

# Značaj infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom (FTIR) u mikrobiologiji i analizi hrane

---

**Volar, Magdalena**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:753572>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-12**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija**

**Magdalena Volar**  
0058218411

**ZNAČAJ INFRACRVENE SPEKTROSKOPIJE S  
FOURIEROVOM TRANSFORMACIJOM (FTIR) U  
MIKROBIOLOGIJI I ANALIZI HRANE**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Instrumentalna analiza

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Veronika Kovač

**Zagreb, 2023.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni prijediplomski sveučilišni studij Biotehnologija

Zavod za kemiju i biokemiju  
Laboratorij za organsku kemiju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Biotehnologija

**Značaj infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom (FTIR) u mikrobiologiji i  
analizi hrane**

**Magdalena Volar, 0058218411**

**Sažetak:** Ovaj rad daje pregled dosad objavljenih znanstvenih radova vezanih uz primjenu infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom (FTIR) u mikrobiologiji i analizi hrane. Također, u radu je dan kratak pregled općeg principa FTIR spektroskopije te su istaknute njene prednosti u usporedbi s klasičnim analitičkim metodama. Pregledom su obuhvaćeni dosad objavljeni znanstveni radovi koji su se bavili analizom mliječnih proizvoda, meda, vina, kave, toksina u hrani te krivotvorenja hrane. Iako je FTIR spektroskopija relativno nova metoda u analizi hrane, pokazala se korisnom i pouzdanom metodom za analizu kompleksnih uzoraka, pa će u budućnosti zasigurno imati širu primjenu.

**Ključne riječi:** Infracrvena spektroskopija, FTIR spektroskopija, analiza hrane

**Rad sadrži:** 26 stranica, 9 slika, 3 tablice, 43 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Veronika Kovač

**Datum obrane:** 14. srpnja 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
University undergraduate study Biotechnology

Department of Chemistry and Biochemistry  
Laboratory for Organic Chemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences  
Scientific field: Biotechnology

**The importance of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) in microbiology and food analysis**

**Magdalena Volar, 0058218411**

**Abstract:** This thesis gives a review of the published scientific papers related to the application of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) in microbiology and food analysis. It also provided a brief insight into the general principles of FTIR spectroscopy and its advantages over classical analytical methods. The review covers published scientific papers related to the analysis of dairy products, honey, wine, coffee, toxic and harmful substances in food, as well as rapid authentication and detection of food adulteration. Although FTIR spectroscopy is a relatively new method in food analysis, it has proven to be a useful and reliable analytical method for the investigation of complex samples and will certainly find much wider application in the foreseeable future.

**Keywords:** Infrared spectroscopy, FTIR spectroscopy, food analysis

**Thesis contains:** 26 pages, 9 figures, 3 tables, 43 references

**Original in:** Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** Veronika Kovač, PhD, Associate Professor

**Thesis defended:** July 14, 2023

## Sadržaj

1.UVOD .....	1
2.TEORIJSKI DIO.....	2
2.1..INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA S FOURIEROVOM TRANSFORMACIJOM ....	2
2.1.1. SPEKTROSKOPIJA.....	2
2.1.2. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA .....	3
2.1.3. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA S FOURIEROVOM TRANSFORMACIJOM (FTIR).....	5
2.2. PRIMJENA FTIR SPEKTROSKOPIJE U MIKROBIOLOGIJI I ANALIZI HRANE.....	7
2.2.1. MLIJEČNI PROIZVODI.....	7
2.2.2. MED .....	8
2.2.3. VINO .....	11
2.2.4. KAVA.....	13
2.2.5. TOKSINI U HRANI.....	14
2.2.6. KRIVOTVORENJE HRANE .....	17
3.ZAKLJUČCI.....	21
4.POPIS LITERATURE .....	22

## 1. UVOD

Mikrobiologija hrane odnosi se na proučavanje mikroorganizama prisutnih u različitim prehrambenim proizvodima, njihov utjecaj na sigurnost hrane i njihove interakcije, kvalitetu i rok trajanja. Mikroorganizmi mogu biti štetni i korisni, a njihova prisutnost u hrani može značajno utjecati na ljudsko zdravlje i ukupnu kvalitetu hrane. Razumijevanje mikrobiologije hrane ključno je za prehrambenu industriju kako bi se primijenili pravilni postupci rukovanja, skladištenja i obrade hrane, te se time smanjio rizik od bolesti koje se prenose hranom i održala visoka kvaliteta prehrambenih proizvoda.

FTIR spektroskopija vrijedna je analitička tehnika koja se koristi u mikrobiologiji hrane za identifikaciju i karakterizaciju mikroorganizama. FTIR mjeri apsorpciju infracrvenog zračenja od strane molekula, dajući informacije o funkcionalnim skupinama i kemijskom sastavu uzorka. FTIR može brzo i točno identificirati različite vrste mikroba, što ga čini vrijednim alatom u kliničkoj mikrobiologiji i mikrobiologiji okoliša. Također se može koristiti za proučavanje metaboličke aktivnosti mikroorganizama i za praćenje učinaka antimikrobnih sredstava.

Analiza hrane je postupak ispitivanja uzoraka hrane kako bi se utvrdio njihov sastav, kvaliteta, sigurnost i hranjiva vrijednost. Uključuje različite tehnike i metodologije za procjenu različitih aspekata hrane, kao što su kemijska, fizikalna, mikrobiološka i senzorska svojstva. Analiza hrane igra ključnu ulogu u osiguravanju sigurnosti hrane, usklađenosti s propisima, razvoju proizvoda i kontroli kvalitete u prehrambenoj industriji.

U analizi hrane, FTIR spektroskopija se koristi za identifikaciju i kvantificiranje različitih komponenti uzoraka hrane, kao što su ugljikohidrati, proteini i masti. Te se informacije mogu koristiti za procjenu nutritivne vrijednosti prehrambenih proizvoda, za praćenje kvalitete i autentičnosti prehrambenih proizvoda te za otkrivanje prisutnosti kontaminanata ili nečistoća u uzorcima hrane.

Cilj ovog rada je napraviti pregled do sada objavljenih radova na području primjene infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom (FTIR) u mikrobiologiji i analizi hrane te predstaviti infracrvenu spektroskopiju kao korisnu i djelotvornu metodu u tom području.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA S FOURIEROVOM TRANSFORMACIJOM**

#### **2.1.1. Spektroskopija**

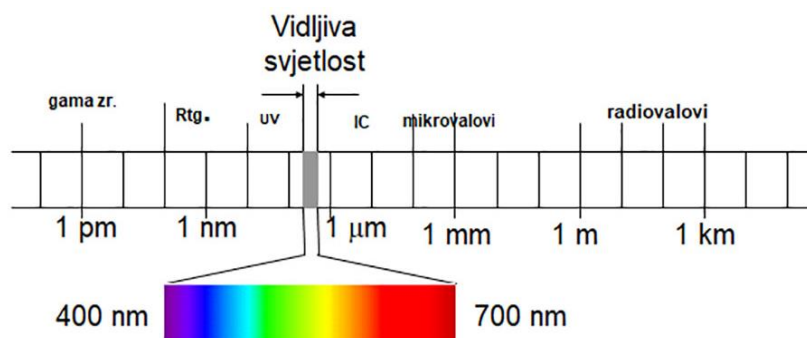
Spektroskopija je znanstvena disciplina koja proučava interakcije između tvari i elektromagnetskog zračenja kao funkcije valne duljine ili frekvencije. Uključuje analizu apsorpcije, emisije ili raspršenja elektromagnetskog zračenja od strane atoma, molekula ili drugih fizičkih sustava.

