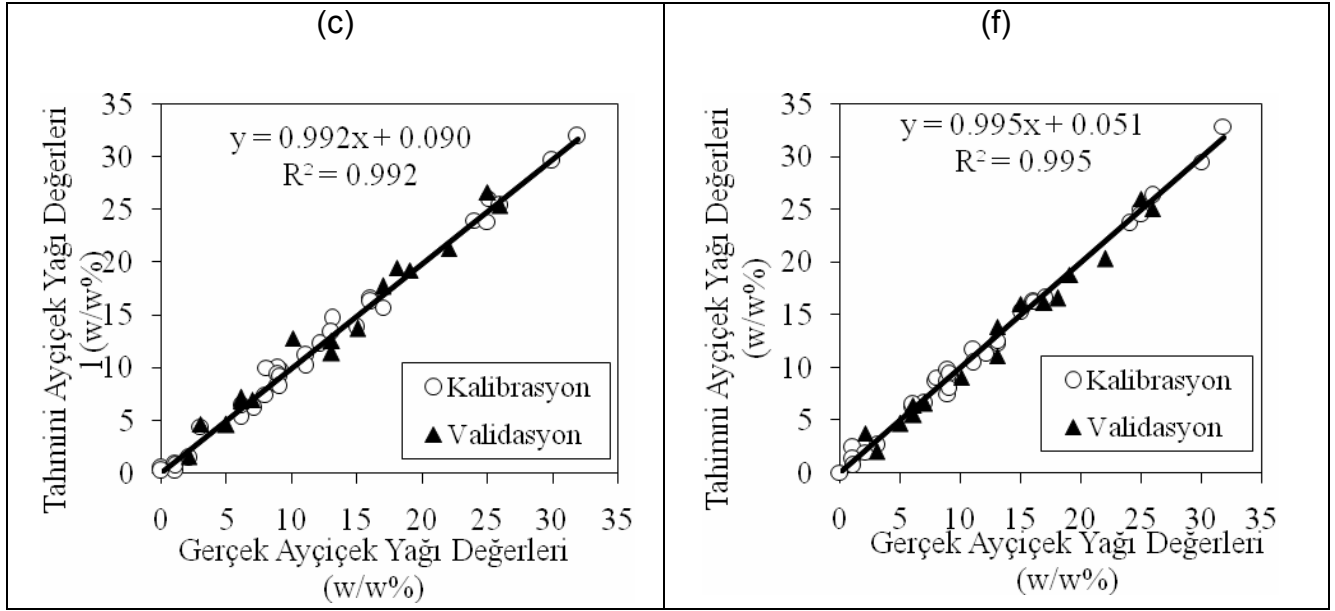
örnekten 34'ü kalibrasyon seti içinde yer alırken, geriye kalan 16 örnek de validasyon setinde kullanılmak üzere ayrılmıştır. Kalibrasyon seti örneklerinin spektrum verileri kullanılarak, kalibrasyon modeli kurulmuş, modelin başarısı ise validasyon seti örnekleriyle test edilmiştir. GILS yönteminin rastgele doğasından dolayı, program 30 gen ve 50 iterasyonla, 100 tekrarlı çalıştırılmıştır. Program 50 iterasyonla çalıştırıldığından, modelin kurulma aşamasındaki olası ezberleme (overfitting) sorunlarını önlemek için çapraz validasyon (cross validation) uygulanmıştır.

Hem EEF hem de SF spektrum verileri için standart kalibrasyon hatası (SEC) ve standart validasyon hatası (SEP) değerleri hesaplanmıştır (Tablo 5.10). Tablodan da görüleceği gibi, her iki spektrum verileri için de, SEC ve SEP değerleri kütlece %0,51 ile 1,27 arasında değişmektedir. Zeytinyağının, hacimce veya kütlece %30 veya daha fazla miktarda tağşişine teşebbüsü tahmin etmek için bu değerler oldukça iyi gözükmektedir. Ayrıca EEF verilerine ait hem kalibrasyon hem validasyon sonuçları, SF verilerine göre çok az düşüktür. Bu da, EEF verilerinden elde edilen tahmin sonuçlarının daha iyi olduğuna işaret etmektedir. EEF verilerinin, 320–425 nm arasında, sekiz ayrı uyarılma dalgaboyunda toplanması, SF verilerine kıyasla daha zengin bir floresans emisyon profiline sahip oluşunu kabul edilir kılmaktadır. Bunların yanı sıra, tablodan da görüleceği gibi, zeytin yağı için EEF ve SF verileriyle ayrı ayrı oluşturulan kalibrasyon modelleri diğer iki yağa göre daha iyi tahmin sonuçları vermektedir.

Tablo 5.10. EEF ve SF veri setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon ve tahmin hataları

| Veri setleri | SEC ve SEP | | | |
|---------------|---------------------|-------------|---------------|--------------|
| | Değerleri (w/w%) | Zeytin Yağı | Mısırözü Yağı | Ayçiçek Yağı |
| EEF veri seti | SEC | 0,58 | 0,51 | 0,61 |
| | SEP | 0,64 | 0,90 | 1,07 |
| SF veri seti | SEC | 0,63 | 0,57 | 0,81 |
| | SEP | 0,64 | 1,07 | 1,21 |





Şekil 5.16. (a,b,c) EEF verilerine göre zeytin, mısırözü ve ayçiçek yağlarının üçlü karışımlarına ait bileşenlerin gerçek değerlerine karşılık tahmin değerleri, (d,e,f) SF verilerine göre zeytin mısırözü ve ayçiçek yağlarının üçlü karışımlarına ait bileşenlerin gerçek değerlerine karşılık tahmin değerleri.

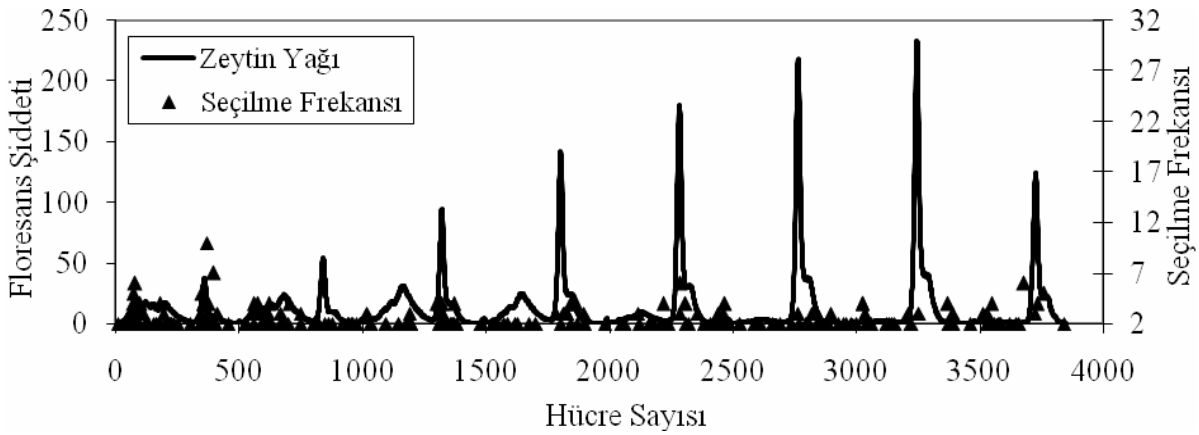
Üçlü karışımlar için her bir bileşene ait gerçek ve tahmin derişim değerleri grafiğe geçirilmiş ve bu değerler arasındaki korelasyon incelenmiştir. Şekil 3'te zeytin, mısırözü ve ayçiçek yağlarının, EEF ve SF verileri için, gerçek değerlerine karşılık tahmin değerlerinin yer aldığı grafikler görülmektedir. Regresyon katsayıları incelendiğinde, kalibrasyon modellerinden elde edilen sonuçlar lineerlik göstermektedir.

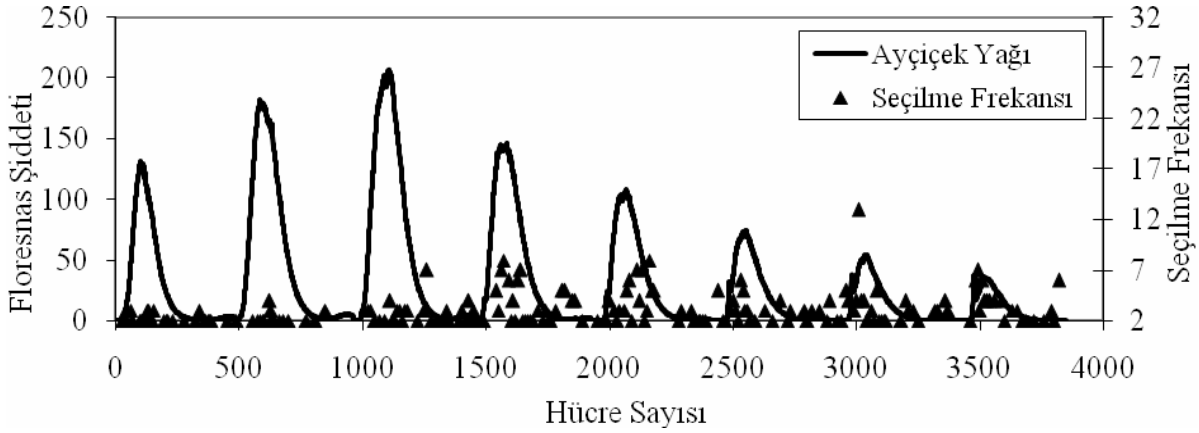
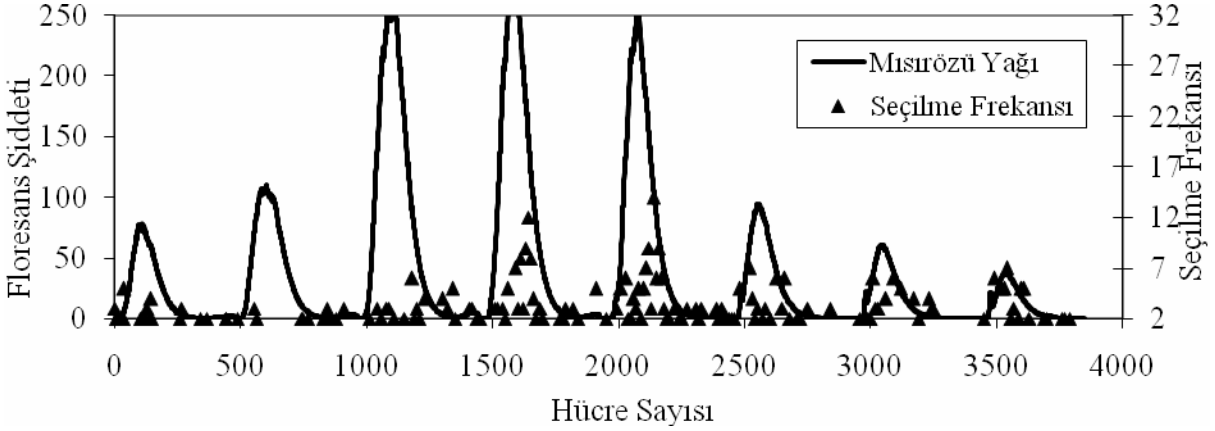
Kullanılan yöntem, zeytin yağının mısırözü ve ayçiçek yağlarıyla tağışışının tahmininde, kütlece %1 – %35 aralığında oldukça başarılıdır. Zeytinyağı için, EEF ve SF verilerine göre elde edilen sonuçlar oldukça benzer durum sergilerken, bu durum mısırözü ve ayçiçek yağları için aynı değildir. Mısırözü ve ayçiçek yağları için, GILS programının performansı EEF verileri kullanıldığında daha iyi sonuçlar elde edilmektedir, Bu durum, uyarılma dalgaboyu değıştikçe, 500 nm civarındaki piklerin kısmi çözünürlüğünden ileri gelmektedir.

Sonuç olarak, floresans spektroskopisi, çok değişkenli kalibrasyon yöntemleriyle birlikte kullanıldığında zeytin yağının tağşisinin tayin edilmesi için hızlı ve daha düşük maliyetli bir yöntemdir.

GILS yöntemi dalgaboyu seçimine dayalı bir metot olduğundan, tüm spektral bölgeden seçilen dalgaboylarının dağılımını gözlemek de mümkündür. Şekil 5.17 ve 5.18'de zeytin, ayçiçek ve mısırozü yağlarına ait, EEF ve SF verileri için seçilen dalgaboylarının frekans dağılım grafikleri gösterilmektedir. Şekil 5.17'de, hem saf bileşen spektrumunu hem de seçilme frekansı dağılımını gösterebilmek için, 8 ayrı uyarılma dalgaboyundaki emisyon spektrumları ard arda sıralanmıştır.

Zeytinyağı için, en sık seçilen dalgaboyları ikinci ve üçüncü uyarılma dalgaboylarında gözlenirken, mısırozü ve ayçiçek yağları için sık seçilen dalgaboyları dördüncü ve beşinci uyarılma dalgaboylarında yoğunlaşmıştır. Daha yüksek uyarılma dalgaboylarında da seyrek de olsa seçilen dalgaboyları olduğu görülmektedir. Ayrıca, seçilme frekanslarının zeminde (baseline) çok düşük oluşu ve GILS yönteminin rastgele dalgaboyu seçimine dayanmasına rağmen, spektrumun zengin bilgi içeren bölgelerine odaklandığını göstermektedir.

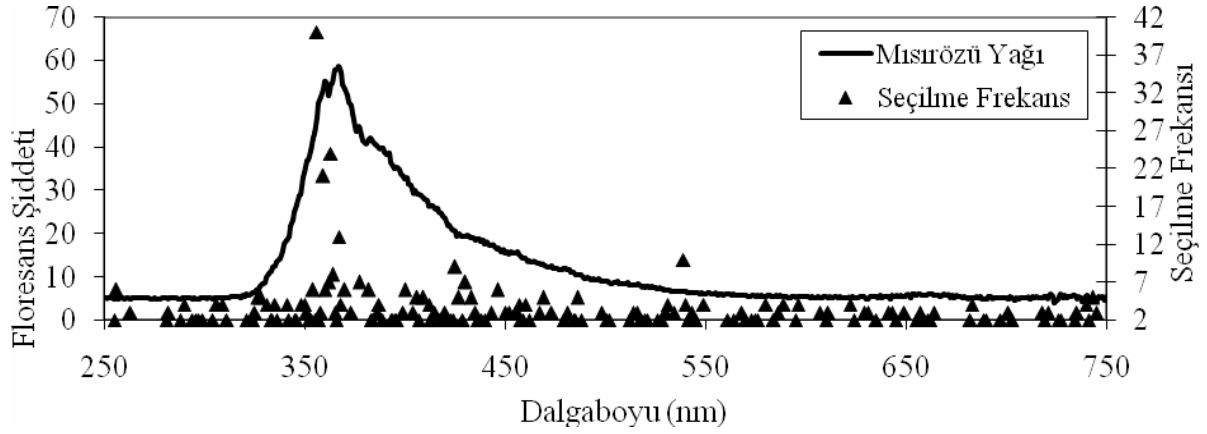
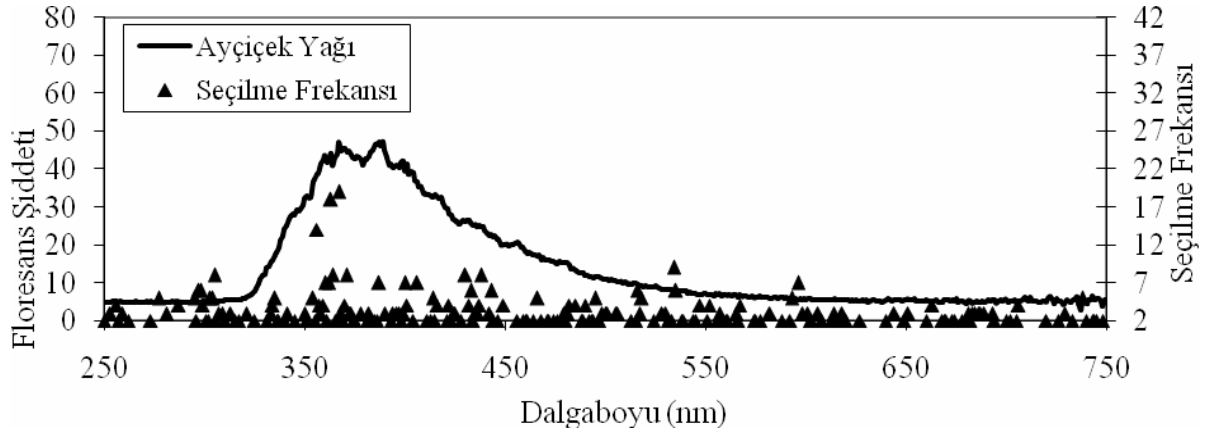
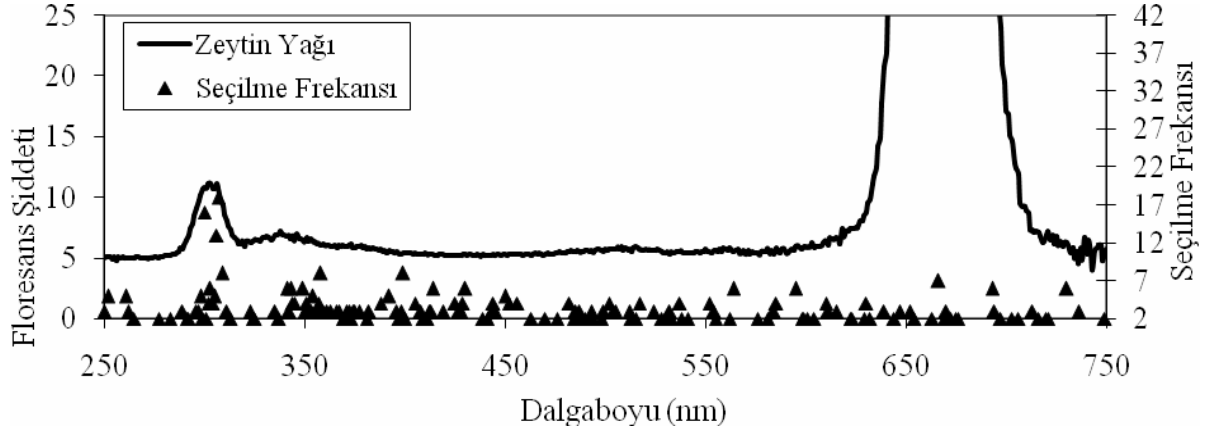




Şekil 5.17. Zeytin, mısırozü ve ayçiçek yağlarına ait, EEF verileri için 8 ayrı uyarılma dalgaboyundaki emisyon spektrumları üzerinden seçilen dalgaboylarının frekans dağılım grafikleri,

Şekil 5.17'den de görülebileceği gibi, zeytin yağının seçilme frekans dağılımı oldukça ilginçtir. Burada en çok seçilen dalgaboyları, zayıf bir pike sahip olan 300 nm civarında yer almaktadır. Bu durum için olası sebep; sinyalin bu dalgaboyu aralığında daha iyi bir lineerlik göstermesidir.

Mısır özü ve ayçiçek yağlarının örnekleri için dalgaboyu frekans dağılımı beklenen sonuçları vermektedir. Bu durum da genetik algoritmaya dayalı yöntemlerden GILS'in derişime bağlı bilginin en yoğun olduğu bölgeye odaklandığını açıkça göstermektedir.