Osnovno načelo spektroskopije temelji se na činjenici da različite tvari međusobno djeluju sa svjetlom na jedinstvene načine. Kada je svjetlost u interakciji s uzorkom ili prolazi kroz njega, uzorak može apsorbirati određene valne duljine svjetlosti, dok se druge mogu prenijeti ili raspršiti. Ispitivanjem uzorka apsorpcije ili emisije svjetlosti znanstvenici mogu prikupiti informacije o sastavu, strukturi i svojstvima uzorka koji se proučava.

Spektroskopija se široko koristi u raznim znanstvenim disciplinama, uključujući fiziku, kemiju, biologiju, astronomiju i znanost o materijalima. Pruža dragocjene uvide u prirodu materije na atomskoj i molekularnoj razini. Ovisno o specifičnim ciljevima analize i svojstvima uzorka koriste se različite spektroskopske tehnike. Spektroskopija je vrlo razvijena disciplina i dijeli se na brojne poddiscipline prema:

- vrsti zračenja tj. frekvenciji (mikrovalna, radio, infracrvena, terahercna, ultraljubičasta, rendgenska, vidljiva, gama)
- nivou interakcije (atomska, molekularna, nuklearna, agregacijska)
- pronalazaču (Ramanova, Mössbauerova)
- tehnicima (Fourierova, laserska, rezonantna, koherentna, apsorpcijska, emisijska) (Popović, 1999)

Elektromagnetski spektar odnosi se na raspon svih mogućih frekvencija elektromagnetskog zračenja, što uključuje različite oblike energije kao što su radio valovi, mikrovalovi, infracrveno zračenje, vidljiva svjetlost, ultraljubičasto zračenje, X-zrake i gama zrake. Elektromagnetsko zračenje karakterizira njegova valna duljina ili frekvencija, a spektar se obično dijeli na različite regije na temelju tih svojstava.



Slika 1. Elektromagnetski spektar (izvor: <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/1d895338-6c52-4d7e-a2f2-5df65634fbaf/razlaganje-svjetlosti.html>)

U elektromagnetskom spektru, prikazanom na slici 1, vidljivo je da infracrvena svjetlost obuhvaća samo jedan mali dio. Kada govorimo o svjetlosti najčešće mislimo na vidljivu svjetlost. Njezina je valna duljina u rasponu od 400 nm (ljubičasta) do 700 nm (crvena). Povećanjem frekvencije iznad ljubičaste svjetlosti ulazimo u područje ultraljubičastog (UV) zračenja na koje se nastavljaju rendgenske (x-zrake) i gama zrake. Smanjenjem frekvencije ispod frekvencije crvene svjetlosti ulazimo u područje infracrvenog zračenja na koje se nastavljaju mikrovalovi i radiovalovi. Dakle, valovi najveće valne duljine su radiovalovi, a najmanje gama zrake.

### 2.1.2. Infracrvena spektroskopija

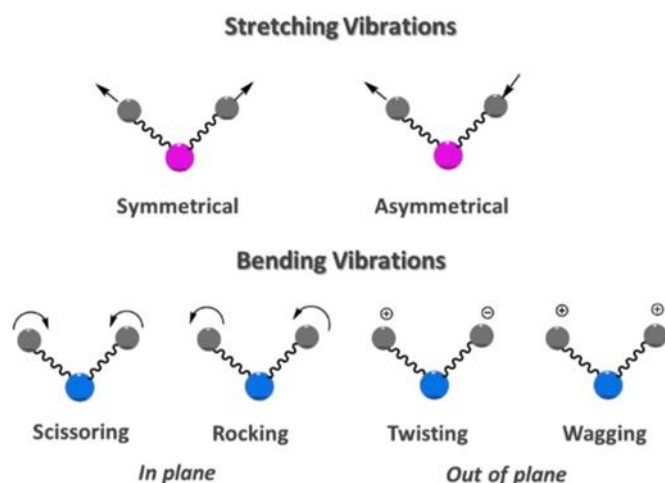
Infracrvena (IR) spektroskopija je analitička metoda koja koristi međumolekulske vibracije za identifikaciju molekularne strukture. Većina molekula apsorbira svjetlost u infracrvenom području elektromagnetskog spektra, pretvarajući je u molekularne vibracije. Ova apsorpcija specifično odgovara vezama prisutnim u molekuli. Široko se koristi u raznim znanstvenim područjima, uključujući kemiju, fiziku, biologiju i znanost o materijalima.

Veliko značenje infracrvene spektroskopije temelji se na visokoj informacijskoj vrijednosti spektra i na raznovrsnim mogućnostima mjerenja uzorka i pripravljanja spojeva (Günzler i Gremlich, 2006). Primjenjuje se najčešće za analizu organskih spojeva, iako se može primijeniti i za analizu anorganskih spojeva koji sadrže višeatomne katione ili anione.



Infracrvena (IR) spektroskopija temelji se na apsorpciji ili refleksiji elektromagnetskog zračenja koja ima raspon valnih duljina ( $\lambda$ ) između 0,78 i 1000  $\mu\text{m}$ . Tipične jedinice frekvencije koje se koriste u IR spektrima su valni brojevi ( $\text{cm}^{-1}$ ) koji su povezani s valnom duljinom (cm) na recipročan način. Infracrveno područje elektromagnetskog spektra općenito je podijeljeno u tri manje zone, bliski IR (12800–4000  $\text{cm}^{-1}$ ; 0,78–2,5  $\mu\text{m}$ ), srednji IR (4000–200  $\text{cm}^{-1}$ ; 2,5–50  $\mu\text{m}$ ) i daleki IR (200–10  $\text{cm}^{-1}$ ; 50–1000  $\mu\text{m}$ ) (Skoog i sur., 2017).

Ove tehnike imaju mnoge prednosti jer omogućavaju brzo mjerenje velikog broja veličina, a da se pri tome uzorak ne uništi. Blisko infracrveno zračenje utječe na vibracije istezanja kovalentnih veza C–H, N–H i O–H u molekuli. Od tehnika bliske infracrvene spektroskopije koriste se tehnika bliske infracrvene refleksije (NIR) i bliske infracrvene emisije (NIT) (Karoui i sur., 2003).



Slika 2. Vibracijski način velikog rastezanja i savijanja (Silverstein i sur., 2015)

U višeatomskim molekulama, apsorpcija srednjeg IR zračenja uzrokuje dva osnovna načina vibracije, vibracije rastezanja i savijanja (slika 1). Srednje područje infracrvenog zračenja (MIR) je ono u kojem se uglavnom nalaze vibracijsko-rotacijske promjene većine molekula, pa je to područje od posebne važnosti. Apsorpcije u infracrvenom području općenito odgovaraju promjenama u vibracijskim i rotacijskim razinama u molekuli, a do nje dolazi kada frekvencija promjenjivog električnog polja postigne moguću promjenu frekvencije vibracije ili rotacije molekule (Popović, 1999).

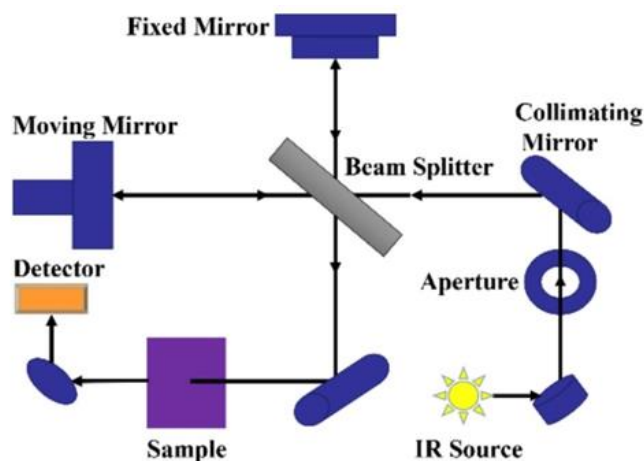
### 2.1.3. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR)

FTIR spektroskopija je snažna analitička tehnika koja se koristi za identifikaciju i karakterizaciju kemijskih spojeva na temelju njihove interakcije s infracrvenim zračenjem. Mjeri apsorpciju, transmisiju i refleksiju infracrvenog svjetla na uzorku.

Princip FTIR spektroskopije temelji se na činjenici da molekule imaju specifične vibracijske modove, a kada apsorbiraju infracrveno zračenje, ti se vibracijski modovi pobuđuju. Svaka molekula ima jedinstveni vibracijski otisak, koji odgovara određenim razinama energije povezanim s njezinim kemijskim vezama.

Kada infracrveno svjetlo stupa u interakciju s uzorkom, može se apsorbirati na određenim frekvencijama koje odgovaraju tim razinama energije, što rezultira karakterističnim apsorpcijskim vrpčama u infracrvenom spektru.

Najšira primjena infracrvene (FTIR) spektroskopije s Fourierovom transformacijom u mikrobiologiji hrane je identifikacija i karakterizacija bakterija, kvasca, gljivica i algi. Za identifikaciju, infracrveni (IR) spektar nepoznate vrste se uspoređuje sa svim spektrima prisutnima u prethodno izgrađenoj bazi podataka te je usklađen s referentnim sojem čiji je spektar najsličniji.



Slika 3. Shematski dijagram optičkog sustava srednjeg infracrvenog spektrometra

(Beć i sur., 2020)

Infracrveni spektrometar s Fourierovom transformacijom glavni je instrument koji se koristi za analizu infracrvene spektroskopije. Slika 3 je shematski dijagram optičkog sustava infracrvenog spektrometra s Fourierovom transformacijom, koji se sastoji od fiksnog zrcala, pomičnog zrcala, razdjelnika snopa, izvora svjetlosti, detektora itd. Svjetlo iz izvora svjetlosti prolazi kroz sabirnu leću i dolazi do razdjelnika gdje se dijeli na dva snopa svjetlosti. Dvije zrake svjetlosti se reflektiraju sa nepomičnog, odnosno pomičnog zrcala te se vraćaju na razdjelnik snopa. Pomično zrcalo se kreće konstantnom brzinom, pa dvije zrake svjetlosti kroz razdjelnik zraka tvore razliku u rasponu svjetlosti i proizvode smetnje. Interferometrijska svjetlost prolazi kroz uzorke, nakon što se snopovi zraka sastanu u razdjelniku, kroz koje interferencijska svjetlost prolazi te dopire do detektora, a potom obrađuje signal Fourierovom transformacijom da bi se konačno dobio infracrveni apsorpcijski spektrogram propusnosti ili apsorpcije s valnim brojem ili valnom duljinom.

Prednosti infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom su:

- a) Brzina – zato jer se sve frekvencije mjere istovremeno, te se sva mjerenja ovom metodom odvijaju u sekundama.
- b) Osjetljivost – značajno se poboljšava sa uporabom FT-IR-a. Detektori koji se koriste su puno osjetljiviji, optička propusnost je mnogo veća što dosta smanjuje razinu buke.
- c) Mehanička jednostavnost – pomično zrcalo u interferometru je jedini pokretljivi dio u instrumentu, pa je mogućnost kvara jako mala.
- d) Kalibracija – instrumenti se automatski kalibriraju i ne trebaju više nikad biti kalibrirani od strane korisnika.

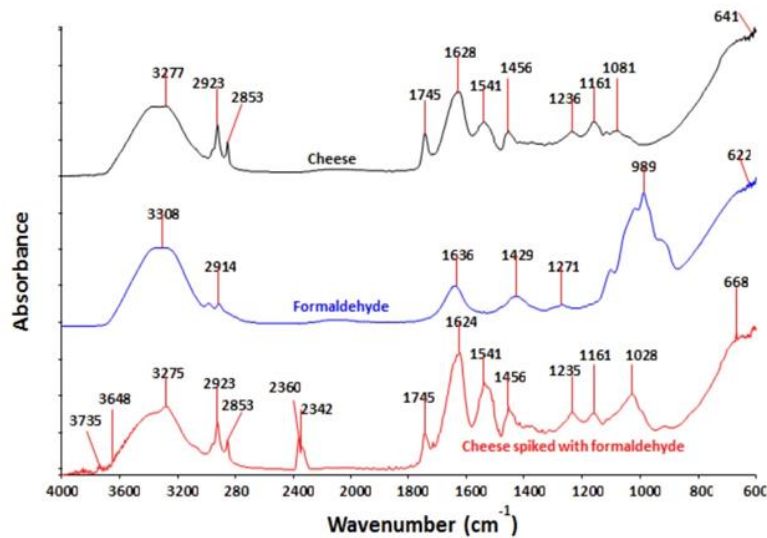
Zbog svih ovih prednosti, mjerenja s FT-IR-om su jako precizna i korisnički jednostavno izvodljiva. Metoda je pogodna za identifikaciju bilo kojeg uzorka. Velika osjetljivost omogućuje identifikaciju čak i najmanjih čestica i nečistoća.

## **2.2. PRIMJENA FTIR SPEKTROSKOPIJE U MIKROBIOLOGIJI I ANALIZI HRANE**

### **2.2.1. Mliječni proizvodi**

U posljednjem desetljeću primjena infracrvene spektroskopije u autentifikaciji sira se povećala. Neke novije primjene uključuju određivanje zemljopisnog podrijetla sireva, praćenje promjena tijekom zrenja, rok trajanja i uvjete skladištenja, između ostalog. Leite i sur. (2019) su istraživali potencijalnu primjenu FTIR-ATR zajedno s multivarijantnim pristupima u svrhu karakterizacije i otkrivanja krivotvorenja sireva s maslacem sa sojinim uljem. Sir s maslacem je polumeki sir čija se proizvodnja sastoji od zgrušavanja cijelog ili obranog mlijeka, zatim desorpcije sirutke dobivene kiseljenjem, pranja tijesta vodom i/ili mlijekom, soljenja, topljenja tijesta na maslacu i na kraju oblikovanja sira. U ovoj studiji, svi uzorci sira s maslacem pripremljeni u duplikatu su imali isti sadržaj masti, ali različite postotke krivotvorina (u rasponu od 0 do 100 % supstitucije) i izvedeni su zamjenom ulja maslaca sojinim uljem. Uzorak s dodatkom 0 % masti sastavljen je samo od sirne mase. Autori su zaključili da se može uočiti jasna diferencijacija u spektru sireva, posebno u području valnih duljina od 3600 do 3050  $\text{cm}^{-1}$  i 1000 do 400  $\text{cm}^{-1}$  kada se uspoređuju uzorci bez masnoće s uzorcima kojima su dodani ulje maslaca i sojino ulje. Štoviše, primijećena je vrpca na 3007  $\text{cm}^{-1}$  karakteristična za nezasićene masne kiseline, što ukazuje na prisutnost sojinog ulja u uzorcima, te je dolazilo do pomaka vrpce na 3009  $\text{cm}^{-1}$  kada je bilo prisutno 20 % do 100 % krivotvorenja. Drugi pokazatelj prijevare mogao bi biti izostanak apsorpcijske vrpce koja odgovara vodi na približno 3265  $\text{cm}^{-1}$  u patvorenim sirevima.