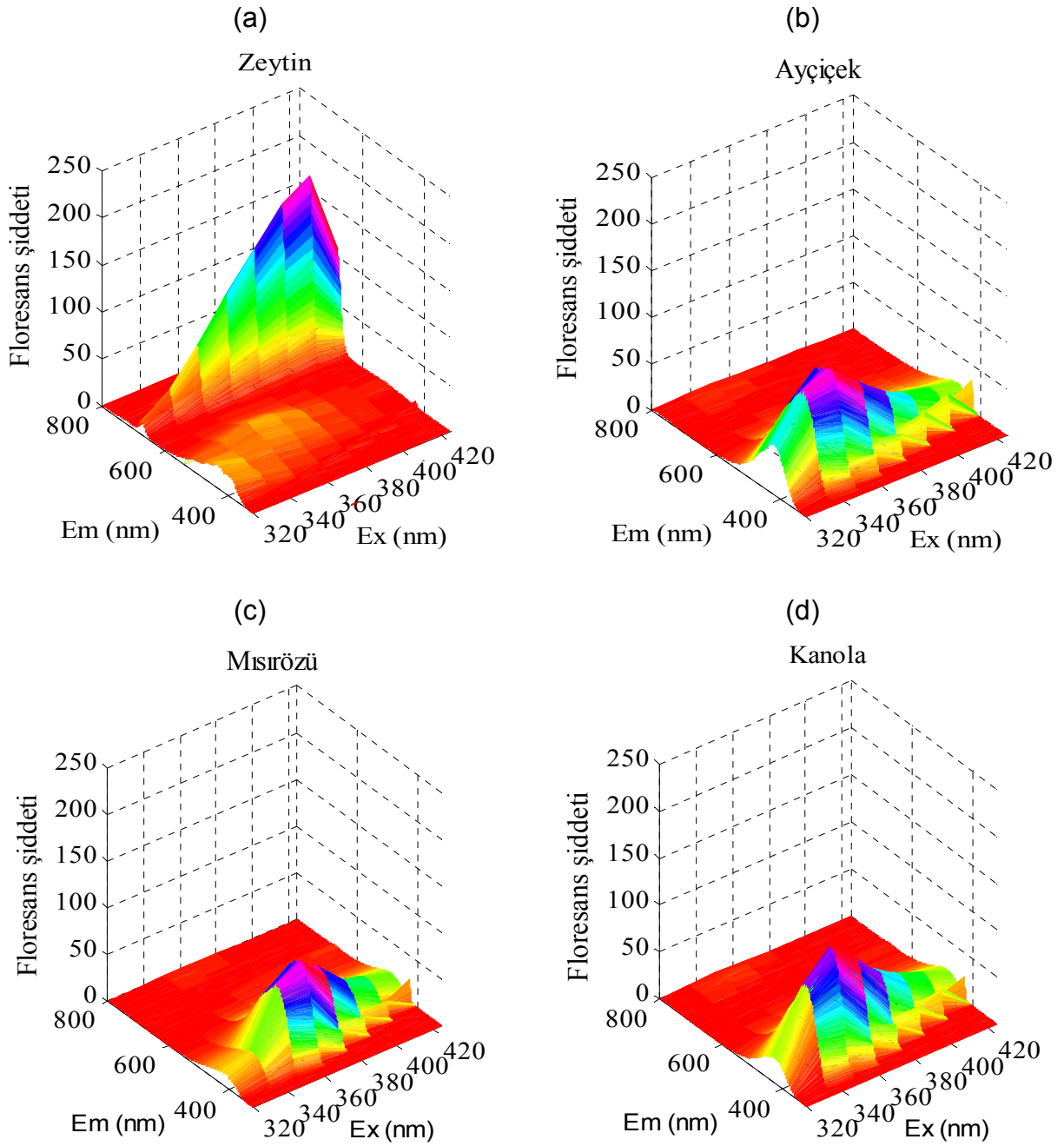
Şekil 5.18. Zeytin, ayçiçek ve mısırozü yağlarına ait, SF verileri için emisyon spektrumları üzerinden seçilen dalgaboylarının frekans dağılım grafikleri.*

*Zeytinyağının 300 nm'deki pikini daha iyi gösterebilmek için intensite aralığı 25'e düşürülmüştür,

5.2.2. Dörtlü Karışımlar için Floresans Ölçüm Sonuçları

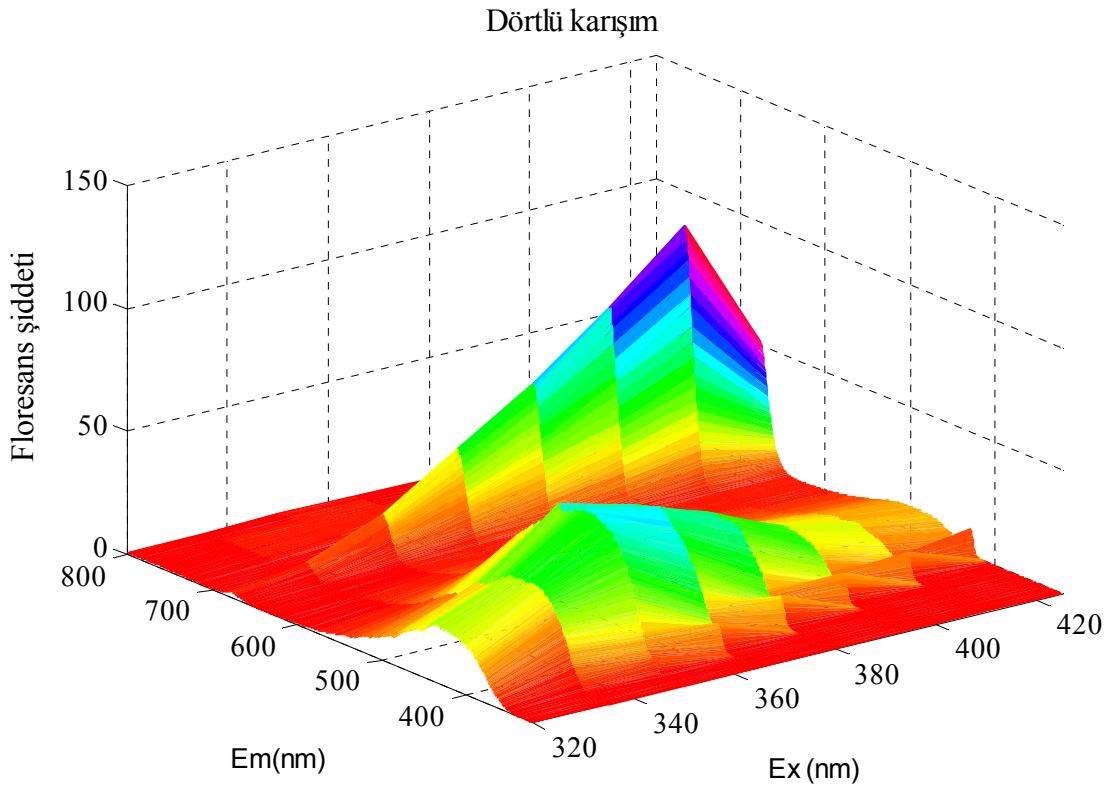
Zeytinyağları ve diğer bitkisel yağların floresans özellikleri konusunda çalışmalar yapmıştır (Kyriakidis ve Skarkalis 2000). 365 nm dalgaboyunda uyarılarak 400–700 nm emisyon dalgaboyu aralığında spektrumlar almışlardır. 445 ve 475 nm’de iki orta şiddette, 525 nm’de keskin ve 681 nm zayıf bir floresans piki olmak üzere zeytinyağlarının floresans spektrumlarında dört değişik floresans piki gözlemlenmiştir. 680 nm’de gözlenen pikin kesinlikle doğal klorofile ait floresans piki olduğu deneylerle saptanmıştır. Bunun için saf klorofil yağlara eklenmiş ve eklenen miktar ile pik arasındaki lineerlik saptanmıştır. Diğer taraftan yağları ısıtılarak yağa ait rengin yok olması sağlanmış ve 680 nm’de bulunan pike ait floresans şiddetinin ısıtma sonucu azaldığı görülmüştür. Ayrıca bu ısıtma işlemi sonucunda 400 – 500 nm emisyon dalga boyu aralığındaki floresans piklerinin şiddetinin arttığı görülmüştür, Dörtlü karışımları oluştururken kullanılan her bir bitkisel yağın saf haldeki ve karışım halindeki emisyon-uyarılma floresans (EEF) spektrumları 300–800 nm emisyon dalgaboyu aralığında uyarılma dalgaboyları 15 nm artışlarla 320–425 nm aralığında ölçülmüştür, Her bir bileşenin floresans spektrumları çizilmiştir (Şekil 5.19).

Bitkisel yağların en önemli özelliği klorofil içermeleridir ki bu bileşenin en önemli yanı floresans özellik göstermesidir. Zeytinyağı klorofilce zengin olmasından ötürü 680 nm emisyon dalgaboyunda şiddetli bir floresans piki vermektedir. Diğer taraftan ayçiçek, mısırözü ve kanola yağının gözle görülebilir renk farklılığından ötürü bu bölgede klorofil piki gözlenmemektedir. Bu da zeytinyağının içine bu yağlardan bir veya birden fazla karışımı halinde tayin gücünü yaratmaktadır.



Şekil 5.19. Saf haldeki (a) zeytin, (b) ayçiçek, (c) mısırozü ve (d) kanola yağlarının 1 cm ışın yoluna sahip kuvetlerle alınmış emisyon-uyarılma floresans spektrumları (emisyon dalgaboyu aralığı; 320-800 nm, uyarılma dalgaboyu aralığı; 320-425 nm).

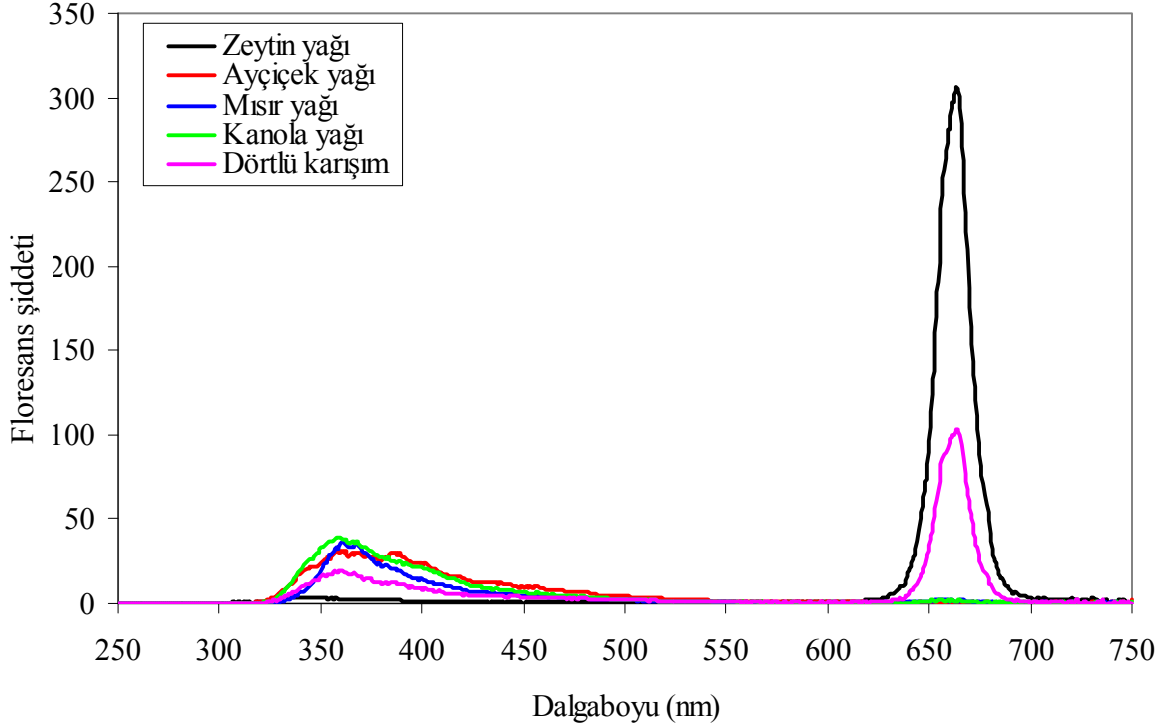
Floresans çalışmaları sırasında 400–500 nm emisyon dalgaboyunda diğer bir floresans piki ise bitkisel yağların içerisinde bulunan fenolik antioksidantlar, tekil doymamış yağ asitleri ve kısmen de tokoferolden kaynaklanmaktadır. Çalışılan bitkisel yağların hepsi bu floresans özelliğine sahip olduğundan ötürü klasik kalibrasyon teknikleri kullanılarak her bir bileşenin tayini zordur. Bu zorluk dörtlü karışımlara ait EEF spektrumundan da görülebilmektedir (Şekil 5.20). Çok değişkenli kalibrasyon metotları kullanılarak her bir bileşenin miktarı yüzde cinsinden tayin edilmiştir.



Şekil 5.20. Dörtlü karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağlarının dörtlü karışımının uyarılma–yayılma floresans spektrumu

Senkronize floresans (SF) kullanılarak da dörtlü karışımların spektral verileri toplanmıştır, EEF ile SF arasındaki ölçüm farklılığının zeytinyağlarının taşıdığı yağların tayininde hangisinin daha avantajlı olduğu ile ilgili bir sonuca varmak amacı ile GILS

yöntemi ile yine kalibrasyon modelleri her bir bileşen için oluşturulmuştur. Sonuçlara geçmeden önce SF spektrumları her bir bileşen ve karışımlar için Şekil 5.21’de verilmiştir.



Şekil 5.21. Dörtlü karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağlarının saf hallerinin senkronize floresans spektrumları.

Şekil 5.21’den de görüldüğü üzere zeytinyağı içerisinde bulunan klorofil 668 nm civarında şiddetli floresans piki vermektedir. Diğer taraftan bitkisel yağlar içerisinde bulunan oleik, butirik ve linoleik asidin floresans özellikleri 330 – 410 nm dalgaboyu aralığında görülmektedir. Ayrıca yağlar içerisindeki tokoferol miktarı da yine bölgedeki floresans piklerinden elde edilebilmektedir.

Çok değişkenli kalibrasyon metodu olarak genetik algoritmaya dayalı ters en küçük kareler yöntemi seçilmiştir. Genetik algoritmaya dayalı kalibrasyon metotların en büyük avantajı yüzlerce hatta binlerce dalgaboyuna ait absorbans ya da sinyalin

hangisinde istenen ve gerekli bilgiyi içeren dalgaboyunun seçiminin sağlanmasıdır. Ters en küçük kareler yönteminde ise konsantrasyonun absorbans değerine bağlı olarak değiştiği kabul edilir. Böylece gerçek örneklerde karışımlara ait her bir bileşenin bilinme zorunluluğu ortadan kalkmış olmaktadır. Sadece istenen bilginin temini için çalışabilmektedir. Şekil 5.20 ve Şekil 5.21 görüldüğü üzere dörtlü bitkisel yağ karışımlarının her birinin tayini için belli bir dalgaboyu aralığı ve dalgaboyu seçimi oldukça güçtür. Genetik algoritmaya dayalı ters en küçük kareler yöntemi (GILS) ile her bir bileşenin tayini yapılabilmektedir.

Floresans ölçümü alınan setler, kalibrasyon ve validasyon setleri olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Tablo 5.11 ve Tablo 5.12 de görüldüğü gibi dörtlü karışımlardan oluşan 50 örnekten 32'si kalibrasyon seti içinde yer alırken, geriye kalan 18 örnek de validasyon setinde kullanılmak üzere ayrılmıştır. Kalibrasyon seti örneklerinin spektrum verileri kullanılarak kalibrasyon modeli her bir bileşen için kurulmuş, modelin başarısı ise validasyon seti örnekleriyle test edilmiştir. GILS yönteminin rastgele doğasından dolayı, program 30 gen ve 50 iterasyonla, 100 tekrarlı çalıştırılmıştır. Program 50 iterasyonla çalıştırıldığından, modelin kurulma aşamasındaki olası ezberleme (overfitting) sorunlarını önlemek için çapraz validasyon (cross validation) uygulanmıştır.

Tablo 5.11. Kalibrasyon setini oluşturan 32 adet örneğe ait derişim tablosu.

| Örnek Numarası | Zeytin Yağı (w/w %) | Ayçiçek Yağı (w/w %) | Mısırözü Yağı (w/w %) | Kanola Yağı (w/w %) |
|----------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|
| 1 | 100,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 2 | 0,00 | 100,00 | 0,00 | 0,00 |
| 3 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | 0,00 |
| 4 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 100,00 |
| 5 | 49,67 | 50,33 | 0,00 | 0,00 |
| 6 | 49,76 | 0,00 | 50,24 | 0,00 |
| 7 | 49,99 | 0,00 | 0,00 | 50,01 |
| 8 | 0,00 | 50,07 | 49,93 | 0,00 |
| 9 | 0,00 | 50,03 | 0,00 | 49,97 |
| 10 | 0,00 | 0,00 | 50,01 | 49,99 |
| 11 | 33,30 | 33,46 | 33,23 | 0,00 |
| 12 | 33,32 | 33,38 | 0,00 | 33,30 |
| 13 | 33,67 | 0,00 | 33,22 | 33,11 |
| 14 | 0,00 | 33,33 | 33,28 | 33,39 |
| 15 | 24,97 | 24,97 | 25,08 | 24,98 |
| 16 | 39,90 | 10,02 | 19,94 | 30,14 |
| 17 | 19,96 | 29,94 | 39,96 | 10,14 |
| 18 | 22,57 | 24,46 | 8,07 | 44,90 |
| 19 | 76,03 | 1,35 | 15,04 | 7,59 |
| 20 | 74,08 | 3,77 | 5,50 | 16,65 |
| 21 | 18,49 | 16,58 | 34,27 | 30,65 |
| 22 | 8,06 | 31,94 | 15,88 | 44,12 |
| 23 | 6,84 | 15,31 | 71,65 | 6,21 |
| 24 | 25,88 | 22,93 | 22,08 | 29,11 |
| 25 | 46,10 | 17,10 | 34,02 | 2,77 |
| 26 | 21,19 | 28,31 | 5,68 | 44,82 |
| 27 | 29,25 | 26,74 | 41,92 | 2,08 |
| 28 | 7,86 | 15,66 | 3,50 | 72,98 |
| 29 | 4,84 | 19,72 | 37,50 | 37,95 |
| 30 | 45,62 | 10,19 | 38,65 | 5,54 |
| 31 | 33,70 | 20,56 | 27,12 | 18,62 |
| 32 | 44,04 | 25,12 | 20,38 | 10,46 |

Tablo 5.12. Validasyon setini oluşturan 18 adet örneğe ait derişim tablosu

| Örnek Numarası | Zeytin Yağı (w/w %) | Ayçiçek Yağı (w/w %) | Mısırozü Yağı (w/w %) | Kanola Yağı (w/w %) |
|----------------|---------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|
| 1 | 10,06 | 19,93 | 30,01 | 40,01 |
| 2 | 30,02 | 39,96 | 9,99 | 20,03 |
| 3 | 3,36 | 69,93 | 4,28 | 22,43 |
| 4 | 36,39 | 23,28 | 2,55 | 37,78 |
| 5 | 49,78 | 33,83 | 2,24 | 14,15 |
| 6 | 24,91 | 28,81 | 22,61 | 23,68 |
| 7 | 38,46 | 37,86 | 5,14 | 18,55 |
| 8 | 14,29 | 27,19 | 27,73 | 30,79 |
| 9 | 14,93 | 11,18 | 42,86 | 31,03 |
| 10 | 45,52 | 25,42 | 21,41 | 7,64 |
| 11 | 18,89 | 23,67 | 23,36 | 34,09 |
| 12 | 14,38 | 18,45 | 40,44 | 26,73 |
| 13 | 14,56 | 34,52 | 20,69 | 30,23 |
| 14 | 10,15 | 19,19 | 35,26 | 35,40 |
| 15 | 25,20 | 29,96 | 10,75 | 34,10 |
| 16 | 0,86 | 32,10 | 17,62 | 49,42 |
| 17 | 3,45 | 24,15 | 36,43 | 35,97 |
| 18 | 18,48 | 23,83 | 4,08 | 53,61 |

EEF spektrum verileri için standart kalibrasyon hatası (SEC) ve standart validasyon hatası (SEP) değerleri hesaplanmıştır (Tablo 5.13). Tablodan da görüleceği gibi, SEC ve SEP değerleri kütlece %0,63 ile 6,71 arasında değişmektedir. Zeytinyağının, kütlece değişen yüzdelerde taşışına teşebbüsü tahmin etmek için bu değerler oldukça iyi gözükmetedir. Ayrıca EEF verilerine ait hem kalibrasyon hem validasyon sonuçları, SF verilerine göre çok az düşüktür. Bu da, EEF verilerinden elde edilen tahmin sonuçlarının daha iyi olduğuna işaret etmektedir. EEF verilerinin, 320–425 nm arasında, sekiz ayrı uyarılma dalgaboyunda toplanması, SF verilerine kıyasla daha