Alkhalif i Mirghani (2017), napisali su studiju koja potvrđuje da MIR spektroskopija povezana s multivarijantnim analizama ima veliki potencijal za detekciju formaldehida u siru. Formaldehid se dodaje hrani zbog svojih antiseptičkih i konzervirajućih svojstva, poboljšavajući izgled proizvoda, održavajući ga vlažnim i bez mirisa (Xu i sur., 2011). Međutim, formaldehid ima toksične učinke na ljude, uključujući iritaciju očiju i dišnih puteva, glavobolju, mučninu, pospanost i alergijske kožne reakcije (Wang i sur., 2012). U ovoj studiji, dva seta, svaki od dvadeset i jednog uzorka, pripremljena su korištenjem iste vrste mekog bijelog sira i formaldehida dodanog u svježi pripremljen sir u rasponu od 0 do 100 mg na 100 mg sira. (Alkhalif i Mirghani, 2017).

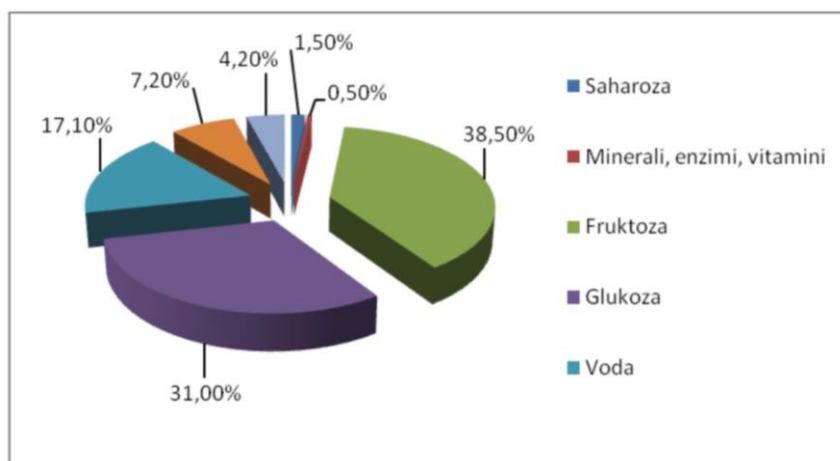


Slika 4. FTIR spektri sira, formaldehida i sira pomiješana s formaldehidom (Mirghani, 2010)

Slika 4 prikazuje spektre sira, formaldehida te sira obogaćenog formaldehidom koji omogućuje odabir regije za otkrivanje prisutnosti formaldehida, ako se dodaje toj vrsti sira. Spektralni odgovor na promjene sadržaja formaldehida je istražen ispitivanjem korelacijskih i varijacijskih spektara. Spektar varijacije razlikuje aktivna i neaktivna spektralna područja. Dakle, korelacijski spektar se može koristiti za odabir vrha ili regije za kalibraciju (Mirghani, 2010). Korelacijski spektar se izračunava množenjem razlike između svakog standardnog spektra i srednjeg spektra, na svakoj valnoj duljini, po razlici između odgovarajuće koncentracije svojstva i koncentracije srednjeg svojstva te zbrajanje svih standarda.

### 2.2.2. Med

Med je prirodni proizvod proizveden od pčele vrste *Apis mellifera* iz nektara ili medljike. Med je izgrađen od složene smjese sa više od 70 različitih komponenata. U najvećoj koncentraciji su u medu ugljikohidrati, i to uglavnom fruktoza i glukoza, te voda koji zajedno čine više od 99 % meda. Ostatak čine proteini (uključujući enzime), mineralne tvari, vitamini, organske kiseline, fenolni spojevi, tvari arome (hlapljivi spojevi) i razni derivati klorofila. Iako je udio tih tvari u medu vrlo mali (<1 %) oni doprinose senzorskim i nutritivnim svojstvima meda. Tijekom skladištenja u velikoj većini medova se odvija spontana kristalizacija, proces koji određuje njihovu konzistentnost (Oryan i sur., 2016).



Slika 5. Prosječni kemijski sastav meda (izvor: [www.honey-well.com/composit.html](http://www.honey-well.com/composit.html))

U studiji je analizirano pet vrsti meda, uključujući heljdin, multiflorni, suncokretov, lipov med i medljiku s listom medljike. Prije analize, uzorci su pohranjeni na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Medovi su se prirodni kristalizirali da bi se na površini stvorio tanki tekući sloj.

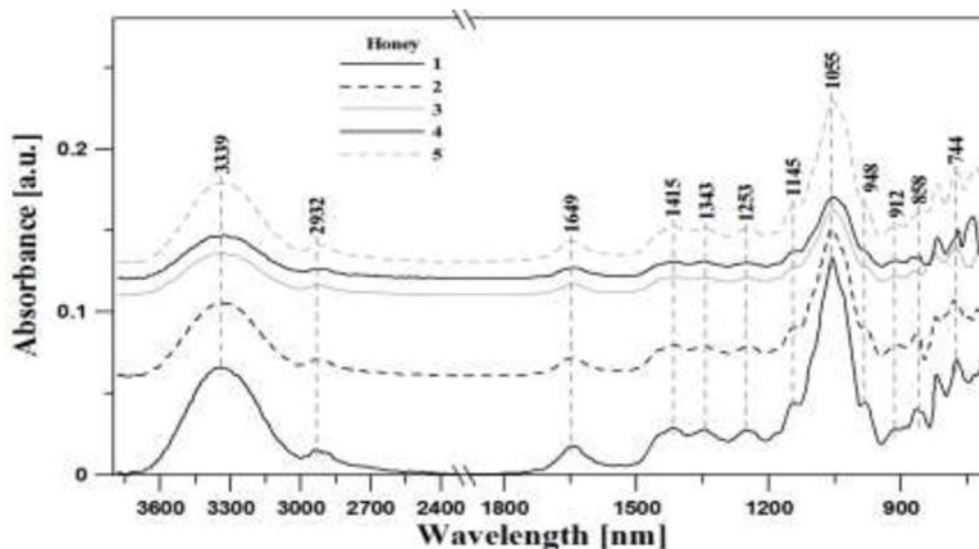
Fizička i kemijska svojstva meda utvrđena su u miješanim uzorcima i prikazana u tablici 1.

Tablica 1. Fizikalno-kemijska svojstva analiziranih medova

Tip meda	Vlažnost %	Ekstrakt %	pH	Slobodna kiselina mEq/kg	Električna provodljivost mS/cm
Heljda	18,6	79,9	4,65	16,5	0,537
Višecvjetni	18,4	80,1	4,73	4,5	0,371
Suncokret	17,6	80,9	3,96	18,5	0,361
Lipa	19,4	79,2	4,13	14,5	0,579
Medljika	17,2	81,3	4,60	22,0	0,991

Za karakterizaciju spektroskopskih svojstva se koristi samo prirodno dobiven med. FTIR spektroskopija je korištena kao učinkovita metoda kako bi se uzorci meda usporedili. Promatrane su karakteristične razlike u FTIR spektralnoj analizi za prirodne medove. Razlike su vjerojatno povezane sa sadržajem karboksilne kiseline u različitim vrstama meda koje su povezane s cvjetnim podrijetom, geografskim položajem i mogućim okolišnim onečišćenjima (Martos i sur. 2000).