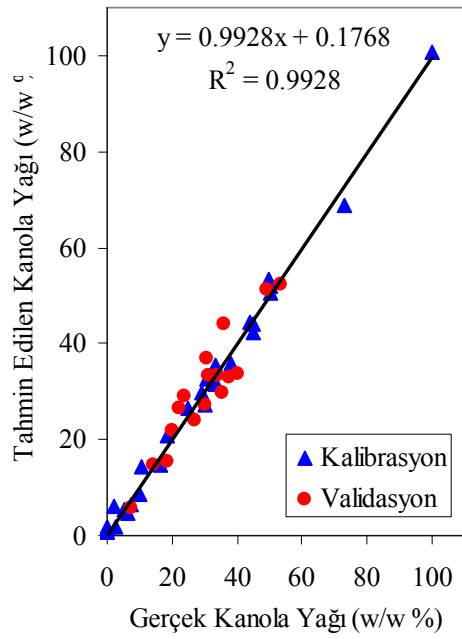
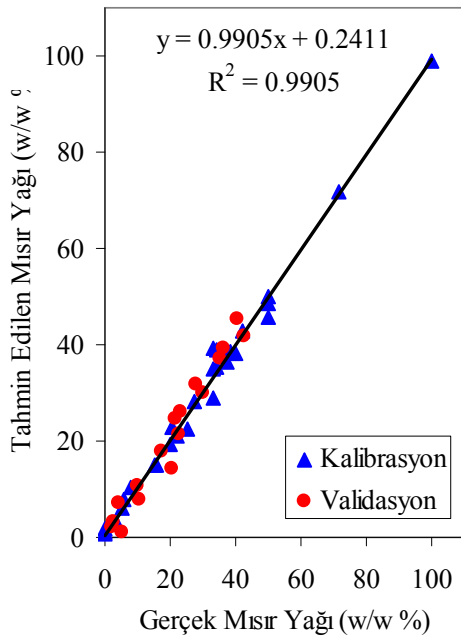
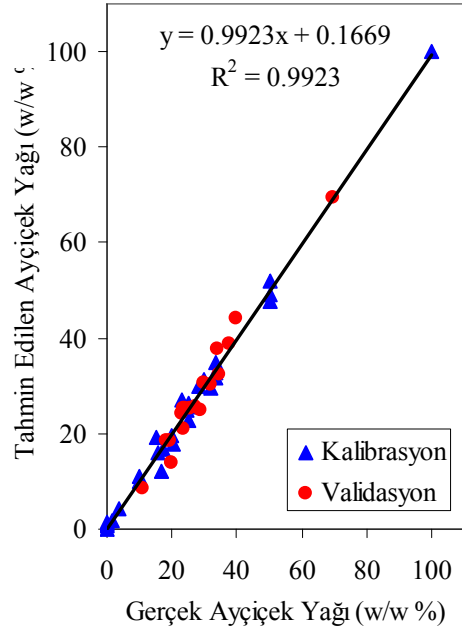
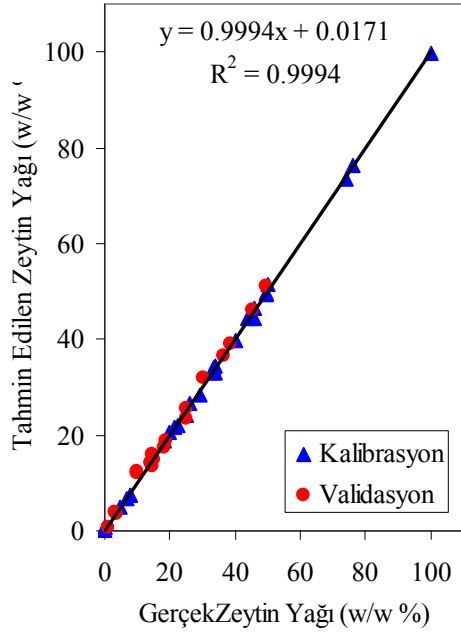
zengin bir floresans emisyon profiline sahip oluşunu kabul edilir kılmaktadır. Bunların yanı sıra, tablodan da görüleceği gibi, zeytin yağı için EEF ve SF verileriyle ayrı ayrı oluşturulan kalibrasyon modelleri diğer iki yağa göre daha iyi tahmin sonuçları vermektedir.

Tablo 5.13. EEF ve SF veri setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon ve tahmin hataları.

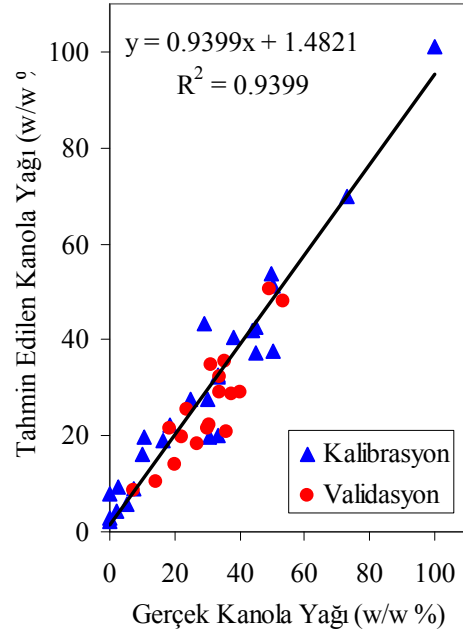
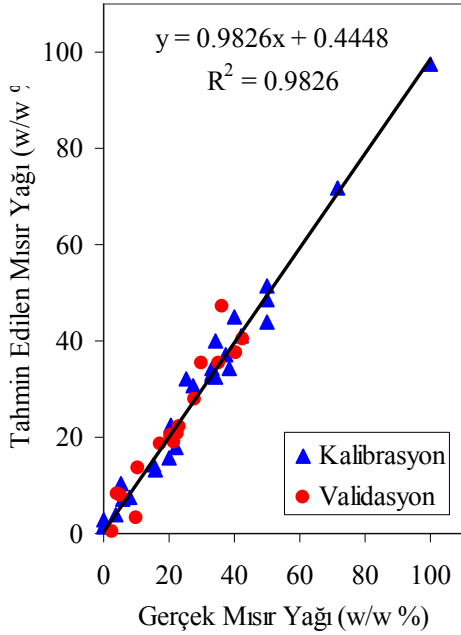
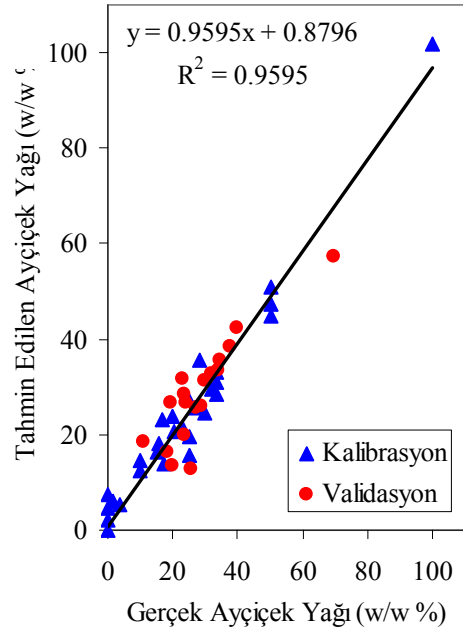
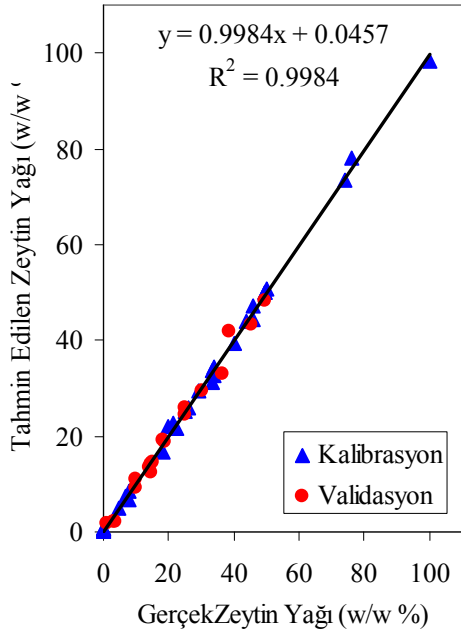
| Veri Setleri | SEC / SEP | Zeytin yağı | Ayçiçek yağı | Mısırözü yağı | Kanola yağı |
|--------------|-------------|-------------|--------------|---------------|-------------|
| Ex- Em | SEC (w/w %) | 0,63 | 1,87 | 2,31 | 2,09 |
| Floresans | SEP (w/w %) | 1,11 | 2,54 | 3,14 | 4,02 |
| Senkronize | SEC (w/w %) | 1,03 | 4,29 | 3,14 | 6,06 |
| Floresans | SEP (w/w %) | 1,55 | 5,82 | 4,04 | 6,71 |

Veri setlerinden elde edilen kalibrasyon modelleri kullanılarak her bir kalibrasyon ve validasyon setindeki örneklerin tüm bileşenleri için kütlece yüzde miktarları tahmin ettirilmiştir. Tahmin edilen değerlere karşılık gerçek değerler grafiğe geçirilerek modelin başarısı gözlemlenmiştir, Bu iki değer arasındaki lineerlik modelin başarısının bir göstergesidir.

Kullanılan yöntem, zeytin yağının mısırözü ve ayçiçek yağlarıyla tağışışının tahmininde, kütlece %1 – %45 aralığında oldukça başarılıdır. Zeytinyağı için, EEF ve SF verilerine göre elde edilen sonuçlar oldukça benzer durum sergilerken, bu durum mısırözü ve ayçiçek yağları için aynı değildir. Mısırözü, kanola ve ayçiçek yağları için, GILS programının performansı EEF verileri kullanıldığında daha iyi sonuçlar elde edilmektedir. Sonuç olarak, floresans spektroskopisi, çok değişkenli kalibrasyon yöntemleriyle birlikte kullanıldığında zeytin yağının tağışışının tayin edilmesi için hızlı ve daha düşük maliyetli bir yöntemdir.



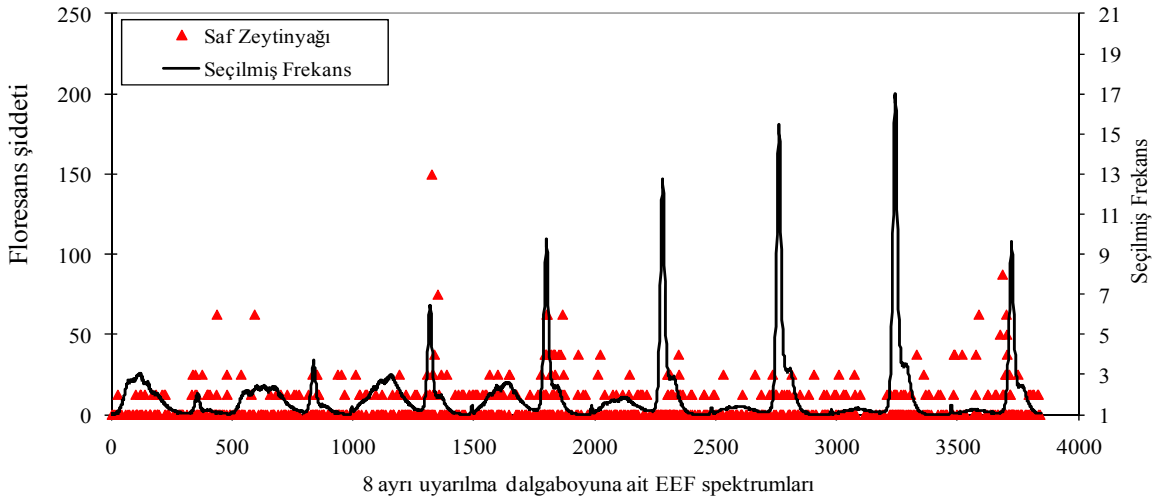
Şekil 5.22. Emisyon-uyarıma floresans spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağı derişimleri

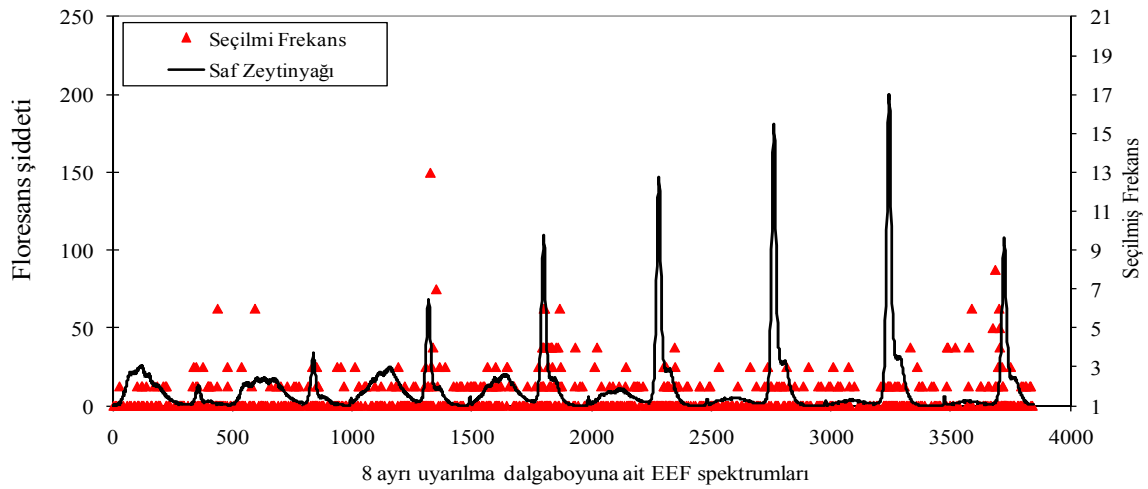
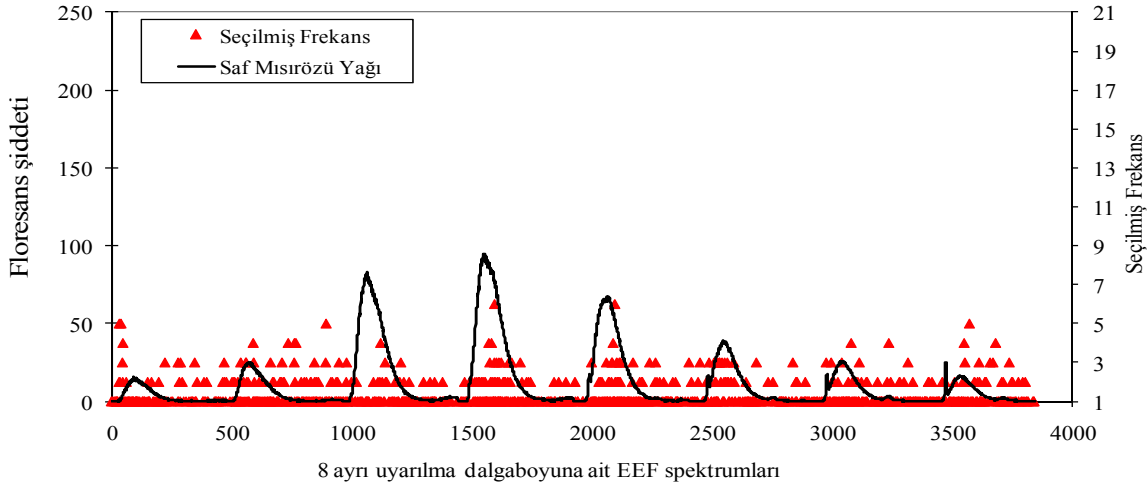
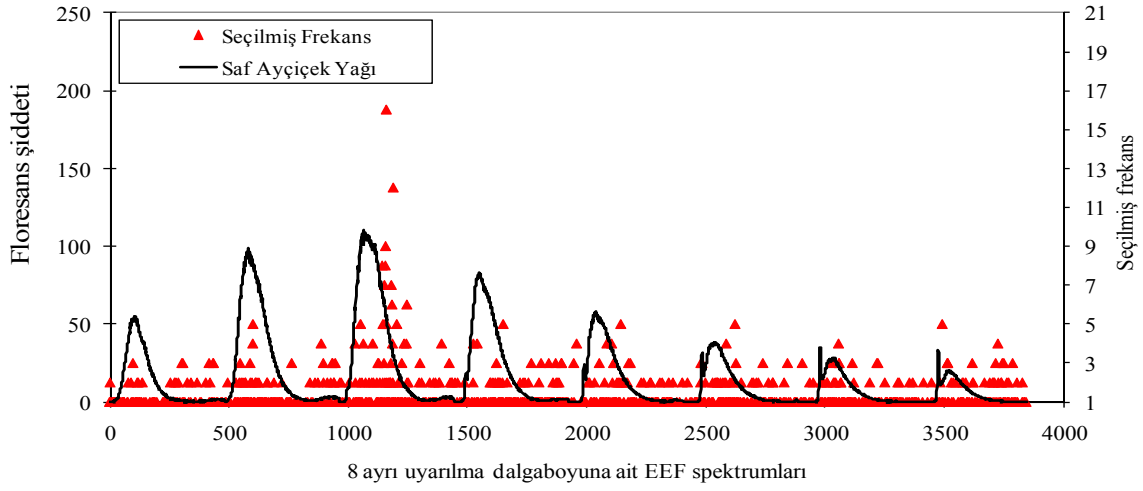


Şekil 5.23. Senkronize floresans spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağı derişimleri.

GILS yöntemi dalgaboyu seçimine dayalı bir metot olduğundan, tüm spektral bölgeden seçilen dalgaboylarının dağılımını gözlemlemek de mümkündür. Şekil 5.24 ve 5.25'de zeytin, ayçiçek, kanola ve mısırözü yağlarına ait, EEF ve SF verileri için seçilen dalgaboylarının frekans dağılım grafikleri gösterilmektedir. Şekil 5.24'da, hem saf bileşen spektrumunu hem de seçilme frekansı dağılımını gösterebilmek için, 8 ayrı uyarılma dalgaboyundaki emisyon spektrumları sıralanmıştır.

Zeytinyağı için, en sık seçilen dalgaboyları üçüncü, dördüncü ve sekizinci uyarılma dalgaboylarında gözlenirken, ayçiçek ve kanola yağları için sık seçilen dalgaboyu üçüncü uyarılma dalgaboylarında yoğunlaşmıştır. Son olarak mısırözü yağı için ilk ik ve son iki uyarılma dalgaboyları daha seçici olmaktadır. Ayrıca, seçilme frekanslarının zeminde (baseline) çok düşük oluşu ve GILS yönteminin rastgele dalgaboyu seçimine dayanmasına rağmen, spektrumun zengin bilgi içeren bölgelerine odaklandığını göstermektedir.

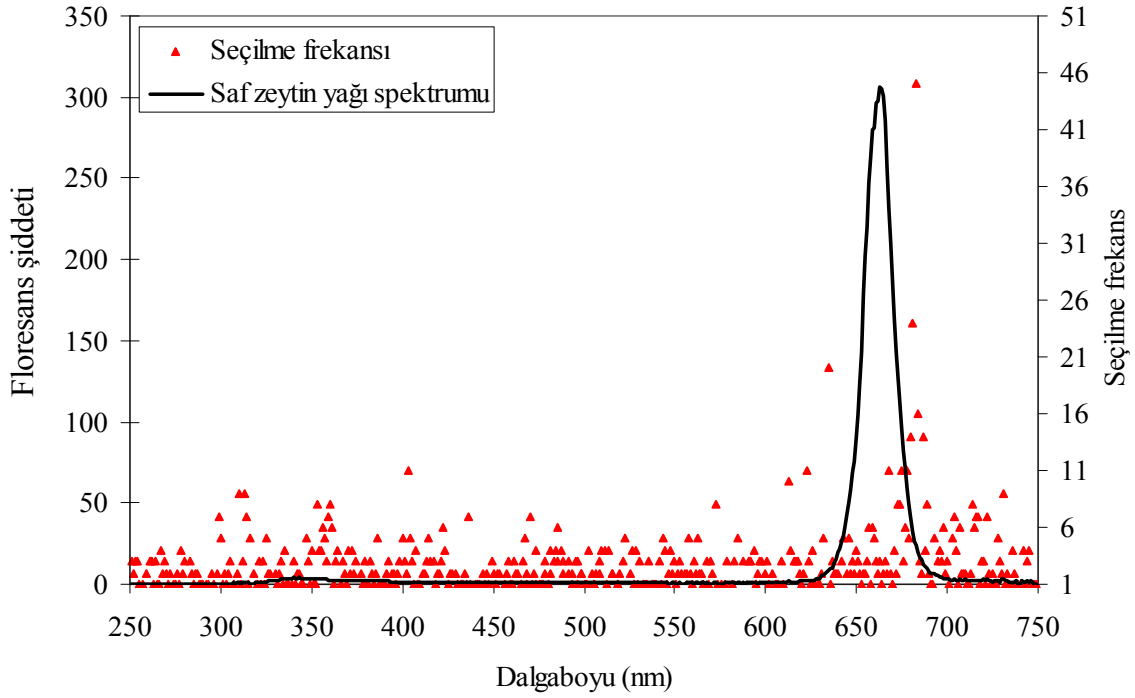


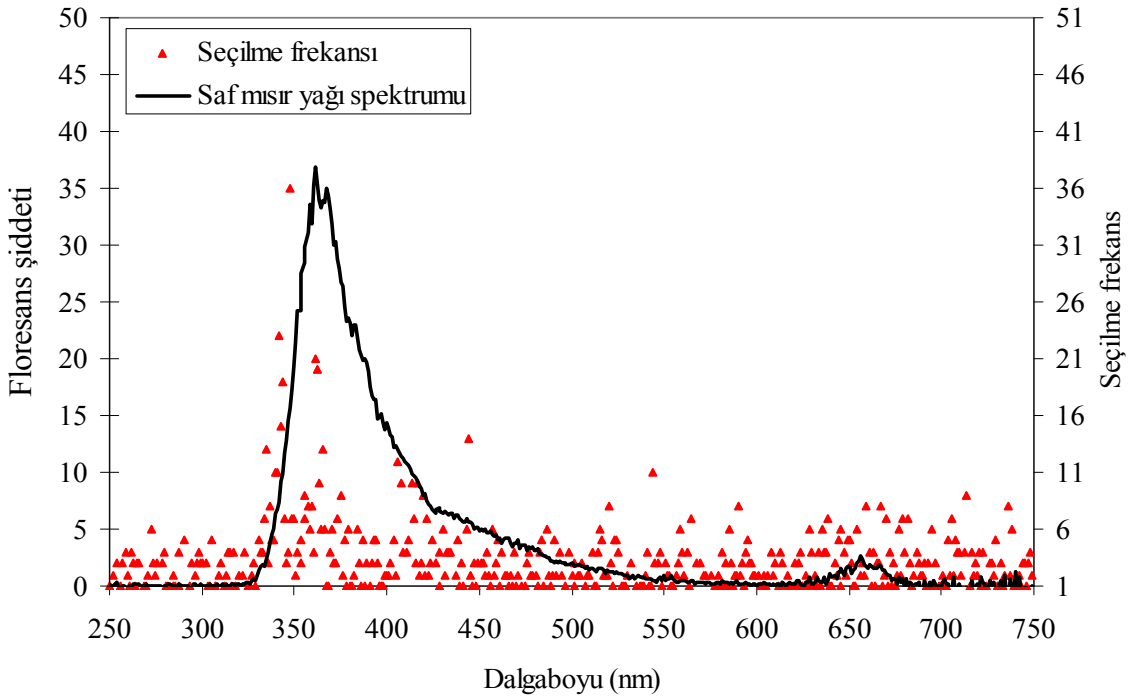
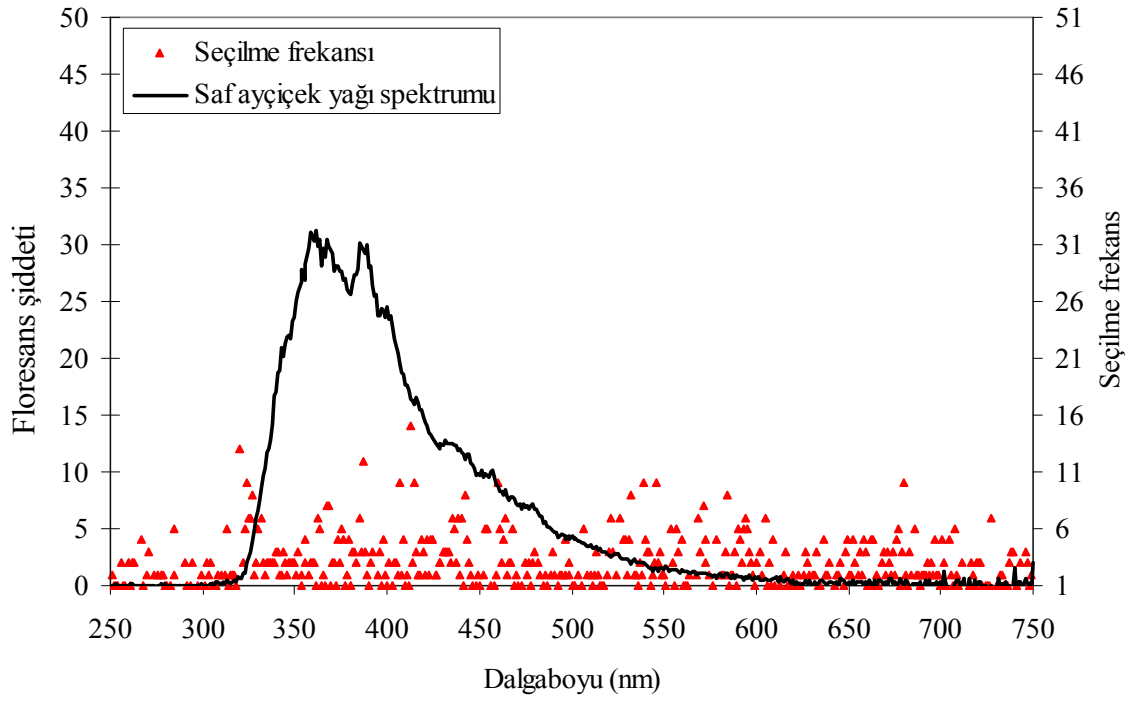


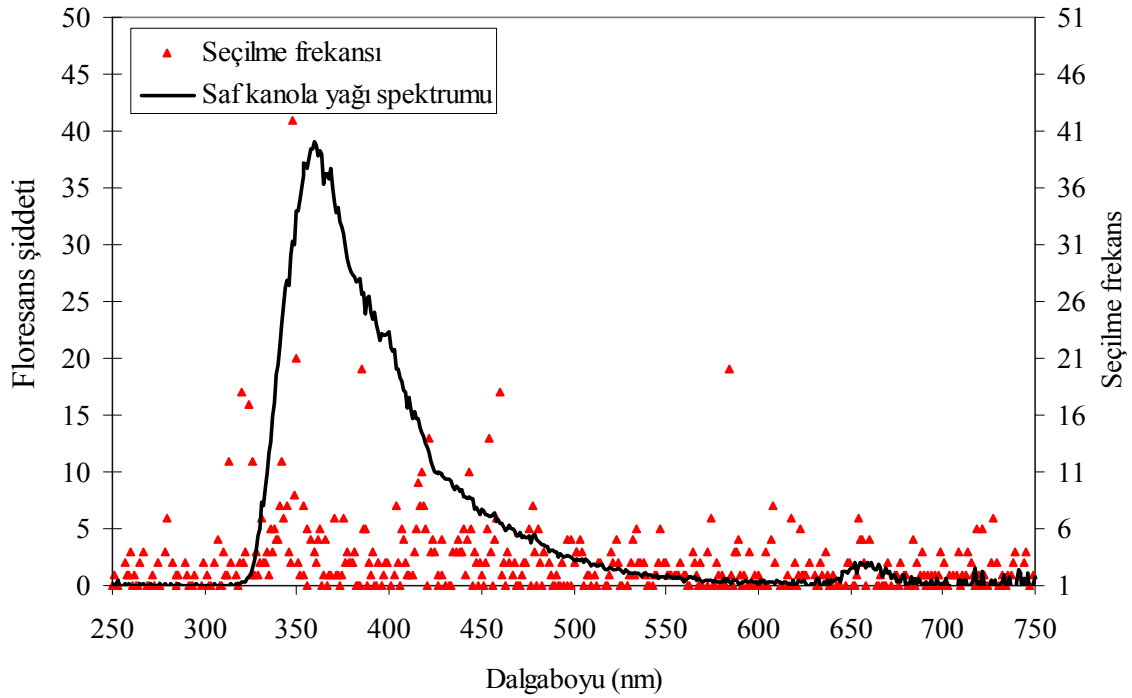
Şekil 5.24.GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri.

Şekil 5.24'den görülebileceği gibi, zeytin yağının seçilme frekans dağılımı oldukça ilginçtir. Burada en çok seçilen dalgaboyları, zayıf bir pike sahip olan 300 nm civarında yer almaktadır. Bu durum için olası sebep; sinyalin bu dalgaboyu aralığında daha iyi bir lineerlik göstermesidir. Zeytinyağlarının oleikce diğer yağlara göre daha zengin olması da bu bölgenin seçim sebebi olarak kabul edilebilir. Ayrıca diğer bitkisel yağlardan farklı olarak içerdiği klorofilden kaynaklı floresans piki de kalibrasyon modellerinin oluşumunda rol oynamaktadır.

Mısır özü, kanola ve ayçiçek yağlarının örnekleri için dalgaboyu frekans dağılımı beklenen sonuçları vermektedir, Bu durum da genetik algoritmaya dayalı yöntemlerden GILS'in derişime bağlı bilginin en yoğun olduğu bölgeye odaklandığını açıkça göstermektedir.





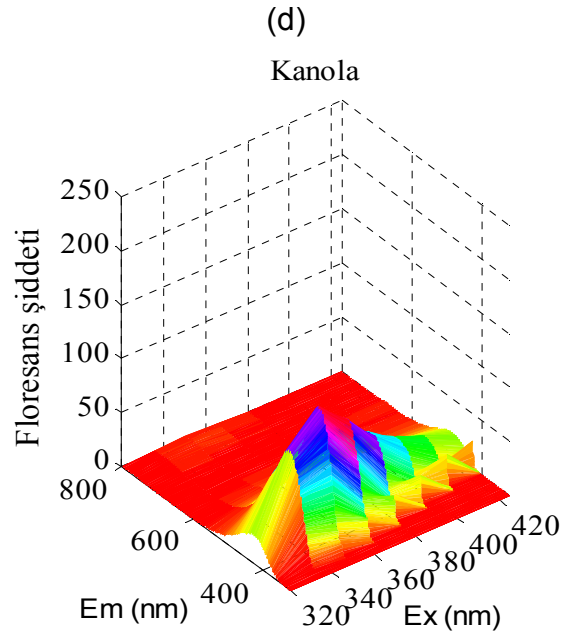
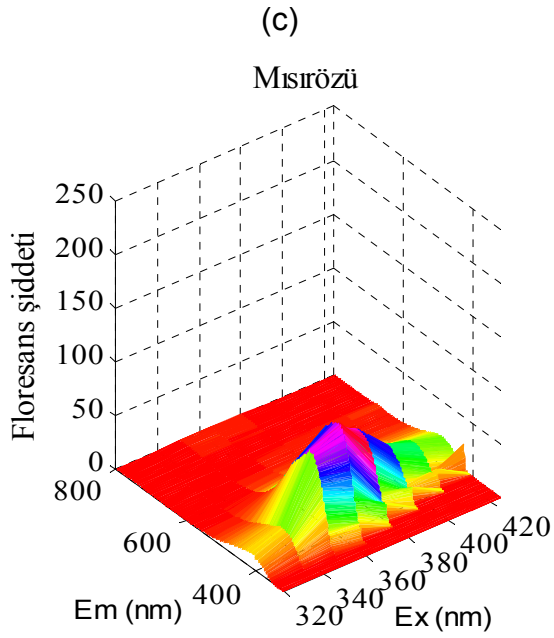
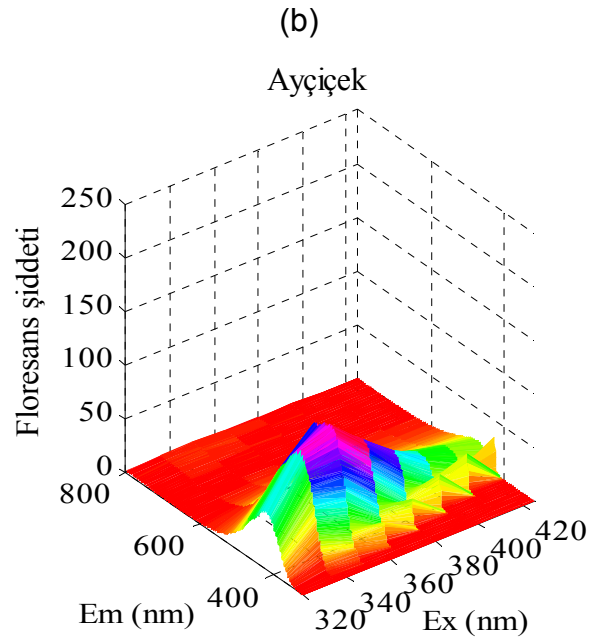
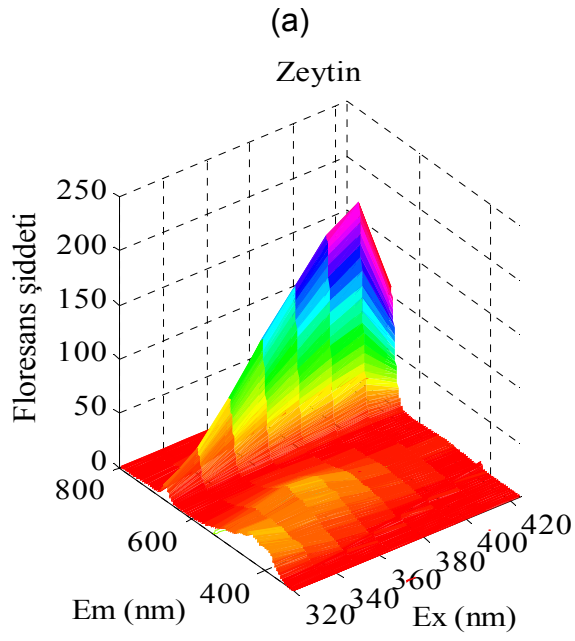


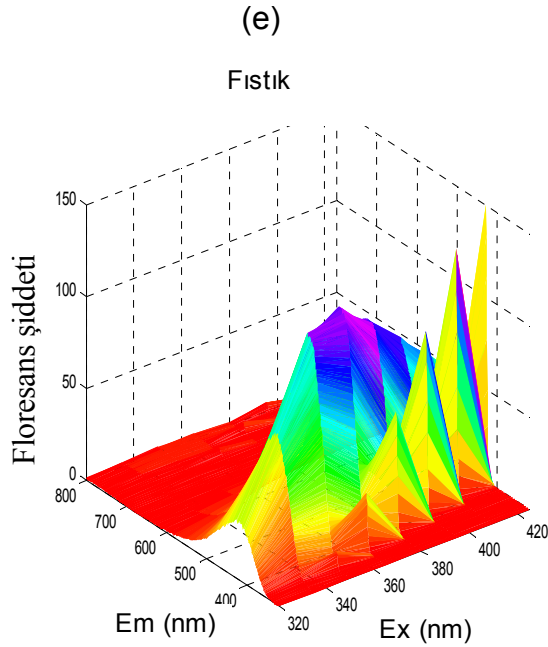
Şekil 5.25. GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri.

5.2.3. Beşli Karışımlar için Floresans Ölçüm Sonuçları

Bitkisel yağların floresans özellikleri daha önceki bölümde açıklanmıştır. Şekil 5.26'da tüm bileşenlerin saf haldeki EEF spektrumları verilmiştir. Dörtlü yağ karışımları hazırlanarak zeytin yağının tağşişi çalışmasına ek olarak karışımdaki bileşen sayısı artırılmış böylece floresans spektrumlarından genetik algoritmaya dayalı ters en küçük kareler yöntemi uygulanarak her bir bileşen için kalibrasyon modeli kurulmuştur.

Toplamda 62 adet örnek karışımı, zeytin, ayçiçek, mısır, kanola ve fıstık yağı kullanılarak hazırlanmıştır. Bu örnekler floresans spektrometresinde ölçülmüş olup 3 boyutlu veri elde edilmiştir.





Şekil 5.26. Saf haldeki (a) zeytin, (b) ayçiçek, (c) mısırözü, (d) kanola ve (e) fıstık yağlarının 1 cm ışın yoluna sahip küvetlerle alınmış emisyon–uyarıma floresans spektrumları (emisyon dalgaboyu aralığı; 320-800 nm, uyarılma dalgaboyu aralığı; 320-425 nm).

62 adet örnek içerisinde 41 tanesi kalibrasyon 21 tanesi validasyon seti olmak üzere ayrılmıştır. Tablo 5.14 ve Tablo 5.15 kalibrasyon ve validasyon setlerine derişim miktarlarını ağırlıkça yüzde birimi üzerinden vermektedir. GILS programı kullanılarak kalibrasyon modelleri her bir bileşen için ayrı ayrı kurulmuştur. Kalibrasyon seti örneklerinin spektrum verileri kullanılarak, kalibrasyon modeli kurulmuş, modelin başarısı ise validasyon seti örnekleriyle test edilmiştir, GILS yönteminin rastgele doğasından dolayı, program 30 gen ve 50 iterasyonla, 100 tekrarlı çalıştırılmıştır, Program 50 iterasyonla çalıştırıldığından, modelin kurulma aşamasındaki olası ezberleme (overfitting) sorunlarını önlemek için çapraz validasyon (cross validation) uygulanmıştır.

Tablo 5.14. Kalibrasyon setindeki her bir örneğe ait kütlece yüzde miktarları

| Örnek No | Zeytin Yağı (%w/w) | Ayçiçek Yağı (%w/w) | Mısır Yağı (%w/w) | Kanola Yağı (%w/w) | Fıstık Yağı (%w/w) | Örnek No | Zeytin Yağı (%w/w) | Ayçiçek Yağı (%w/w) | Mısır Yağı (%w/w) | Kanola Yağı (%w/w) | Fıstık Yağı (%w/w) |
|----------|-----------------------|------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------|-----------------------|------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 100.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 22 | 0.00 | 33.30 | 33.28 | 33.42 | 0.00 |
| 2 | 0.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 23 | 0.00 | 33.45 | 33.29 | 0.00 | 33.27 |
| 3 | 0.00 | 0.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 | 24 | 0.00 | 33.33 | 0.00 | 33.56 | 33.10 |
| 4 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 100.00 | 0.00 | 25 | 0.00 | 0.00 | 33.42 | 33.18 | 33.40 |
| 5 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 100.00 | 26 | 24.89 | 25.01 | 25.07 | 25.04 | 0.00 |
| 6 | 50.01 | 49.99 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 27 | 24.73 | 24.80 | 25.42 | 0.00 | 25.06 |
| 7 | 49.95 | 0.00 | 50.05 | 0.00 | 0.00 | 28 | 25.01 | 25.00 | 0.00 | 24.92 | 25.07 |
| 8 | 50.07 | 0.00 | 0.00 | 49.93 | 0.00 | 29 | 24.94 | 0.00 | 25.09 | 24.97 | 25.00 |
| 9 | 49.97 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 50.03 | 30 | 0.00 | 25.11 | 25.06 | 24.87 | 24.96 |
| 10 | 0.00 | 50.83 | 49.17 | 0.00 | 0.00 | 31 | 19.92 | 19.88 | 20.01 | 19.87 | 20.33 |
| 11 | 0.00 | 49.98 | 0.00 | 50.02 | 0.00 | 32 | 73.44 | 7.34 | 5.40 | 4.74 | 9.07 |
| 12 | 0.00 | 50.01 | 0.00 | 0.00 | 49.99 | 33 | 11.24 | 8.75 | 1.59 | 71.29 | 7.13 |
| 13 | 0.00 | 0.00 | 50.02 | 49.98 | 0.00 | 34 | 14.03 | 22.02 | 13.70 | 21.82 | 28.43 |
| 14 | 0.00 | 0.00 | 49.98 | 0.00 | 50.02 | 35 | 12.43 | 34.12 | 1.94 | 30.82 | 20.69 |
| 15 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 49.85 | 50.15 | 36 | 15.20 | 17.18 | 19.58 | 23.16 | 24.88 |
| 16 | 33.10 | 33.49 | 33.41 | 0.00 | 0.00 | 37 | 2.48 | 29.60 | 35.75 | 14.53 | 17.64 |
| 17 | 33.28 | 33.30 | 0.00 | 33.42 | 0.00 | 38 | 26.23 | 7.07 | 21.92 | 32.09 | 12.69 |
| 18 | 33.28 | 33.40 | 0.00 | 0.00 | 33.32 | 39 | 23.86 | 23.47 | 16.25 | 22.08 | 14.34 |
| 19 | 33.35 | 0.00 | 33.28 | 33.37 | 0.00 | 40 | 4.05 | 1.17 | 27.84 | 13.69 | 53.24 |
| 20 | 33.26 | 0.00 | 33.25 | 0.00 | 33.49 | 41 | 7.90 | 31.04 | 25.84 | 2.34 | 32.88 |
| 21 | 32.94 | 0.00 | 0.00 | 33.98 | 33.08 | | | | | | |