Kako bi se olakšala karakterizacija vrpci i usporedba odabranih medova za testiranje slika 6 prikazuje ATR-FTIR apsorpcijski spektri ispitivanih medova s glavnim visinama vrpci.



Slika 6. ATR-FTIR apsorpcijski spektri dobiveni za medove: 1 - heljdin med, 2 - multiflorni, 3 - suncokretov, 4 - lipov i 5 - med medljikovac.

Spektri odabranih medova promatranih između  $3800$  i  $700\text{ cm}^{-1}$  prikazuju četiri tipične apsorpcijske zone u kojima dominiraju dvije vrpce vode na  $3339\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{O-H})$ ) i  $1649\text{ cm}^{-1}$  (OH deformacija). Također je uočena vrpca na  $2932\text{ cm}^{-1}$ , koja prema Anios i sur. (2015) također odgovara C–H rastezanju karboksilnih kiselina i  $\text{NH}_3$  rastezljivoj vrpci slobodnih aminokiselina. Spektralno područje od približno  $1500\text{--}750\text{ cm}^{-1}$  odgovara najosjetljivijem području apsorpcije glavnih komponenti meda, posebno području za kvantificiranje šećera u medu (oko  $60\text{--}75\%$ ) i organskih kiselina. Skupine karakteristične za saharozu, glukozu i fruktozu pokazuju vrpce u regiji između  $1500$  i  $900\text{ cm}^{-1}$ . Još jedno važno spektralno područje koje se nalazi na  $900\text{--}750\text{ cm}^{-1}$  je karakteristično za konfiguraciju saharida.

Izrazite razlike u intenzitetu vrpci su prije svega karakteristične za vibracije OH skupina. Ove promjene intenziteta jasno daju informaciju o različitom sadržaju vode u uzorcima meda odabranih za ispitivanje. Najveći intenzitet ovih vrpci, s maksimumom na  $3340\text{ cm}^{-1}$ , bio je u slučaju heljdinog meda, dok je najmanji intenzitet vrpci za lipov i suncokretov med.

### 2.2.3. Vino

Vino je tradicionalno alkoholno piće i zbog svoje velike ekonomske važnosti, jedno je od najčešćih pića podložnih prijevarama i pogrešnom označavanju. Manipulacije vina mogu biti posljedica promjena intrinzičnih svojstava (na primjer razrjeđivanje vina s vodom, dodatkom alkohola, tvari za bojenje ili aromu) ili promjene u ekstrinzičnim svojstvima (na primjer, lažno predstavljanje zemljopisnog podrijetla) (Villano i sur, 2017).

Vino se uglavnom sastoji od vode i etanola (95%). Druge komponente poput glicerola, organskih kiselina, ugljikohidrata, minerala, hlapljivih spojeva i fenolnih spojeva, među ostalim, predstavljaju <5% (Daniel, 2015). Metode temeljene na FTIR-ATR tehnici imaju ogromnu primjenu u vinskoj industriji jer imaju sposobnost da istovremeno mjeri nekoliko analita u istom uzorku u isto vrijeme, što čini ovu tehniku vrlo privlačan za korištenje u industriji i istraživanju.

Tijekom posljednjih desetljeća, mnoge studije su pokazale da je MIR spektroskopija u kombinaciji s multivarijatnom analizom podataka vrijedan alat u procjeni kvalitete vina i njegovog zemljopisnog podrijetla kao i njegova provjera autentičnosti i prijevara.

Geaň i sur. (2019) proveli su studiju o izvedivosti kombinirane upotrebe MIR-ATR i UV-Vis spektra s multivarijatnim statističkim alatima za klasifikaciju uzoraka autentičnih crnih vina, od različitih sorti crnog grožđa i proizvedeno na jednom području. Spektri svih vina pokazali su slične apsorpcijske vrpce i mogu se uočiti samo manje razlike u pojedinim područjima spektra. U ovoj studiji, spektralni podaci su izravno statistički obrađeni, bez ikakve prethodne obrade. Autori su zaključili da je UV-Vis spektroskopija prikladnija za razlikovanje sorti crnih vina, dok je MIR spektroskopija bila učinkovitija za predviđanje godine berbe vina jer omogućuje jasno razlikovanje odležanih vina.

Korištenjem sličnog pristupa, Banc i sur. (2014) su procijenili potencijal FTIR-ATR-a za karakterizaciju 15 različitih rumunjskih vina (bijela, ružičasta i crvena vina), dobivenih od različitih autentičnih kultivara s oznakom podrijetla i proizvedeni u godinama berbe 2008.–2012. godine. U ovoj studiji, MIR apsorpcijski spektri svakog vina podijeljeni su u četiri područja koja odgovaraju najvažnijim komponentama, fenoli ( $600\text{--}940\text{ cm}^{-1}$ ), ugljikohidrati ( $970\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ ), aminokiseline i organske kiseline ( $1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ ). U posljednjem području ( $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ ), sva vina apsorbiraju pri istim valnim brojevima,  $2887$  i  $2931\text{ cm}^{-1}$ .



Tablica 2. Primjena FT-MIR spektroskopije u analizi vina.

Proizvod/Referenca	Uzrokovanje	Raspon valnih brojeva (cm <sup>-1</sup> )	Multivarijantna analiza	Ciljevi/Komentari
Rumunjska crna vina	ATR	1600-900 zajedno s UV-Vis (250-600 nm)	PCA; PLS-DA; LDA	Usporedba UV-vis i FTIR spektroskopije za razlikovanje i klasifikaciju crnih vina; UV-Vis spektroskopija je više prikladna za diskriminaciju sorti dok je FT-IR spektroskopija bila više prikladna za predviđanje godine proizvodnje
Bijelo, rose i crno rumunjsko vino	ATR	1800-600	PCA; HCA	Metoda koja može razlikovati svaku kategoriju vina kao posljedicu njihove biološke specifičnosti.
Talijansko monosortna crna vina (11 sorta grožđa)	ATR	1500-700	PCA; DA; SVM; SIMCA	Ocjena kvalitete i provjera autentičnosti crnih vina; Poseban MIR uzorak za neke talijanske sorte grožđa je promatran. Studij učinka drugih varijabli kao što su berba će se raditi u budućnosti
Slatka vina s Cipra i iz drugih država	Prijenos (KBr); ATR	1900-750	PCA; CA; LDA; CART	Diferencijacija ciparskog tradicionalno slatkog vina "Commandaria" od drugih slatkih vina iz raznih zemalja i od ciparske provenijencije
Cabernet Sauvignon vina iz Austrije, Čilea i Kine	Prijenos (KBr); ATR	1750-1000 zajedno s NIR (4555-4353)	PCA; SIMCA; DA	Autentifikacija i sljedivost zemljopisnog podrijetla

Autori su pokazali da kombinacija MIR-ATR i kemometrijske tehnike predstavljene u ovoj studiji su omogućile gotovo potpunu diferencijaciju između uzoraka i može se koristiti kao tehnika za razlikovanje između različitih crnih, ružičastih i bijelih sorti vina.

#### 2.2.4. Kava

Kava je roba od velike ekonomske važnosti, druga je po konzumaciji i jedno od najcejenjenijih pića na svijetu. Iako više od poznato je osamdeset vrsta kave, samo dvije, *Coffea arabica* i *Coffea canephora* (var. Robusta) imaju ekonomski značaj (Assis i sur., 2019).