Tablo 5.15. Validasyon setindeki her bir örneğe ait kütlece yüzde miktarları

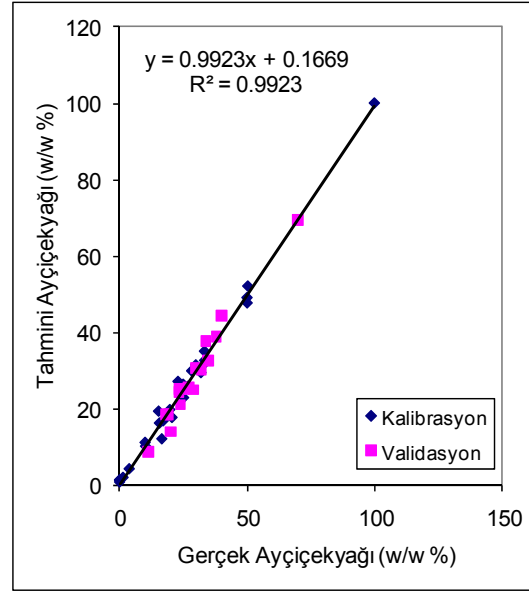
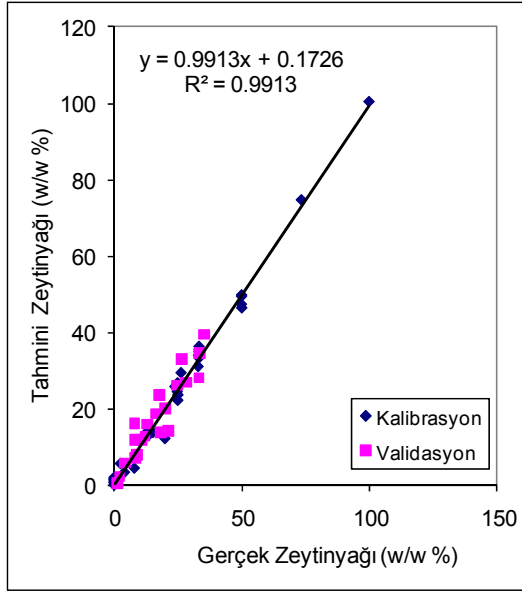
| Örnek No | Zeytin Yağı (%w/w) | Ayçiçek Yağı (%w/w) | Mısır Yağı (%w/w) | Kanola Yağı (%w/w) | Fıstık Yağı (%w/w) |
|----------|--------------------|---------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| 1 | 19.91 | 19.98 | 20.19 | 20.00 | 19.92 |
| 2 | 4.24 | 13.44 | 8.63 | 3.01 | 70.67 |
| 3 | 8.06 | 72.34 | 7.57 | 5.36 | 6.66 |
| 4 | 10.88 | 8.13 | 72.54 | 5.13 | 3.31 |
| 5 | 13.22 | 35.56 | 33.04 | 12.44 | 5.75 |
| 6 | 21.28 | 3.52 | 8.32 | 7.19 | 59.69 |
| 7 | 8.52 | 15.30 | 22.76 | 31.76 | 21.67 |
| 8 | 12.09 | 39.77 | 18.00 | 22.76 | 7.38 |
| 9 | 16.32 | 24.91 | 26.82 | 21.97 | 9.98 |
| 10 | 8.98 | 17.36 | 13.61 | 58.70 | 1.35 |
| 11 | 28.16 | 22.36 | 3.24 | 18.18 | 28.06 |
| 12 | 33.16 | 3.41 | 11.63 | 21.84 | 29.96 |
| 13 | 35.49 | 6.52 | 6.01 | 25.29 | 26.69 |
| 14 | 33.70 | 5.52 | 22.33 | 31.48 | 6.96 |
| 15 | 18.34 | 0.92 | 25.86 | 21.97 | 32.92 |
| 16 | 24.80 | 34.04 | 5.33 | 1.09 | 34.74 |
| 17 | 8.48 | 36.01 | 39.47 | 0.87 | 15.18 |
| 18 | 2.22 | 18.67 | 31.76 | 35.08 | 12.27 |
| 19 | 1.14 | 47.61 | 1.26 | 37.53 | 12.46 |
| 20 | 17.87 | 11.94 | 37.07 | 11.01 | 22.11 |
| 21 | 26.53 | 4.88 | 34.06 | 3.27 | 31.27 |

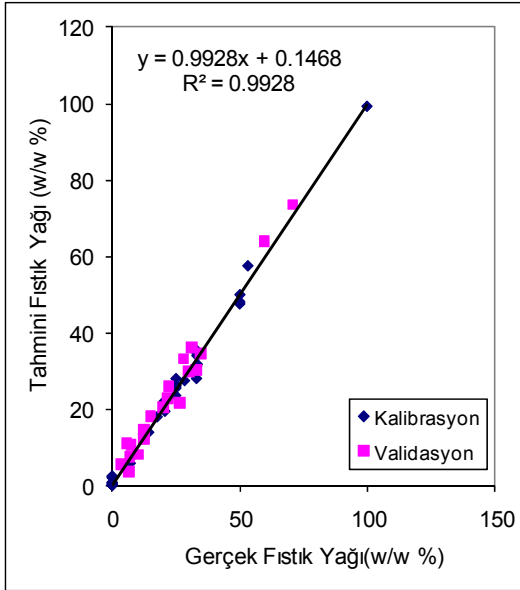
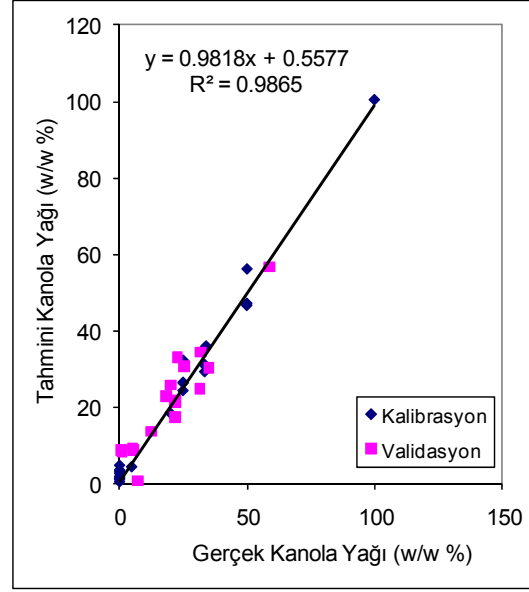
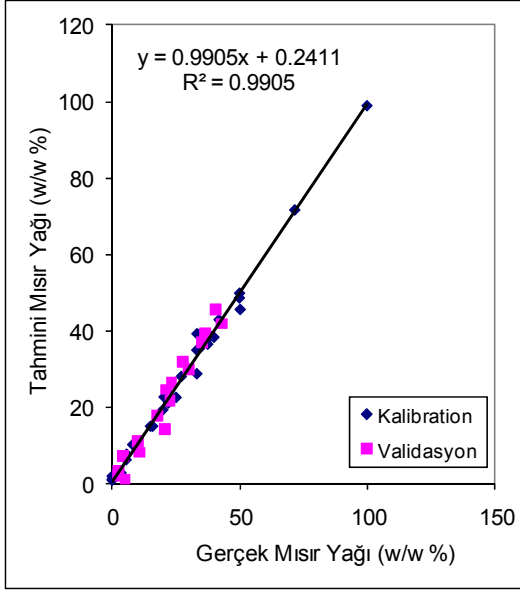
Zeytin yağının taşıdığı için yapılan çalışmanın amacına uygun olarak her bir bileşen için kalibrasyon modeli GILS yöntemi ile direkt olarak floresans spektrumlarının kullanımı ile elde edilmiştir. Kurulan kalibrasyon modellerinin standart kalibrasyon hatası (SEC) ve standart tahmin hataları (SEP) kütlece %1.86 ve %5.25 aralığında bulunmuş olup tüm sonuçlar Tablo 5.16'de belirtilmiştir.

Tablo 5.16. GILS sonucu kurulan kalibrasyon modellerine ait SEC ve SEP değerleri

| | Zeytinyağı | Ayecek yağı | Mısır Yağı | Kanola yağı | Fıstık yağı |
|------------|------------|--------------|------------|-------------|-------------|
| SEC (%w/w) | 2,17 | 1,87 | 2,32 | 2,73 | 1,86 |
| SEP(%w/w) | 3,70 | 2,54 | 3,14 | 5,25 | 3,15 |

Zeytinyağının, ktlence değişen yüzdelerde tağşişine teşebbüsü tahmin etmek için bu değerler oldukça iyi gözükmektedir. Elde edilen bu sonuçlara ait gerçek değerlere karşı tahmin değerleri her bir yağ için grafiğe geçirilerek bu değerler arasındaki lineerlik gözlemlenmiştir. Garfiklerden de görüleceği gibi elde edilen korelasyon katsayısı oldukça iyi olup, EEF değerlerinden zeytin yağı tağşişi için iyi sonuç elde edildiği görülmüştür.

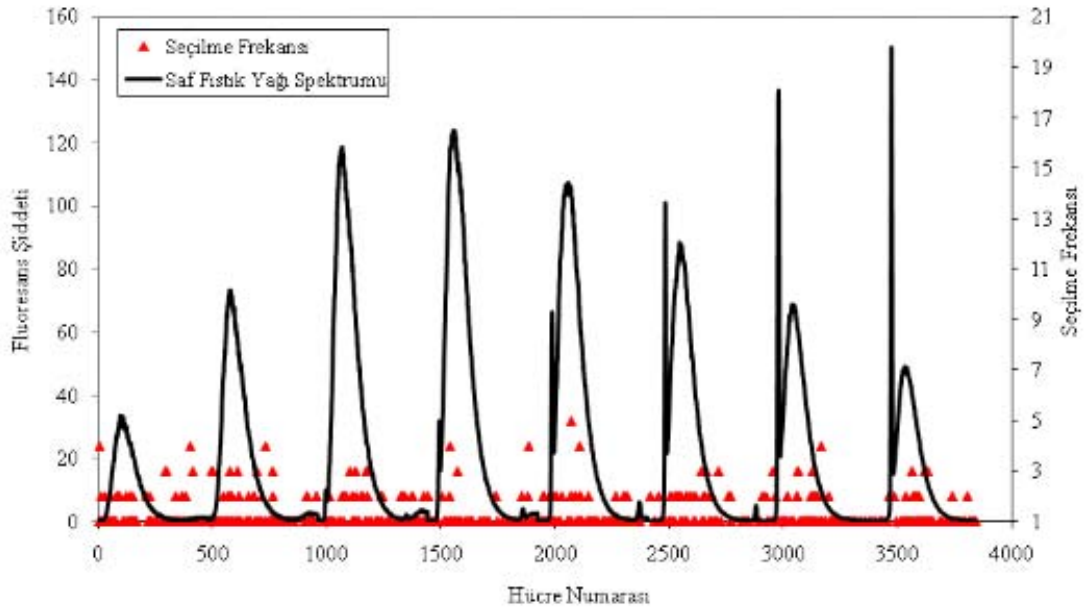
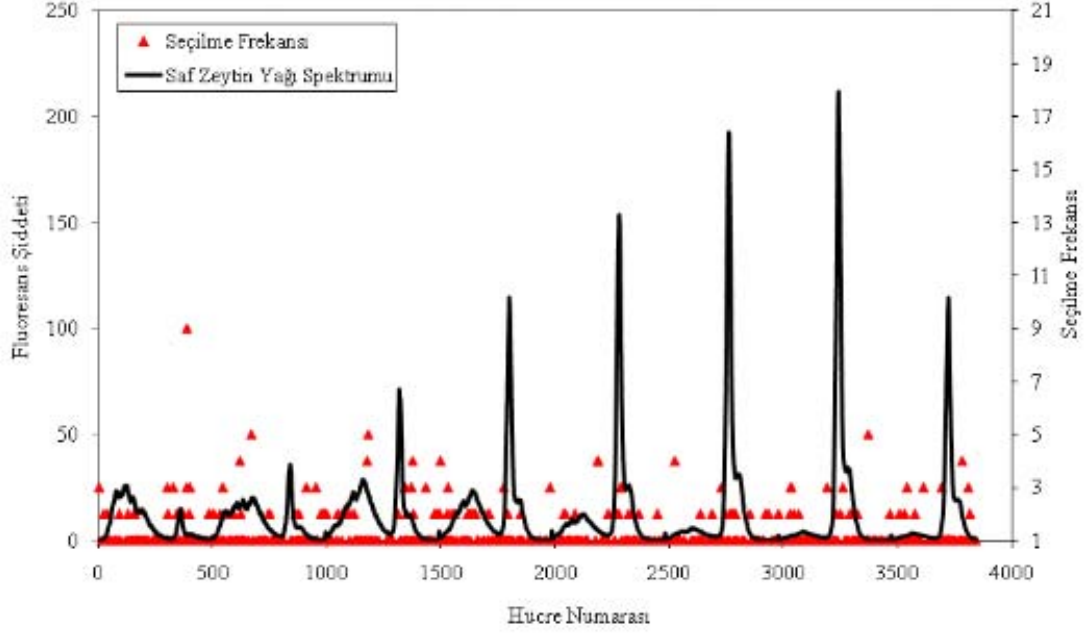


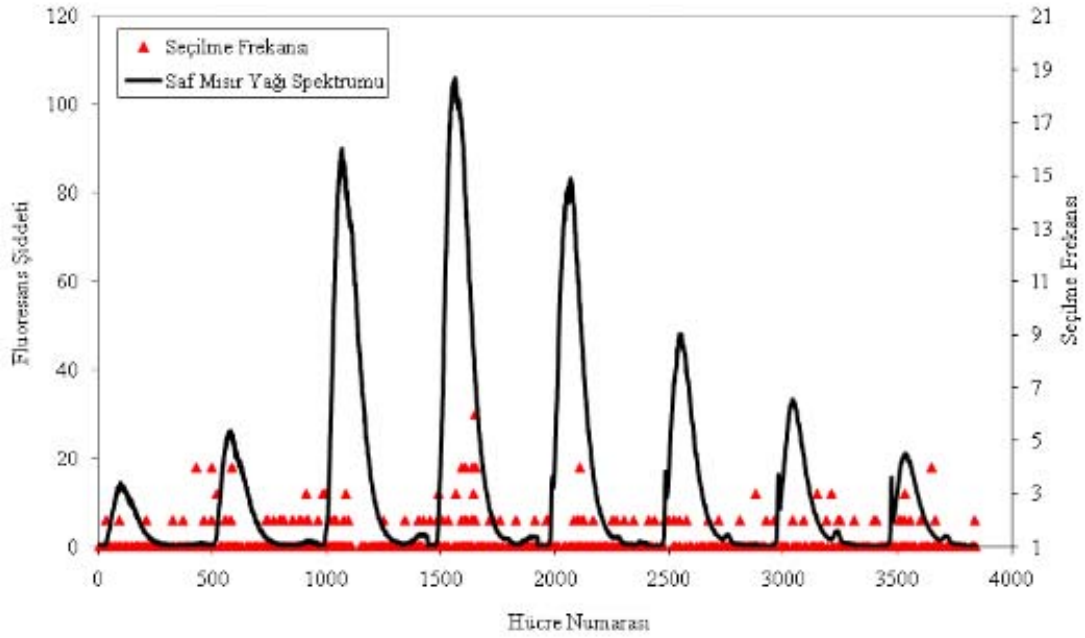
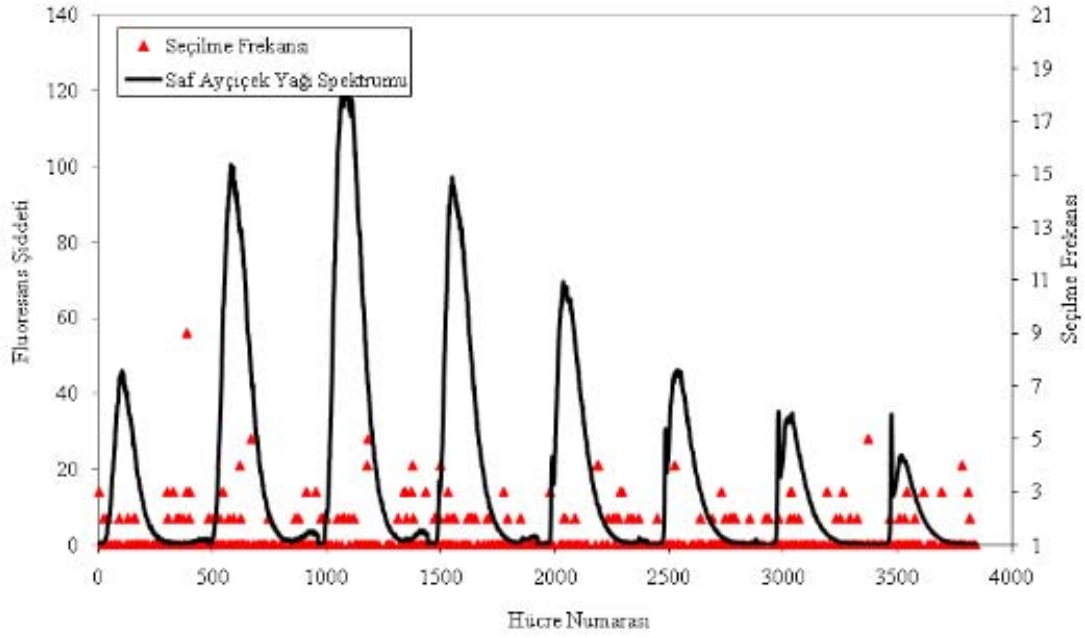


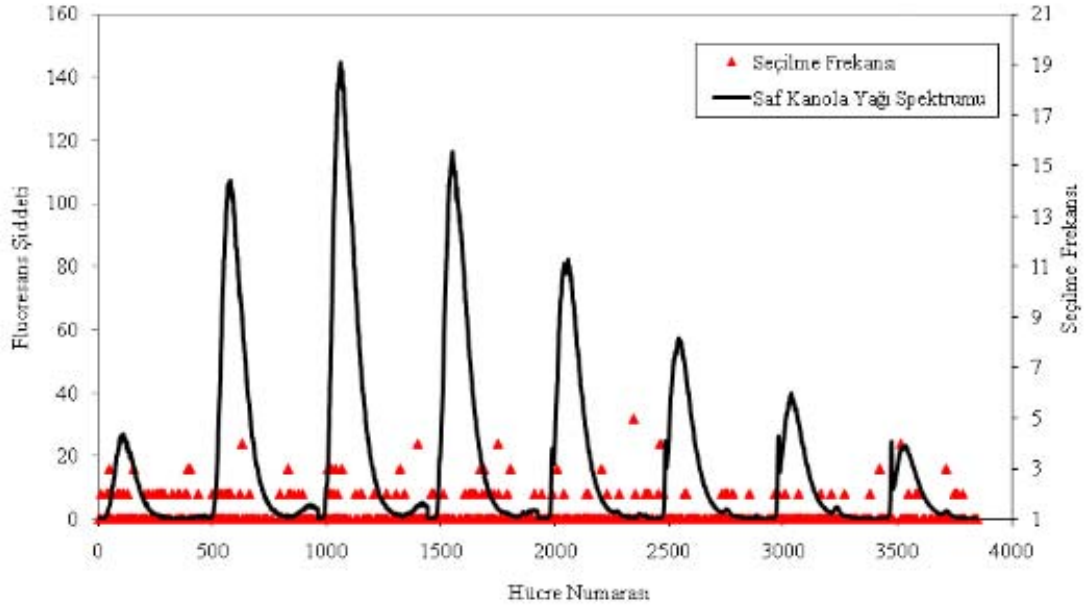
Şekil 5.27. Emisyon-uyarıma floresans spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır, kanola ve fıstık yağı derişimleri.

Böylece sonuçlara bakarak karışım içerisindeki bileşen sayısı arttıkça floresans ölçümlerinin zeytin yağının tağışışinde başarılı sonuçlar sergilediğı görülmüştür. Hangi

uyarıma dalgaboylarında hangi emisyon dalgaboyunun daha çok bilgi içerdiğini de gözlemleyebilmek için seçilen dalgaboylarının seçilme frekans grafikleri de çizilmiştir.







Şekil 5.28. GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri.

Bu grafiklerden de görüldüğü üzere her bir yağ kendi özelliklerine farklı dalgaboylarında seçilme özelliği göstermiştir. Genetik algoritmanın bilgiyi içeren dalgaboyunu seçme başarısı da böylece gözlemlenmiştir.

5.3. FTIR-ATR Ölçüm Sonuçları

5.3.1. Dörtlü Karışım için FTIR Sonuçları

Çalışmanın bu bölümünde marketlerden alınan zeytin, ayçiçek, kanola ve mısır yağlarının saf halde ve dört bileşenli karışımlar halindeki spektrumları FTIR-ATR kullanılarak alınmıştır. Hazırlanan 50 adet dörtlü karışımdan 32 tanesi kalibrasyon setini oluştururken, kalan 18 tanesi de validasyon setini oluşturmaktadır. Tüm örnekler, hasas terazide tartılarak karıştırılıp, tartım miktarları ağırlıkça yüzde değerlerine göre Tablo 5.17 ve Tablo 5.18'de verilmiştir.

Karışımların tamamının spektrumları, Perkin Elmer Spektrum 100 Fourier Transform spektrometresinin ATR (Attenuated Total Reflectance) aksesuarı kullanılarak alınmıştır. Ölçümler sırasında dalgasayısı aralığı $600-4000\text{ cm}^{-1}$ ve çözünürlük 4 cm^{-1} olarak ayarlanmıştır.

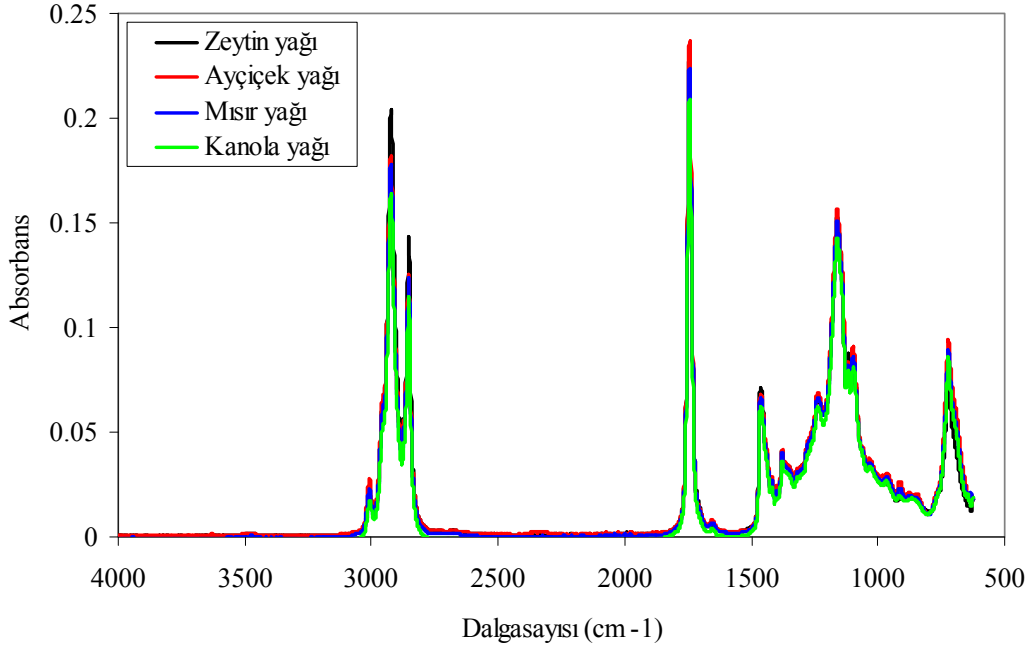
Tablo 5.17. Kalibrasyon setini oluşturan 32 adet örneğe ait derişim tablosu.

| Örnek Numarası | Zeytin Yağı (w/w %) | Ayçiçek Yağı (w/w %) | Mısır Yağı (w/w %) | Kanola Yağı (w/w %) |
|----------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | 100,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 2 | 0,00 | 100,00 | 0,00 | 0,00 |
| 3 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | 0,00 |
| 4 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 100,00 |
| 5 | 49,67 | 50,33 | 0,00 | 0,00 |
| 6 | 49,76 | 0,00 | 50,24 | 0,00 |
| 7 | 49,99 | 0,00 | 0,00 | 50,01 |
| 8 | 0,00 | 50,07 | 49,93 | 0,00 |
| 9 | 0,00 | 50,03 | 0,00 | 49,97 |
| 10 | 0,00 | 0,00 | 50,01 | 49,99 |
| 11 | 33,30 | 33,46 | 33,23 | 0,00 |
| 12 | 33,32 | 33,38 | 0,00 | 33,30 |
| 13 | 33,67 | 0,00 | 33,22 | 33,11 |
| 14 | 0,00 | 33,33 | 33,28 | 33,39 |
| 15 | 24,97 | 24,97 | 25,08 | 24,98 |
| 16 | 39,90 | 10,02 | 19,94 | 30,14 |
| 17 | 19,96 | 29,94 | 39,96 | 10,14 |
| 18 | 22,57 | 24,46 | 8,07 | 44,90 |
| 19 | 76,03 | 1,35 | 15,04 | 7,59 |
| 20 | 74,08 | 3,77 | 5,50 | 16,65 |
| 21 | 18,49 | 16,58 | 34,27 | 30,65 |
| 22 | 8,06 | 31,94 | 15,88 | 44,12 |
| 23 | 6,84 | 15,31 | 71,65 | 6,21 |
| 24 | 25,88 | 22,93 | 22,08 | 29,11 |
| 25 | 46,10 | 17,10 | 34,02 | 2,77 |
| 26 | 21,19 | 28,31 | 5,68 | 44,82 |
| 27 | 29,25 | 26,74 | 41,92 | 2,08 |
| 28 | 7,86 | 15,66 | 3,50 | 72,98 |
| 29 | 4,84 | 19,72 | 37,50 | 37,95 |
| 30 | 45,62 | 10,19 | 38,65 | 5,54 |
| 31 | 33,70 | 20,56 | 27,12 | 18,62 |
| 32 | 44,04 | 25,12 | 20,38 | 10,46 |

Tablo 5.18. Validasyon setini oluşturan 18 adet örneğe ait derişim tablosu.

| Örnek Numarası | Zeytin Yağı (w/w %) | Ayçiçek Yağı (w/w %) | Mısır Yağı (w/w %) | Kanola Yağı (w/w %) |
|----------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | 10,06 | 19,93 | 30,01 | 40,01 |
| 2 | 30,02 | 39,96 | 9,99 | 20,03 |
| 3 | 3,36 | 69,93 | 4,28 | 22,43 |
| 4 | 36,39 | 23,28 | 2,55 | 37,78 |
| 5 | 49,78 | 33,83 | 2,24 | 14,15 |
| 6 | 24,91 | 28,81 | 22,61 | 23,68 |
| 7 | 38,46 | 37,86 | 5,14 | 18,55 |
| 8 | 14,29 | 27,19 | 27,73 | 30,79 |
| 9 | 14,93 | 11,18 | 42,86 | 31,03 |
| 10 | 45,52 | 25,42 | 21,41 | 7,64 |
| 11 | 18,89 | 23,67 | 23,36 | 34,09 |
| 12 | 14,38 | 18,45 | 40,44 | 26,73 |
| 13 | 14,56 | 34,52 | 20,69 | 30,23 |
| 14 | 10,15 | 19,19 | 35,26 | 35,40 |
| 15 | 25,20 | 29,96 | 10,75 | 34,10 |
| 16 | 0,86 | 32,10 | 17,62 | 49,42 |
| 17 | 3,45 | 24,15 | 36,43 | 35,97 |
| 18 | 18,48 | 23,83 | 4,08 | 53,61 |

Karışımlarda kullanılan dört bitkisel yağın saf hallerinin spektrumları Şekil 5.29'da verilmiştir.



Şekil 5.29. Dörtlü karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağlarının saf hallerinin FTIR-ATR spektrumları.

Şekilden de görüleceği gibi bu dört bitkisel yağın spektrumları birbirleriyle çok benzer özellikler göstermektedir. 600-1000 cm^{-1} dalgasayısı aralığındaki güçlü pikler olefinik veya aromatik C-H bağlarına ait gerilme frekanslarını temsil etmektedir. 1000-1300 cm^{-1} aralığında yer alan güçlü pikler ise C-O bağına ait gerilmeleri gösterirken. 1250-1400 cm^{-1} aralığında da O-H bağına ait gerilmeler gözlenmektedir. 1500-2000 cm^{-1} aralığında, yaklaşık 1650 cm^{-1} dalgasayısına karşılık gelen tek ve kuvvetli pik de C=C ve C=O bağlarının titreşimlerini temsil etmektedir. 2850-2950 cm^{-1} dalgasayısı aralığındaki en kuvvetli pikler de $-\text{CH}_3$ ve $-\text{CH}_2$ bağlarına ait gerilmelerdir. 2700-2900 cm^{-1} aralığında kalan pikler $-\text{CHO}$ bağına ait gerilme frekanslarını temsil ederken, bunlara kıyasla daha zayıf özellik gösteren $-\text{C}=\text{C}-\text{H}$ bağına ait pik de yaklaşık 3050 cm^{-1} de gözlenmektedir.

Sonuç olarak bu yağların karışımlarının spektrumları gözle ayırt edilemez. Bu durum da yağların ayırt edilmesi ve karışım içindeki miktarlarının tayininin yapılabilmesi

zorlaştırmaktadır. Bu sebeple, çok değişkenli kalibrasyon yöntemlerinin kullanılması gereklidir.

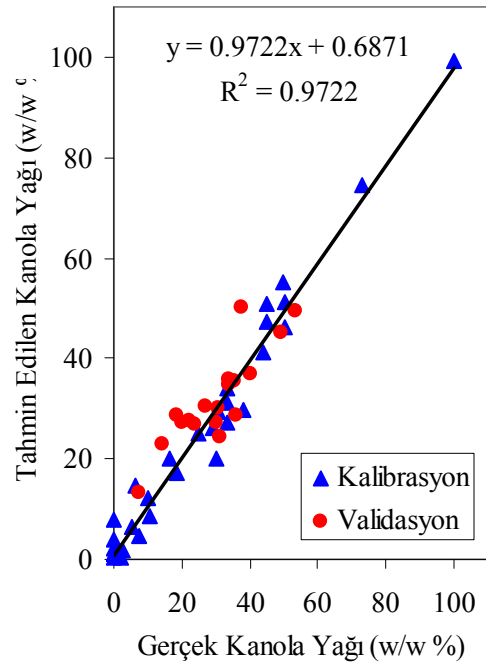
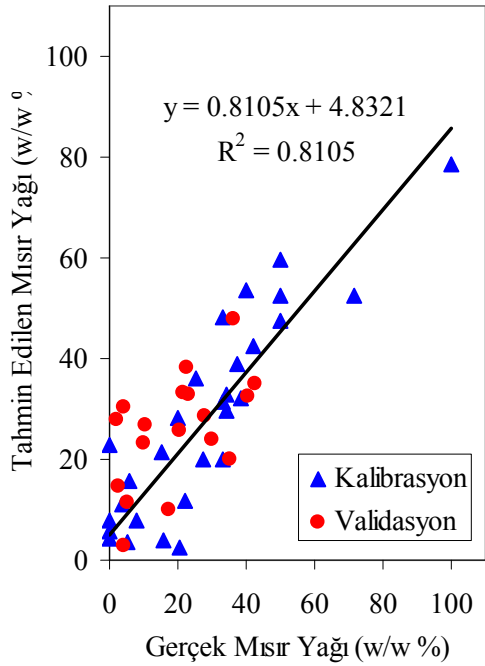
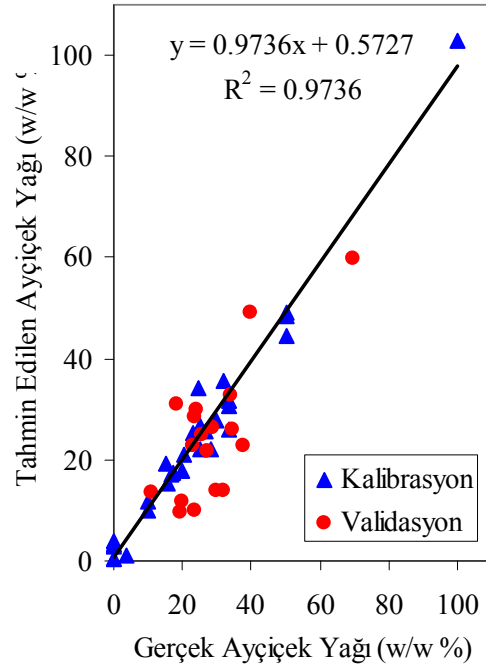
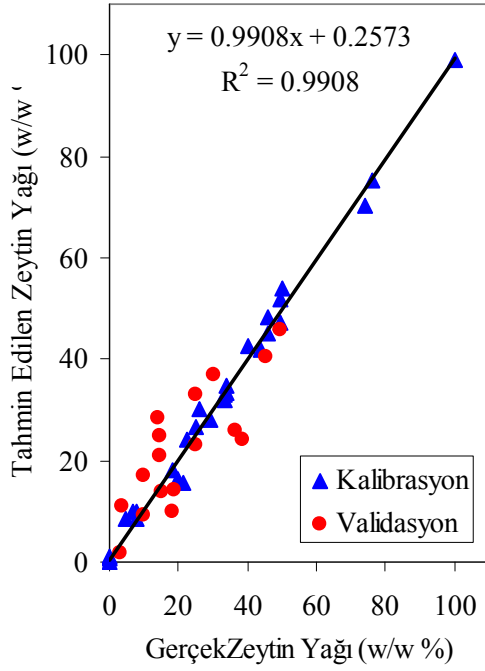
50 karışımı içeren örnek seti, kalibrasyon ve validasyon seti olmak üzere ikiye ayrılmış, her iki set için de örneklere ait absorbans değerlerinin bulunduğu matrisler oluşturulmuştur. GILS yöntemi ile her bir bileşen için ayrı ayrı kalibrasyon modelleri kurularak test edilmiştir. GILS genetik algoritmaya dayalı bir kalibrasyon yöntemi olduğundan, gen sayısı 50, iterasyon sayısı 50 olarak ayarlanmış ve program 100 kere tekrar edilmiştir.

Kalibrasyon modelleri kurulurken kalibrasyon ve validasyon için ayrı ayrı olmak üzere standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları hesaplanmış ve bu değerler Tablo 5.19'de verilmiştir.

Tablo 5.19. Dörtlü karışımlara ait kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları,

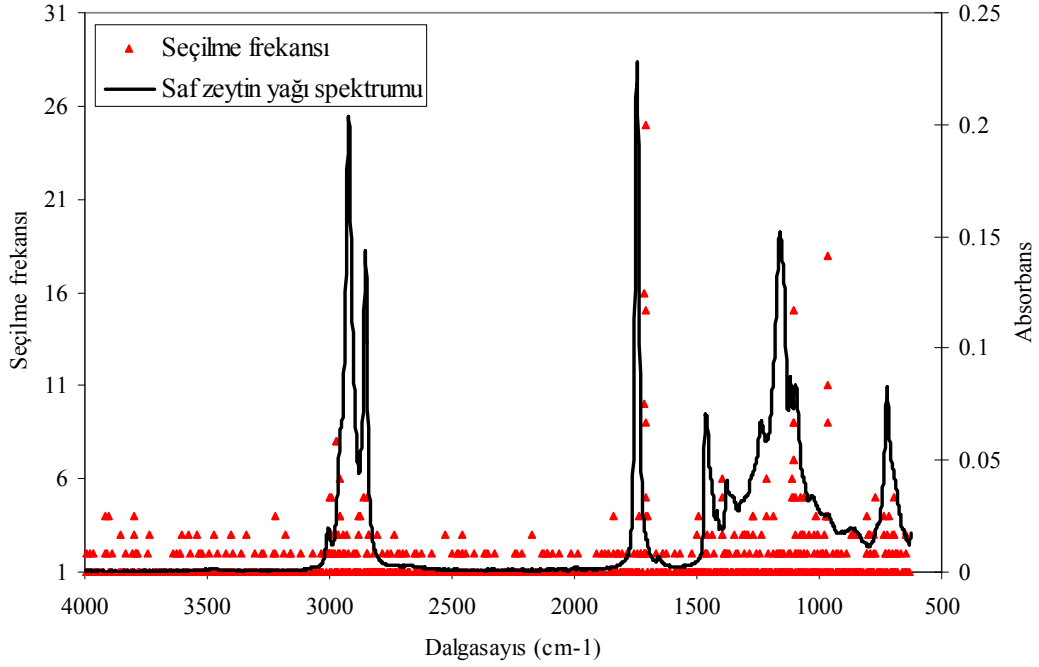
| FTIR-ATR | Zeytin yağı | Ayçiçek yağı | Mısır yağı | Kanola yağı |
|-------------|-------------|--------------|------------|-------------|
| SEC (w/w %) | 2,45 | 3,46 | 10,36 | 4,12 |
| SEP (w/w %) | 7,61 | 9,63 | 12,99 | 5,9 |

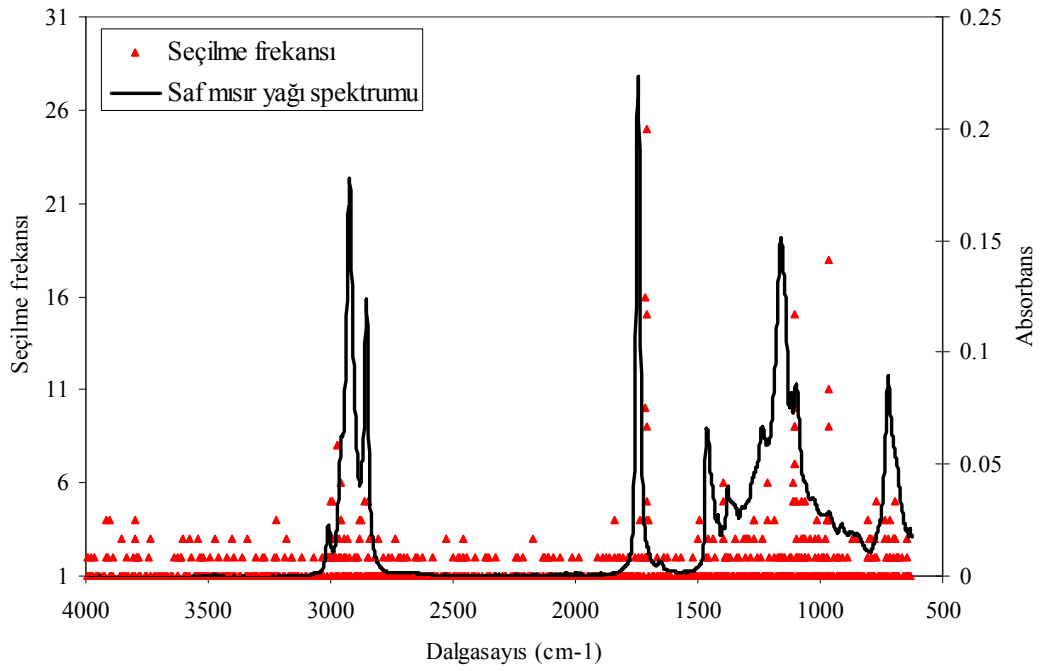
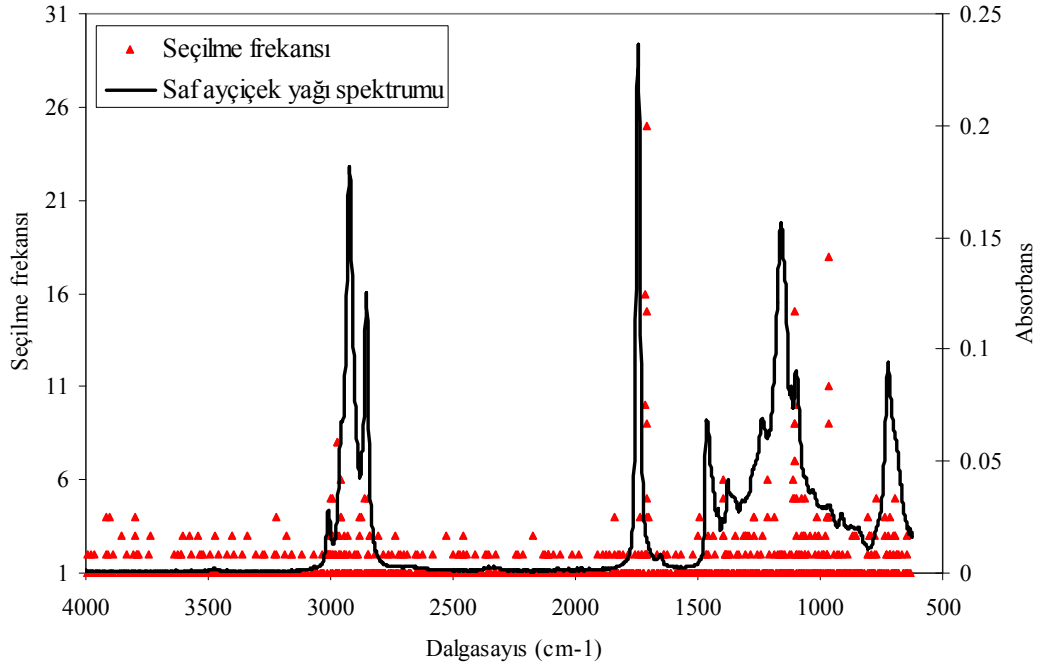
Tablodan da görüldüğü üzere zeytin, ayçiçek ve kanola yağları için SEC ve SEP değerleri, kütlece %2,4 ile 9,6 arasında değişirken, mısır yağı için bu değerler sırasıyla % 10,3 ve %12,9 olarak hesaplanmıştır. Bu durum karışımlarda yer alan zeytin, ayçiçek ve kanola yağlarının miktar tayininin mısır yağına kıyasla daha başarılı olduğunu göstermektedir. Şekil 9'de verilen grafikler de bu görüşü desteklemektedir. Regresyon katsayılarına bakıldığında, zeytin, kanola ve ayçiçek yağları için başarılı kalibrasyon modellerinin kurulduğunu söylemek mümkündür.