Slika 7. Razlika u zrnima *Coffea arabica* i *Coffea Robusta*

(izvor: <https://gegrond.co.za/arabica-robusta-and-everything-in-between/>)

Zbog visoke tržišne vrijednosti i komercijalne važnosti, krivotvorenje kave je vrlo uobičajeno, posebno za mljevenu kavu. Može uključivati zamjenu skuplje bobe kave *arabice* sa bobama kave *canephore* ili neispravnim bobama, kao i razrjeđivanje s nekoliko jeftinijih proizvoda kao što su ljuske kave, talog od kave, ječam, pšenica, kukuruz, cikorija i zrna kakaa ili soje.

Trenutačno ne postoji validirana metoda za utvrđivanje zemljopisnog podrijetla ili prisutnosti nečistoća u uzorcima kave. Isprobano je nekoliko analitičkih tehnika, kao što su kromatografske metode (GC-MS, HPLC-MS ili HPLC-DAD) ili spektroskopske tehnike (NIR, Raman, MIR ili NMR) te je većina njih povezana s kemometrijskim metodama (Thorburn Burns i sur., 2017).

FTIR spektroskopiju povezanu s mrežom radijalne bazične funkcije (RBF), umjetnom neuronskom mrežom (ANN) koja se široko koristi za klasifikaciju uzoraka, uspješno su upotrijebili Link i sur. (2014) za geografsku i genotipsku klasifikaciju *arabica* kave.

U studiji Obeidata i sur. (2018) su razlikovali uzorke zrna zelene kave iz pet različitih izvora koristeći FTIR spektre, bez ikakve prethodne obrade uzoraka. FTIR spektri snimani su

u rasponu od 600–4000  $\text{cm}^{-1}$  i dva područja, 1775–1500  $\text{cm}^{-1}$  i 3030–2750  $\text{cm}^{-1}$  su bila važna za analizu. Međutim, vizualna analiza IR spektara prilično je teška budući da je izgled apsorpcijskih vrpce bio vrlo sličan. Stoga je analiza glavnih komponenata (PCA) korištena za uspješno kategoriziranje svakog tipa kave, zaključivši da su vrpce na 2850, 2920 i 1745  $\text{cm}^{-1}$  najvažnije u razlikovanju podrijetla uzoraka kave.

Brondi i sur. (2017) proučavali su krivotvorine pržene i mljevene *Coffea arabica* L. od kukuruza koristeći dvije povezane metodologije, ATR-FTIR i diferencijalnu skenirajuću kalorimetriju, povezanu s PCA, kako bi se uspostavili klasteri i regresiju parcijalnih najmanjih kvadrata (PLS) s ciljem kvantificiranja razine krivotvorenja. Metode PCA i PLS su kemometrijske multivarijantne statističke metode. Multivarijantna analiza i regresija predstavljaju jedan od glavnih alata u analizi mjernih podataka s primjenom u kontroli kvalitete i predviđanju varijabli u sustavima visoke kompleksnosti.

Zrna zelene kave pržena su na tri različite temperature od svijetlog do tamnog pečenja, mljevene i pomiješane s mljevenim pečenim kukuruzom u rasponu od 0,5 do 40 % (m/m). Iako nije bilo razlika između spektra triju stupnja prženja, utvrđene su značajne razlike između spektra pržene kave i kukuruza. PCA pristup omogućio je prepoznavanje čistih i patvorenih uzoraka u koncentracijama nižim od 1%, iako nije mogao razlikovati različite razine pečenja. PLS modeli su pokazali dobru korelaciju između procijenjenih vrijednosti i referentne koncentracije s korijenom srednje kvadratne pogreške unakrsne validacije od 2,1 %. Analiza diferencijalne skenirajuće kalorimetrije dala je slične rezultate u usporedbi s FTIR, ali se uglavnom koristila za kvalitativnu analizu. Međutim, autori smatraju da se te dvije tehnike mogu koristiti kao nadopuna za otkrivanje krivotvorenja i svrhe kvantifikacije.

### **2.2.5. Toksini u hrani**

Tijekom proizvodnje i obrade hrane ili sirovina može doći do kontaminacija uzrokovanih raznim vanjskim uzrocima i nezakonitim ljudskim čimbenicima. Otkrivanje takvih tvari infracrvenom spektroskopijom je od velike važnosti.

Arzu Yazici i sur. (2020) uspostavili su metodu za brzu nedestruktivnu detekciju ostataka pesticida u jagodama na temelju bliske infracrvene spektroskopije. Izvođenjem derivacija drugog reda, analizom glavnih komponenti (PCA) na spektralnim podacima, modeli predviđanja za aminopiralinid i azoksistrobin razvijeni su korištenjem parcijalne regresije

metodom najmanjih kvadrata (PLSR). Aminopiridil je selektivni herbicid koji se koristi za suzbijanje širokolisnih korova, posebice čička i djeteline, a azoksistrobin je organski spoj koji se koristi kao fungicid.

Lu i sur. (2021) koristili su vidljivu NIR spektroskopiju u kombinaciji s kemometrijskim metodama za kvantificiranje klorpirifosa te ostataka karbendazima u kupusu. Klorpirifos je organofosfatni pesticid koji se koristi za ubijanje štetočina, a karbendazim je benzimidazolski fungicid širokog spektra. Kvantitativni modeli razvijeni su korištenjem parcijalne regresije metodom najmanjih kvadrata (PLSR) i metode potpunog vektorskog stroja najmanjih kvadrata (LS-SVM). Obilježene varijable odabrane su pomoću algoritma kontinuirane projekcije (SPA) i PLSR metode. Model LS-SVM pokazao se boljim od modela PLSR.

Liu i sur. (2019) istraživali su metodu temeljenu na radijalnoj baznoj funkciji neuronskih mreža (RBF) u kombinaciji s NIR spektralnim podacima za predviđanje sadržaja talka u pšeničnom brašnu. U ovoj metodi, podaci uzoraka su obrađeni višestrukom korekcijom raspršenja te je metoda korelacije koeficijenta korištena za smanjenje spektralne redundancije za određivanje maksimuma valne duljine relevantne informacije.

Toksini koje proizvode mikroorganizmi mogu se klasificirati u bakterijske toksine, toksine aktinomiceta i toksine koje proizvode gljive. Mikrobnih toksina važni su čimbenici u ugrožavanju zdravlja ljudi te je zato vrlo bitno brzo otkrivanje mikrobnih toksina zbog zdravlja ljudi te za osiguranje sigurnosti hrane. Aflatoksin je jak kancerogen, od čega je heterotoksin A prekursor aflatoksina B1 (AFB1) i može se koristiti kao indikator prisutnosti AFB1. Zheng i sur. (2020) su razvili metodu za detekciju heterotoksina A u kukuruzu spektroskopijom bliskog infracrvenog zračenja, koristeći algoritam za poboljšanje gradijenta ekstremne vrijednosti (XGBoost) u kombinaciji s metodom potpunih vektora (SVM). Kvantitativno rangiranje, sekundarno kvantitativno rangiranje i sekundarne metode rangiranja razvijene su korištenjem algoritma za poboljšanje gradijenta ekstremne vrijednosti (XGBoost) u kombinaciji sa SVM.