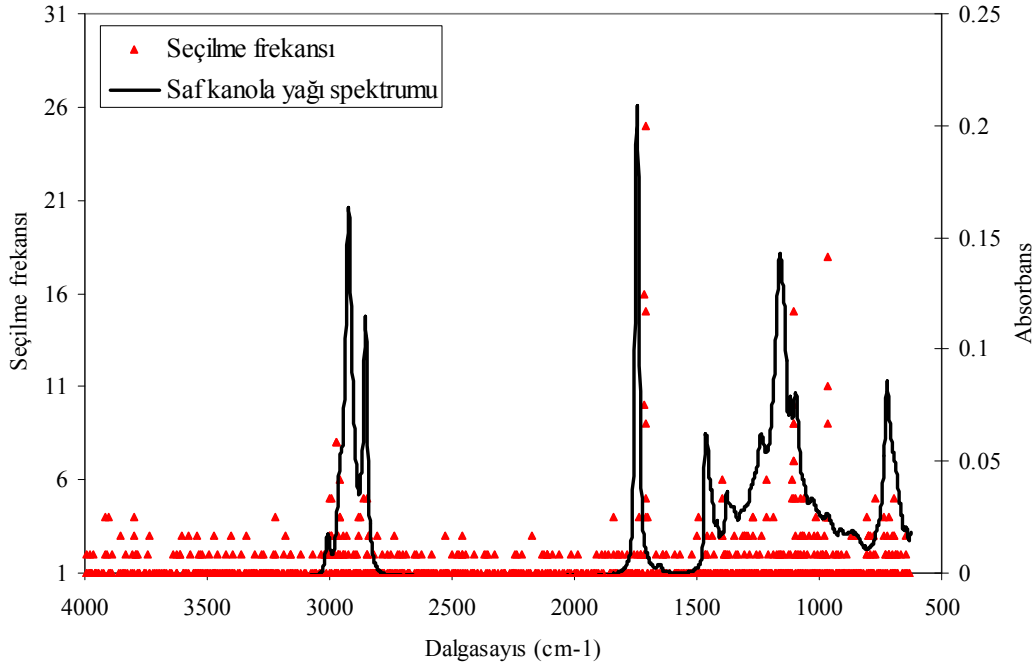


Şekil 5.30. FTIR-ATR spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır ve kanola yağı derişimleri.

GILS yöntemi dalgaboyu/dalgasayısı seçimine dayalı bir yöntem olduğundan, tüm spektral bölgeden seçilen dalgasayılarının dağılımını gözlemlemek mümkündür. Şekil 10 her bir bileşen için seçilen dalgasayılarının frekans dağılım grafiklerini göstermektedir. Genetik algoritmaya dayalı yöntemlerden GILS'in derişime bağılı bilginin en yoğun olduğu bölgeye odaklandığını göstermektedir.







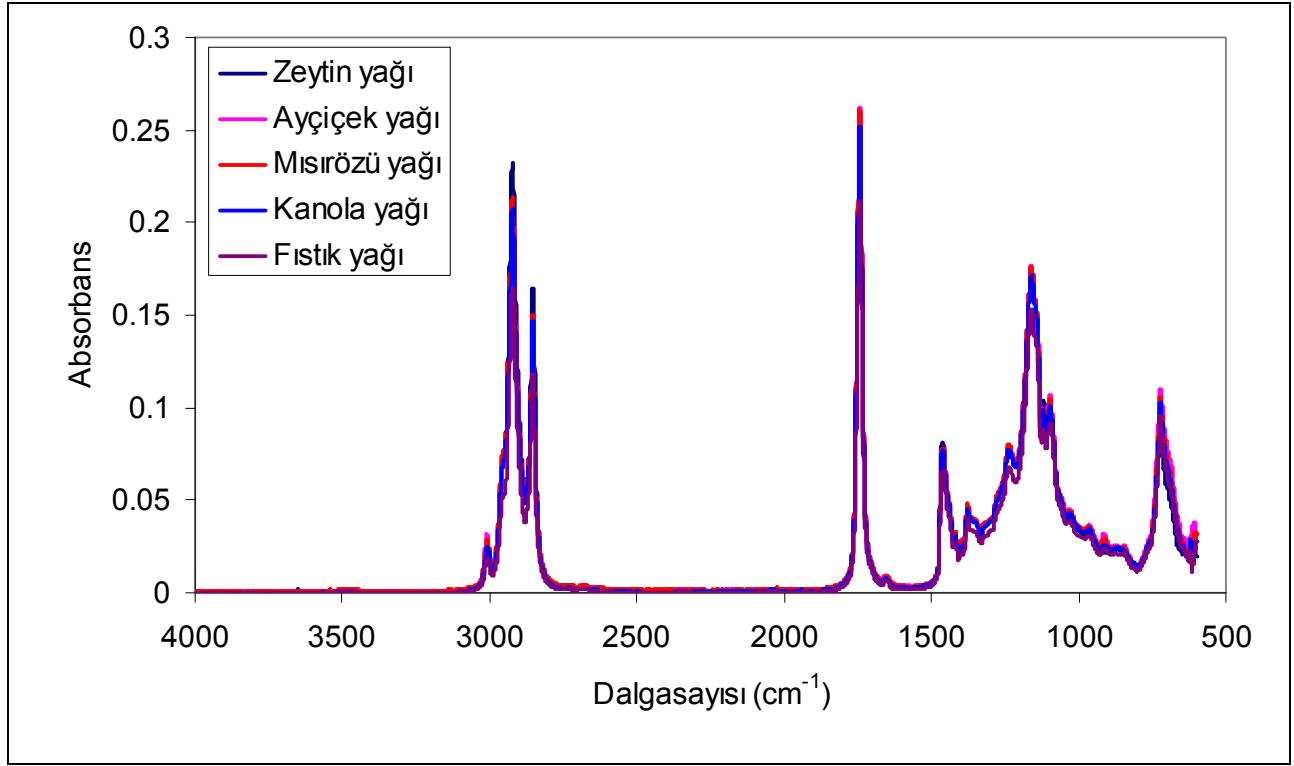
Şekil 5.31. GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalğaboyu dağılım grafikleri.

5.3.2. Beşli Karışım FTIR sonuçları

Çalışmanın bu bölümünde marketlerden alınan zeytin, ayçiçek, kanola, mısır ve fıstık yağlarının saf halde ve beş bileşenli karışımlar halindeki spektrumları FTIR-ATR kullanılarak alınmıştır. Hazırlanan beşli karışımlardan kalibrasyon seti ve validasyon setleri oluşturulmuştur. Tüm örnekler, hassas terazide tartılarak karıştırılıp, tartım miktarları ağırlıkça yüzde değerlerine göre Tablo 5.14 ve Tablo 5.15’de verilmiştir.

Karışımların tamamının spektrumları, Perkin Elmer Spektrum 100 Fourier Transform spektrometresinin ATR (Attenuated Total Reflectance) aksesuarı kullanılarak alınmıştır. Ölçümler sırasında dalğasayısı aralığı $600-4000\text{ cm}^{-1}$ ve çözünürlük 4 cm^{-1} olarak ayarlanmıştır.

Karışımlarda kullanılan beş bitkisel yağın saf hallerini ve beşli karışım örneğini gösteren spektrumlar Şekil 5.31’de verilmiştir.



Şekil 5.32. Beşli karışımları oluşturan zeytin, ayçiçek, mısır kanola ve fıstık yağlarının saf hallerinin FTIR-ATR spektrumları.

Şekilden de görüleceği gibi bu beş bitkisel yağın spektrumları birbirleriyle çok benzer özellikler göstermektedir. Spektrumda yer alan piklerin hangi fonksiyonel gruplara ait olduğuna dair detaylı bilgi dörtlü karışımlarda verilmiştir. Sonuç olarak bu yağların karışımlarının spektrumları gözle ayırt edilemez. Bu durum da yağların ayırt edilmesi ve karışım içindeki miktarlarının tayininin yapılabilmesini zorlaştırmaktadır. Bu sebeple, çok değişkenli kalibrasyon yöntemlerinin kullanılması gereklidir.

Tablo 5.14 ve Tablo 5.15 de belirtildiği gibi örnek seti, kalibrasyon ve validasyon seti olmak üzere ikiye ayrılmış, her iki set için de örneklere ait absorbans değerlerinin bulunduğu matrisler oluşturulmuştur. GILS yöntemi ile her bir bileşen için ayrı ayrı kalibrasyon modelleri kurularak test edilmiştir. GILS genetik algoritmaya dayalı bir

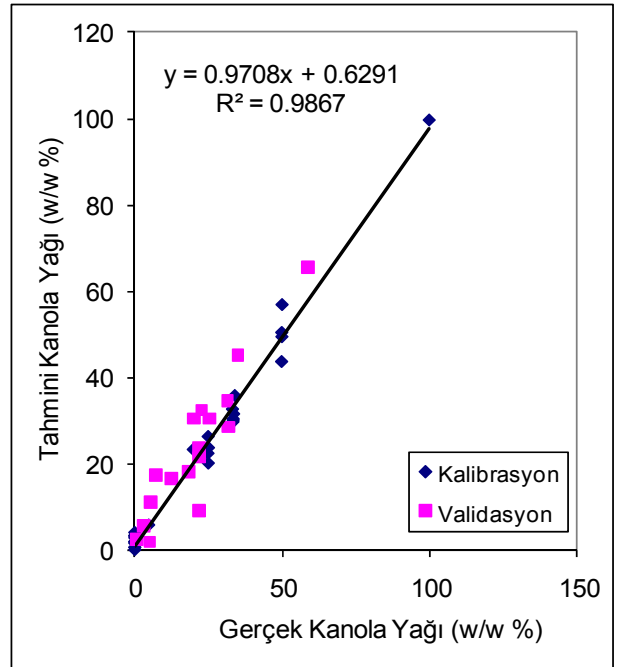
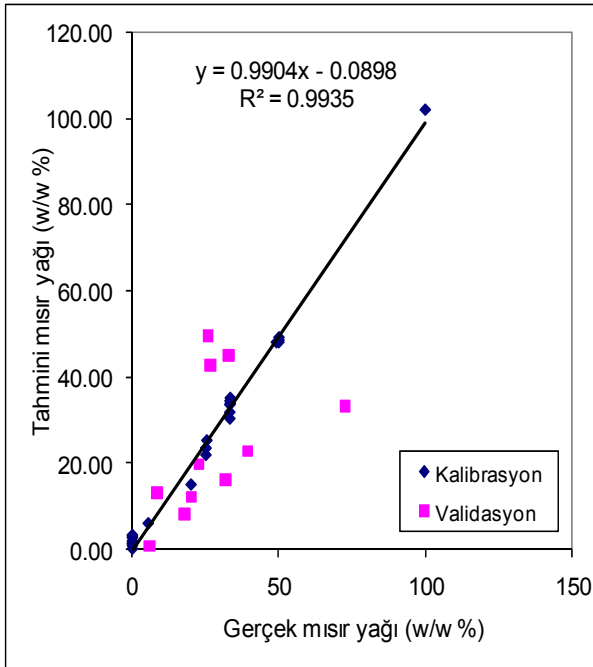
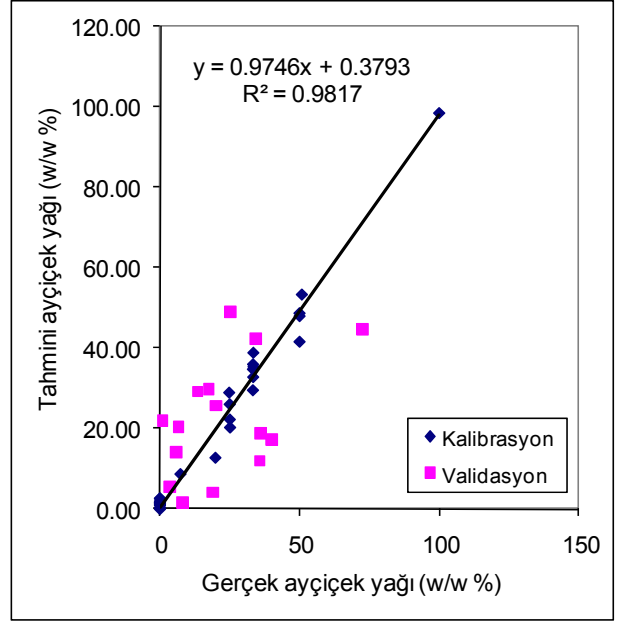
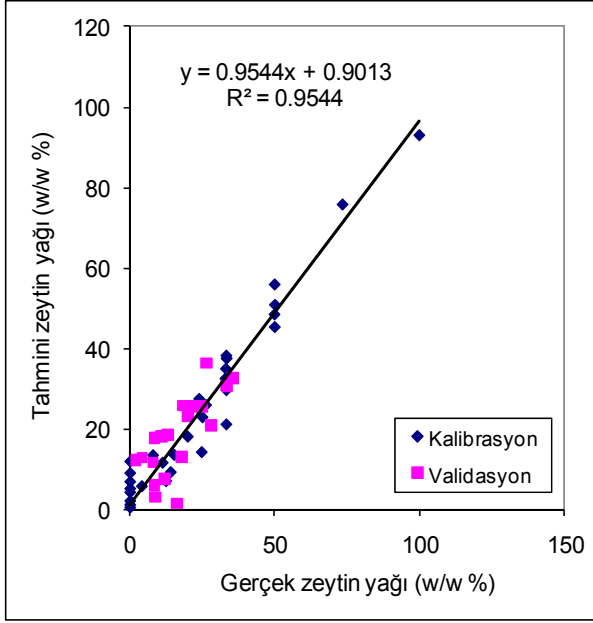
kalibrasyon yöntemi olduğundan, gen sayısı 30, iterasyon sayısı 50 olarak ayarlanmış ve program 50 kere tekrar edilmiştir.

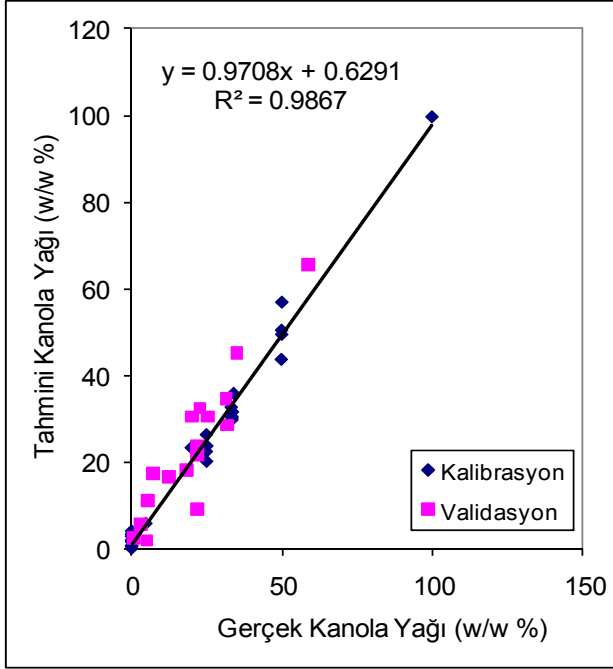
Kalibrasyon modelleri kurulurken kalibrasyon ve validasyon için ayrı ayrı olmak üzere standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları hesaplanmış ve bu değerler Tablo 5.20'de verilmiştir.

Tablo 5.20. Beşli karışımlara ait kalibrasyon ve validasyon setleri için her bir bileşene ait standart kalibrasyon (SEC) ve standart tahmin (SEP) hataları.

| FTIR-ATR | Zeytin yağı | Ayçiçek yağı | Mısır yağı | Kanola yağı | Fıstık Yağı |
|-------------|-------------|--------------|------------|-------------|-------------|
| SEC (w/w %) | 6,62 | 3,42 | 1,97 | 2,89 | 3,38 |
| SEP (w/w %) | 4,95 | 18,40 | 22,65 | 6,55 | 11,31 |

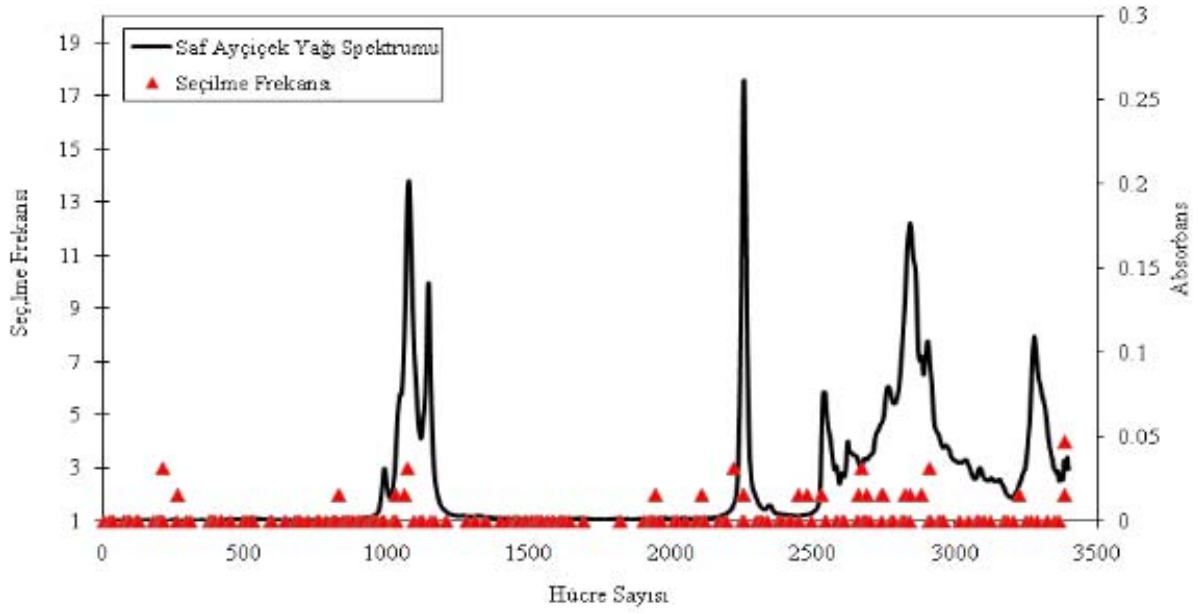
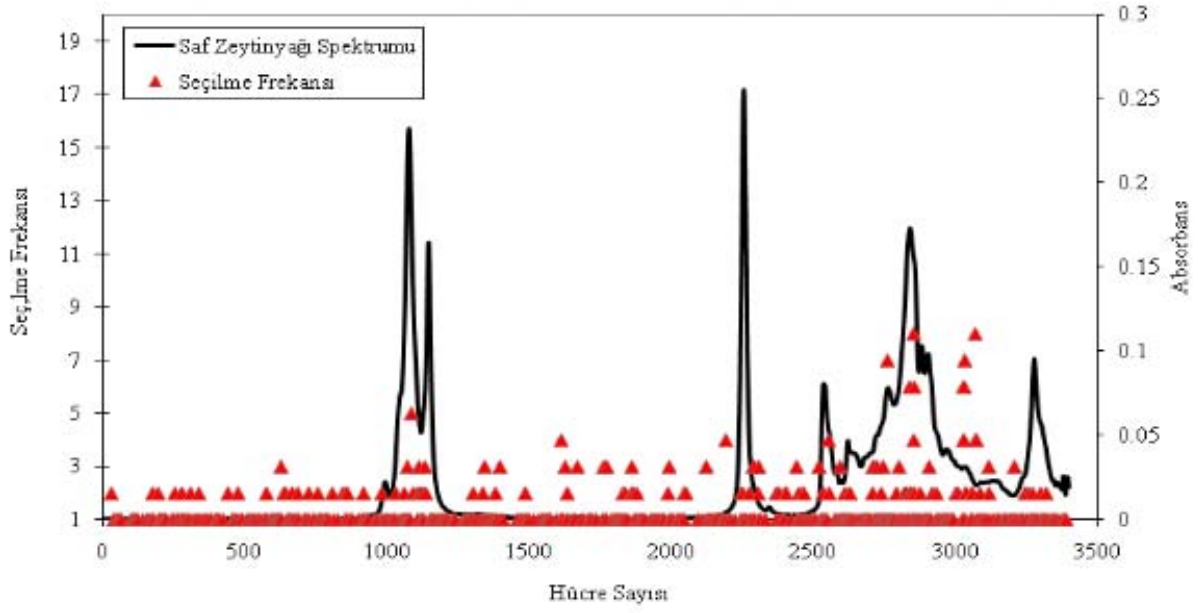
Tablodan da görüldüğü üzere zeytin, ayçiçek ve mısır yağları için SEC ve SEP değerleri, kütlece %1.97 ile %22.65 arasında değişirken, fıstık ve kanola yağı için bu değerler sırasıyla % 6,55 ve %11,31 olarak hesaplanmıştır. Bu durum karışımlarda yer alan zeytin yağının miktar tayininin karışımı oluşturan diğer yağlara kıyasla daha başarılı olduğunu göstermektedir. Şekil 9'de verilen grafikler de bu görüşü desteklemektedir. Regresyon katsayılarına bakıldığında, en başarılı modelin zeytin yağı için kurulduğu, fıstık, mısır, kanola ve ayçiçek yağları için ise başarılı sayılabilecek modellerin kurulduğunu ancak tahmin hatalarına bakıldığında miktar tayininde GILS'in yetersiz kaldığını söylemek mümkündür.