Unos trans-masnih kiselina (TFA) izravno je povezan sa zdravljem čovjeka te one mogu uzrokovati razne bolesti. Potrebno je eliminirati TFA iz prehrambenih proizvoda, od kojih su hidrogenirana ulja glavni izvor TFA. Khan i sur. (2017) koristili su infracrvenu spektroskopiju s Fourierovom transformacijom u kombinaciji s metodom izvoda drugog reda za brzo određivanje sadržaja TFA u odabranoj indijskoj hrani i hidrogeniziranim mastima. Udio TFA u proizvodima brze prehrane kretao se od 1,57 % do 3,83 % ukupne masti, dok se u hidrogeniziranim mastima kretao od 3,31 % do 4,73 %.

Tablica 3. Primjena infracrvene spektroskopije za detekciju otrovnih i opasnih tvari u hrani

<b>Objekt otkrivanja</b>	<b>Spektralna metoda</b>	<b>Raspon banda</b>
Ostaci pesticida u jagodama	NIR	11,000–4000 cm <sup>-1</sup>
Ostaci pesticida u kupusu	Vis-NIR	350–2500 nm
Talk u prahu u pšeničnom brašnu	NIR	400–2500 nm
Azodiformil u pšeničnom brašnu	Vis-NIR	400–2500 nm
Olovno-kromo zeleno u zelenom čaju	FTIR	4000–400 cm <sup>-1</sup>
Fluorokinolonski antibiotici u jajima peradi	DRS-FTIR	4000–400 cm <sup>-1</sup>
Formaldehid u lignjama	FTIR	2970–2920 cm <sup>-1</sup>
	SD-IR	1570–1520 cm <sup>-1</sup>
	2DCOS-IR	1330–1280 cm <sup>-1</sup>
		1110–1060 cm <sup>-1</sup>
Aspamicin A u kukuruzu	NIR	400–2500 nm
Aflatoksin B1 u jezgri kikirikija	Vis-NIR	400–2500 nm
Aflatoksin u smeđoj riži	NIR	12,000–4000 cm <sup>-1</sup>
	MIR	4000–600 cm <sup>-1</sup>
Voltamicin i eriamenon u kukuruzu	NIR	1100–2500 nm
Plijesan u pšenici	Vis-NIR	350–1000 nm
Fusarium vrste u ječmu	NIR	1175–2170 nm
Voltamicin u groždicama	FTIR	1800–800 cm <sup>-1</sup>
Doxysaanenol u pšeničnim mekinjama	FTIR-NIR	10,000–4000 cm <sup>-1</sup>
	FTIR-MIR	4000–350 cm <sup>-1</sup>
<i>Bacillus cereus</i> i <i>Bacillus thuringiensis</i>	FTIR	3100–2800 cm <sup>-1</sup>
		1800–700 cm <sup>-1</sup>
Trans-masti u indijskoj brznoj hrani i hidrogenirane masti	ATR-FTIR	4000–800 cm <sup>-1</sup>
Hlapljivi spojevi u pićima, octu i grožđu	Open-path FTIR	4000–650 cm <sup>-1</sup>
Kiselina tijekom skladištenja jestivog ulja	NIR	900–1700 nm
Akrilamid u sirovom krumpiru	Vis-NIR	400–1700 nm
Bisfenol S (BPS) i bisfenol A (BPA)	FTIR	6800–400 cm <sup>-1</sup>
Oksidirana DHA u mlijeku za dojenčad u prahu	ATR-FTRI	4000–400 cm <sup>-1</sup>
	NIR	1000–2500 nm

Tablica 3 sažima primjenu infracrvene spektroskopije za detekciju otrovnih i opasnih tvari u hrani. Moguće je koristiti infracrvenu spektroskopiju za detekciju pesticida, veterinarskih lijekova, ostataka antibiotika, nedopuštenih aditiva, mikotoksina i drugi toksičnih i opasnih tvari u hrani. Međutim, zbog komplicirane raznolikosti takvih toksičnih i opasnih tvari, infracrvena spektroskopija još zahtijeva mnogo istraživanja o sigurnosti hrane otkrivanje.

### 2.2.6. Krivotvorenje hrane

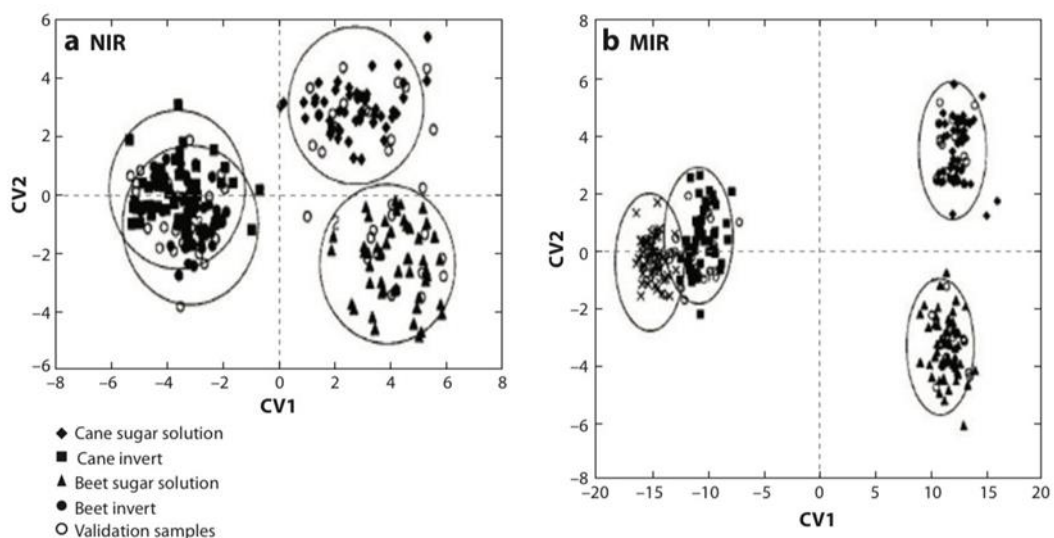
Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) postala je atraktivna alternativa tradicionalnim analitičkim metodama jer je potrebna mala priprema uzorka, analiza je brza i upotreba opasnih otapala je svedena na minimum. Ove prednosti rezultiraju uštedom vremena i troškova te povećanje u broju uzoraka koji se mogu analizirati. Brojni su istraživači pokušali iskoristiti te prednosti primjenom FTIR-a u znanosti o hrani. Poznavanje osnovnih principa spektroskopije olakšava razumijevanje kako se infracrvena (IR) tehnika može primijeniti za provjeru autentičnosti i otkrivanje krivotvorenja hrane.

Provjera autentičnosti proizvoda prema vrsti, sorti i zemljopisnom podrijetlu važna je za regulatorne agencije, prerađivače hrane, trgovce na malo i potrošače jer skupi sastojci imaju mogućnost krivotvorenja i lažnog ili slučajno pogrešnog označavanja. Postoji potreba za brzim tehnikama za potvrdu ovih tvrdnji, a istražena je i potencijalna primjena FTIR-a zadnjih godina. Kombinacija FT-NIR i FT-MIR s multivarijantnim statističkim metodama je podnesena za provjeru autentičnosti biljnih proizvoda, voćnih sokova, poljoprivrednih proizvoda, jestivih ulja, mliječnih proizvoda, i brojnih drugih prehrambenih proizvoda.