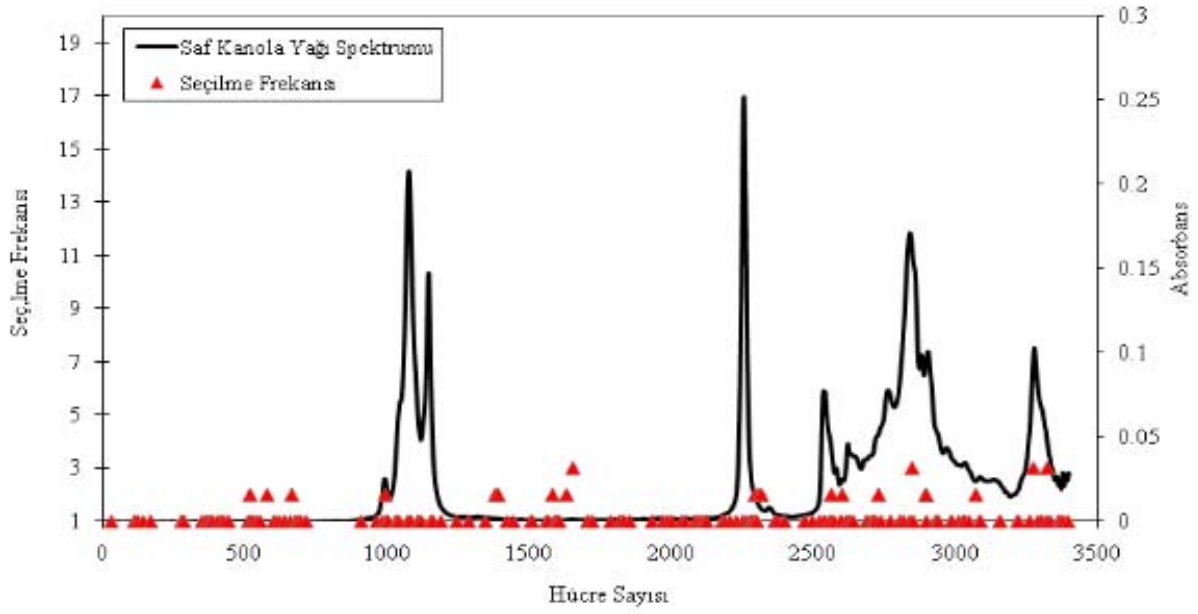
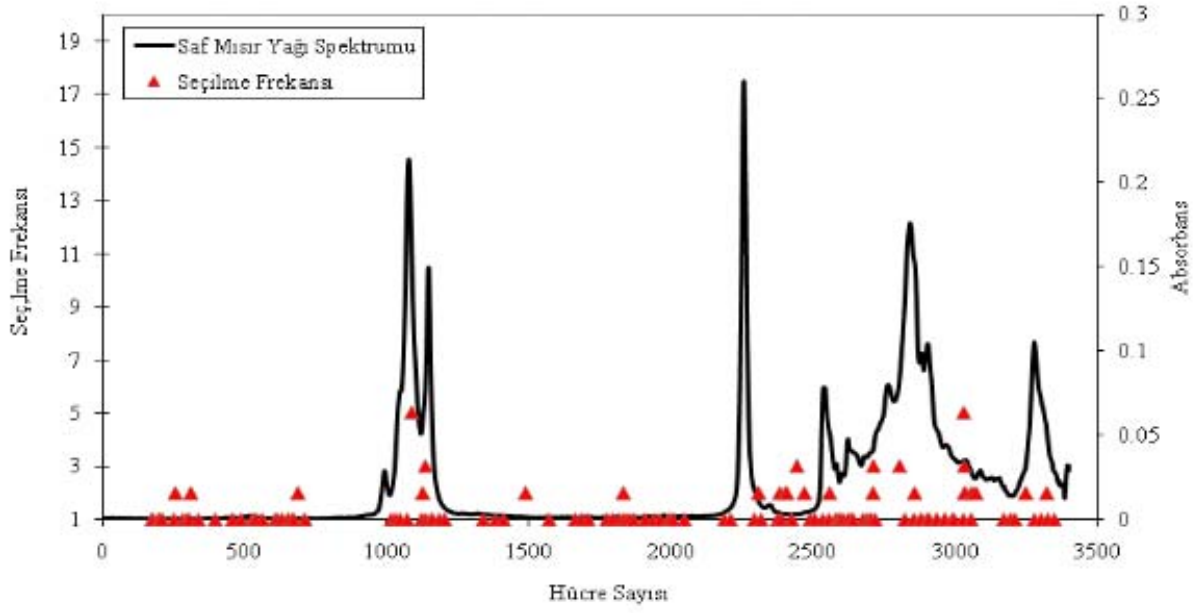


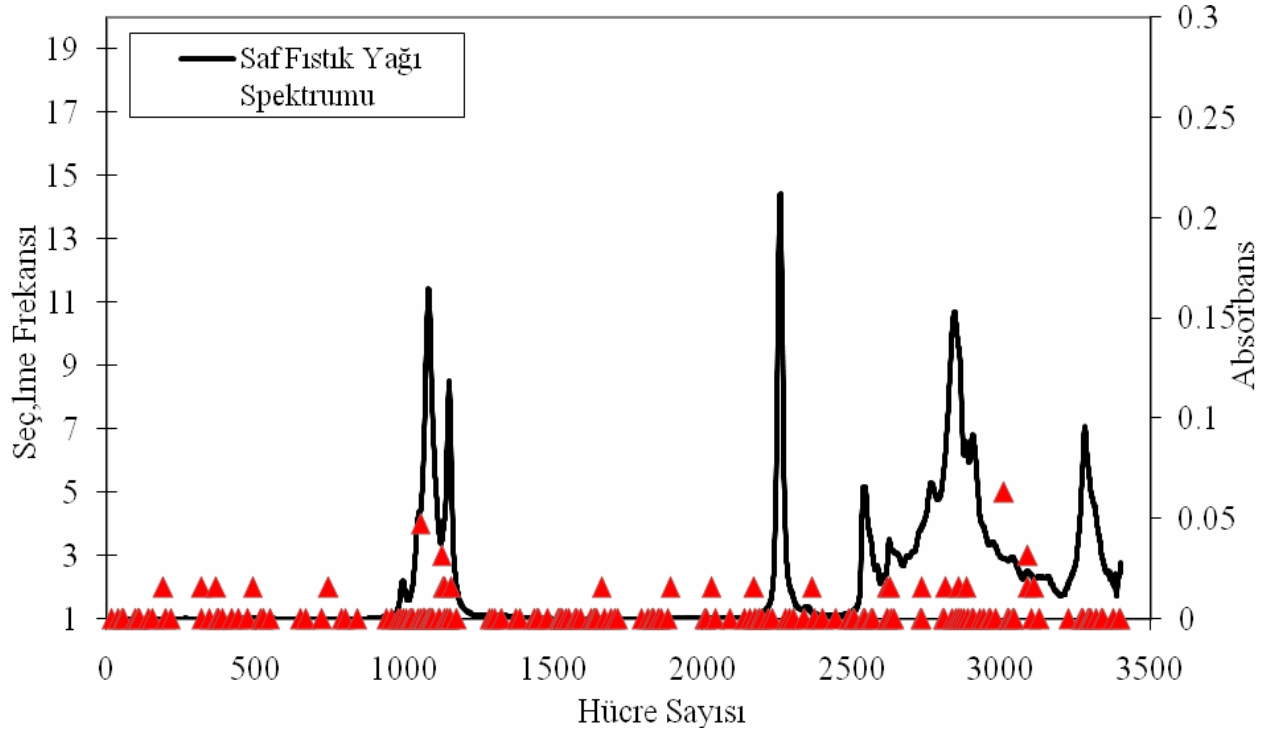


Şekil 5.33. FTIR-ATR spektroskopisi verileri kullanılarak gerçek değerlere karşı GILS tarafından tahmin edilen zeytin, ayçiçek, mısır, kanola ve fıstık yağı derişimleri.

GILS yöntemi dalgaboyu/dalgasayısı seçimine dayalı bir yöntem olduğundan, tüm spektral bölgeden seçilen dalgasayılarının dağılımını gözlemek mümkündür. Şekil 5.33 her bir bileşen için seçilen dalgasayılarının frekans dağılım grafiklerini göstermektedir. Genetik algoritmaya dayalı yöntemlerden GILS'in derişime bağlı bilginin en yoğun olduğu bölgeye odaklandığını göstermektedir.







Şekil 5.34. GILS ile her bir bileşen için elde edilen dalgaboyu dağılım grafikleri.

BÖLÜM 6

SONUÇ

Bu çalışmada, spektroskopik yöntemler ve çok değişkenli kalibrasyon metodu olan genetik algortimaya dayalı ters en küçük kareler yöntemi birleştirilerek zeytinyağı tağışının hızlı ve kolay tespiti amaçlanmıştır. Bu amaçtan yola çıkılarak zeytinyağı, ayçiçek, kanola, pamuk, fıstık, mısırözü, soya yağı gibi bitkisel yağlarla gelişigüzel dizayn yapılarak karıştırılmıştır ve bu karışımlar yakın infrared (NIR), Fourier dönüştürücülü infrared (FTIR) ve floresans spektrometreleri ile ölçülmüştür. Karışımlar hazırlanırken ikili, üçlü, dördü ve beşli bileşen olacak şekilde düşünölmüştür. Böylece zeytinyağı tağışının tespiti aşamasında karışım içerisindeki bileşen sayısı ile GILS sonuçları karşılaştırılmıştır. Buna göre NIR ve FTIR spektrumlarından elde edilen sonuçlarda bileşen sayısı arttıkça SEC ve SEP değerlerinin kötüye gittiği gözlemlenmiştir. Floresans spektrumlarından elde edilen sonuçlar daha iyidir. Öte yandan elde edilen sonuçlar zeytin yağı tağışının belirlenmesinde sadece tağış edilen zeytin yağı miktarının kantitatif modellenmesi ile yetinilmemiş aynı zamanda tağış amaçlı eklenen bitkisel yağlarda başarılı bir şekilde modellenebilmiştir. Böylelikle kurulan modeller olası tağış senaryolarında tağışe uğramış zeytin yağının kantitatif modellenmesini ortama eklenen bitkisel yağların türünden ve sayısından bağımsız olarak gerçekleştirebilmiştir. Ayrıca üç farklı spektroskopik metot denenerek her bir metodun ayrı ayrı başarısı değerlendirilmiş ve olası tağış durumlarında hangisinin daha etkin sonuçlar vereceği araştırılmıştır.

Genetik algoritmaya dayalı ters en küçük kareler yönteminin avantajı daha önceden de belirtildiği gibi istenilen bilgiyi içeren dalgaboylarındaki seçimliliğidir. Sonuçlarda, seçilen dalgaboylarının seçilme frekansı grafikleri çizilerek her bir bileşen için önemli olan dalgaboyları da gözlemlenmiştir. Böylece spektrumlardaki çakışan absorbans piklerinin varlığına yol açan kompleks karışımların analizi daha kolay ve hızlı tespit edilebilir hale gelmiştir.

REFERANSLAR

- Beebe K.R., Pell. R.J., and Seasholtz M.B. 1998. *Chemometrics, a practical guide*. Wiley-Interscience: John Wiley & Sons, Inc.
- Brereton R.G. 2000. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. *The Analyst* 125:2125-2154.
- Brereton R.G. 2003. *Chemometrics, data analysis for the laboratory and chemical plant*. Wiley: John Wiley & Sons Ltd.
- Burns, D.A., Ciurczak E.W., 2001. *Handbook of Near Infrared Analysis 3rd edition* Practical Spectroscopy Series Volume 35, Marcel Dekker Inc., USA.
- Cong, P. and Li, T. 1994. Numeric genetic algorithm part I. theory, algorithm and simulated experiments. *Analytica Chimica Acta* 293:191-203.
- Fontain, E. 1992. The problem of atom-to-atom mapping. An application of genetic algorithms. *Analytica Chimica Acta* 265:227-232.
- Gilbert R. J., Goodacre, R., Woward, A. N., and Kell, D.B. 1997. Genetic programming: a novel method for the quantitative analysis of pyrolysis mass spectral data. *Analytical Chemistry* 69:4381-4389.
- Haaland, D.M. and Thomas, E.V. 1988. Partial least-squares methods for spectral analyses. 1. relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. *Analytical Chemistry* 60:1193-1202.
- Hibbert, D.B. 1993. Genetic algorithms in chemistry. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 19:277-293.
- <http://www.oliveoilife.com/en/market/html/76.html> (accessed May 22, 2009)
- Ingle, J.D., Crouch, S.R., 1988. *Spectrochemical Analysis*. Prentice-Hall Inc. New Jersey.
- Karaman, İ. 2008. Prediction of extractives and lignin contents of Anatolian black pine (*Pinus nigra Arnold. var pallasiana*) and Turkish pine (*Pinus brutia Ten.*) trees using infrared spectroscopy and multivariate calibration. *Izmir Institute of Technology thesis of M.Sc.*
- Kyriakidis, N.B. and Skarkalis, P. 2000. Fluorescence spectra measurement of olive oil and other vegetable oils, *Journal of AOAC International* 83 (6): 1435–1439.
- Lakowicz, J.R., 1999. *Principles of Fluorescence Spectroscopy 2nd Edition*. Kluwer Academic Plenu Publishers.

- Lucasius, C.B. and Kateman, G. 1991. Genetic algorithms for large-scale optimization in chemometrics: an application. *Trends in Analytical Chemistry* 10:254-261.
- Lucasius, C.B., Beckers, M.L.M., and Kateman, G. 1994. Genetic algorithms in wavelength selection: a comparative study. *Analytica Chimica Acta* 286:135-153.
- Martens, H., and Naes, T. 1989. *Multivariate calibration*. Wiley: John Wiley & Sons Ltd.
- Ozdemir, D., Mosley, R.M., and Williams, R.R. 1998a. Hybrid calibration models an alternative to calibration transfer. *Applied Spectroscopy* 52:599-603(5).
- Ozdemir, D., Mosley, R.M., and Williams, R.R. 1998b. Effect of wavelength drift on single- and multi-instrument calibration using genetic regression. *Applied Spectroscopy* 52: 1203-1209(7).
- Ozdemir, D. and Williams, R.R. 1999. Multi-instrument calibration with genetic regression in UV-visible spectroscopy. *Applied Spectroscopy* 53:210-217(8).
- Öztürk, B. 2003. Monitoring the esterification reactions of carboxylic acids with alcohols using near infrared spectroscopy and multivariate calibration methods. *Izmir Institute of Technology thesis of M.Sc.*
- Paradkar, R.P. and Williams, R.R. 1997. Correcting fluctuating baselines and spectral overlap with genetic regression. *Applied Spectroscopy* 51:92-100(9).
- Rinnan, A. 2004. Application of PARAFAC on spectral data. *The Royal Veterinary and Agricultural University of PhD.*
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. 1998. *Principles of instrumental analysis – fifth edition*. Philadelphia: Saunders College Publishing, Harcourt Brace College Publishers.
- Smith, B.C. 1996. *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*. New York: CRC Press.
- Stuart, B., 2004, *Infrared Spectroscopy. Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, West Sussex, England.
- Valuer, B., 2001. *Molecular Fluorescence. Principles and Applications.*, Wiley-VCH, Weinheim.
- Wang, Y., Veltkamp, D. J., and Kowalski, B. R. 1991. Multivariate instrument standardization. *Analytical Chemistry* 63:2750-2756.
- Wienke, D., Lucasius, C. B., Ehrlich, M., and Kateman, G. 1993. Multicriteria target vector optimization of analytical procedures using a genetic algorithm: part II. polyoptimization of the photometric calibration graph of dry glucose sensors for quantitative clinical analysis. *Analytica Chimica Acta* 271:253-268.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

| |
|--|
| Proje No: 107T037 |
| Proje Başlığı: Yakın Enfraruj Spektrometresi ile Zeytinyağı Tağışının Kolay ve Hızlı Tespiti İçin Genetik Algoritmalara Dayalı Kemometrik Metodlar Geliştirilmesi |
| Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar: Durmuş Özdemir, Doç. Dr. (yürütücü) |
| Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Gülbahçe köyü, Urla, İZMİR/TÜRKİYE 35430 |
| Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: |
| Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01/07/2007-31/12/2009 |
| Öz Bu proje kapsamında zeytinyağlarının safsızlığını araştırmak üzere çeşitli bitkisel yağlarla karışımları hazırlanıp, yakın infrared (NIR), Fourier Transform Infrared (FTIR) ve Floresans spektrometreleri ile analizleri yapılmıştır. Analizlerden elde edilen veriler kullanılarak, çok değişkenli kalibrasyon metodu olan Genetik Ters En Küçük Kareler (GILS) yöntemi ile kalibrasyonları kurulmuş ve modeller test edilmiştir. GILS programı ile kurulan modellerin oldukça başarılı olduğu ve programın, kullanılan spektrumlardan gerekli bilgiyi başarılı bir şekilde süzdüğü sonucuna varılmıştır. |
| Anahtar Kelimeler: zeytinyağı tağışı, yakın infrared, floresans, fourier transform infrared, çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri, genetik algoritma, genetik ters en küçük kareler. |
| Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu mu? Evet <input type="checkbox"/> Gerekli Değil <input checked="" type="checkbox"/> Fikri Ürün Bildirim Formu'nun tesliminden sonra 3 ay içerisinde patent başvurusu yapılmalıdır. |
| |

Projeden Yapılan Yayınlar:

Özdemir, D., Öztürk, B. *Near infrared spectroscopic determination of olive oil adulteration with sunflower and corn oil*, Journal of Food and Drug Analysis, 15, 40-47, 2007

Betül Öztürk , Aysun Ankan and Durmus Özdemir, Olive Oil Adulteration with Sunflower and Corn Oil Using Molecular Fluorescence Spectroscopy. In: Victor R. Preedy and Ronald Ross Watson, editors, Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention. Oxford: Academic Press, 2010, pp. 451-461.

Betül Öztürk, Ayşegül Yalçın, Durmuş Özdemir, Determination of Olive Oil Adulteration with Vegetable Oils by Near Infrared Spectroscopy Coupled with Multivariate Calibration, Journal Of Near Infrared Spectroscopy (küçük düzeltmeler yapıp kabul edileceği belirtildi)