NIR refleksijska spektroskopija korištena je za razvoj sustava brze provjere autentičnosti za biljne dodatke prehrani. Vrste ehinaceje *E. purpurea* (L.) Moench, *E. angustifolia* i *E. pallida* široko su rasprostranjene te se koriste kao imunostimulirajući biljni pripravci, a komercijalni pripravci često se krivotvore ili zamjenjuju korijenjem *Parthenium integrifolium* L. ili različitim vrstama *Echinacea* koje negativno utječu na pouzdanost i učinkovitost komercijalnih proizvoda od *Echinaceae* (Laasonen i sur. 2002a). NIR spektroskopija je određena za brzu identifikaciju korijena *E. purpurea* (Laasonen i sur. 2002b) i određivanje sadržaja ehinakozida (Schulz i sur. 2002). Prisutnost drugih vrsta *Echinacea* može se otkriti pri najmanje 10% krivotvorenja pomoću FT-NIR spektroskopija (Laasonen i sur. 2002b).

Značajna primjena NIR spektroskopije bila je za otkrivanje nečistoća u sokovima, pireima i sirupima. Ti se proizvodi često krivotvore s jeftinijim koncentratima sokova, šećerima od trske, kukuruza ili šećerne repe i sirupima za ekonomsku dobit. Twomey i sur. (1995) objavili su studiju o korištenju NIR i faktorske diskriminativne analize za otkrivanje krivotvorenja soka od naranče s tekućinom od narančine pulpe, sokom od grejpa i sintetičkom mješavinom šećera/kiseline. Točnost klasifikacijske stope >90 % utvrđene su za krivotvoreni sok od naranče pri 50 g/kg ili višim razinama, bez patvorenog soka od naranče koji se predviđa kao autentičan. Contal i sur. (2002) su prikazali da se krivotvorenje soka od jagode ili maline sa sokom od jabuke može otkriti na razinama >10 % korištenjem PLS-NIR modela.

Javorov sirup i proizvodi od meda također su mete krivotvorenja kako bi proizvođači mogli profitirati dodavanjem jeftinijih šećera od trske i repe. NIR i FTIR spektroskopija u kombinaciji s diskriminantnom i kvantitativnom analizom uspješno je primijenjena za klasifikaciju štetnih tvari u javorovom sirupu (Paradkar i sur. 2003). Modeli razvijeni s NIR mjerenjima bili su prikladni za kvantitativnu analizu prisutnosti štetnih tvari. Modeli razvijeni iz FTIR spektra posebno onog dijela iz područja otiska prsta rezultiralo je modelima sa superiornim kvantitativnim i diskriminativnim performansama (Slika 8) za otkrivanje štetnih tvari u usporedbi s onima dobivenim iz disperzije NIR spektra. Slični rezultati zabilježeni su za analizu majčine dušice, origana i eteričnih ulja od kamilice disperzivnom NIR i ATR-IR spektroskopijom.

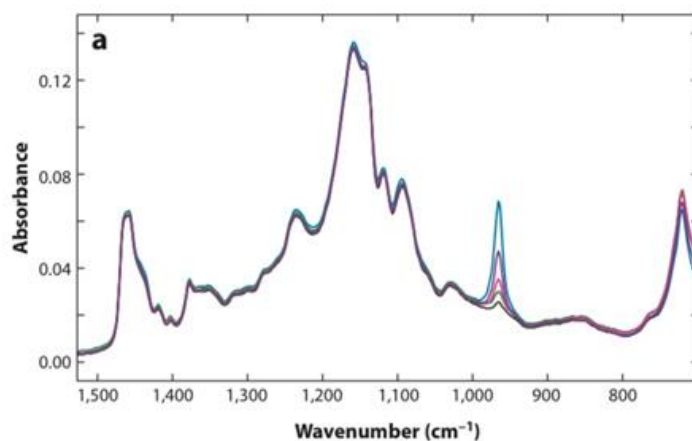


Slika 8. Klasifikacija štetnih tvari u javorovom sirupu prema (a) bliskom infracrvenom (NIR) i (b) srednjem infracrvenom (MIR) korištenjem parcijalnih najmanjih kvadrata (PLS)/kanoničkom varijabilnom analizom (CVA) (Paradkar i sur., 2003).

Med je definiran kao prirodna tvar koju proizvode pčele te dodatak šećera poništava ovu definiciju. Razrjeđivanje meda jednostavnim i složenim šećerima je najčešći način krivotvorenja meda. Patvorenje meda je teško otkriti zbog velike varijabilnosti proizvoda zbog vrsta cvijeća i pčela, zrelosti, okoliša i uvjeta prerade ili skladištenja. Čistoća meda se trenutno ispituje analizom omjera izotopa ugljika, što je skupo i dugotrajno. Kada se provjerava autentičnost meda, problem se javlja kod očitavanja MIR spektra zbog apsorpcijske vrpce O-H veze iz vode, koju med sadrži, i koja zbog svoje širine prekriva ostale apsorpcijske vrpce koje potječu od drugih otopljenih tvari.

Prehrambeni proizvodi najčešće su krivotvoreni materijalima niže kvalitete te su iz tog razloga i jeftiniji. Manji segment krivotvorenja uključuje proizvode kontaminirane potencijalno štetnim spojevima. Ovo uključuje spojeve koji se nenamjerno pojavljuju kao rezultat proizvodnog procesa (kao što su trans-masti i akrilamid) i namjerni kemijski zagađivači (npr. melamin). Napredak u FTIR spektroskopskoj instrumentaciji i multivarijantnim tehnikama analize podataka pokazuju značajan potencijal za određivanje promjena u sastavu hrane što može ukazivati na dodatak štetnog stranog materijala. Nedavno je za javnost objavljeno da sadržaj trans-masti u hrani izaziva zdravstvene probleme. Iako se male količine trans-masti prirodno nalaze u mliječnim i mesnim proizvodima, glavni izvor su djelomično hidrogenirana biljna ulja koja se koriste u komercijalnim prehrambenim proizvodima (Mossoba i sur., 2009).

IR metode se koriste od 1950-ih za određivanje količine izoliranih trans dvostrukih veza u mastima i uljima. Ova se metoda temelji na IR vrpce na  $966\text{ cm}^{-1}$  koja odgovara deformaciji C-H veze izvan ravnine (Slika 8).



Slika 9. Infracrveni spektri Fourierove transformacije (FTIR) jestivog ulja prikupljeni na FatIR dodatku ističući karakteristični transpojas na  $966\text{ cm}^{-1}$  (Mossoba i sur., 2009)



Ova vrpca je jedinstvena za izolirane *trans* dvostruke veze. Izazov kod korištenja ove tehnike uključuje odvajanje vrpce *trans* dvostruke veze od onih vrpce od konjugiranih dvostrukih veza ili od interferencija pripisanih drugim funkcijskim skupinama. Utvrđeno je da se preklapajuće vrpce najviše javljaju kod masti i ulja s niskim razinama *trans*-masnih kiselina.

FT-NIR i multivarijantna analiza za otkrivanje neovlaštenog krivotvorenja hrane razvijeni su i procijenjeni za brzo otkrivanje krivotvorenja ricinusovog brašna (CBM). Sjemenka biljke ricinus (*Ricinus comunis*) sadrži izrazito otrovan protein ricin koji specifično i nepovratno inaktivira eukariotske ribosome, potičući smrt stanice zbog inhibicije sinteze proteina. CBM je nusprodukt proizvodnje ricinusovog ulja, lako je dostupan i lako bi se mogao upotrijebiti za namjerno onečišćenje zaliha hrane, čineći ga tako potencijalnom prijetnjom (Wellner i sur. 1995). Predviđanje sadržaja CBM-a kalibracijskim modelima je uvelike pod utjecajem spektralnih vrpce karakterističnih za amide (4880 i 4555  $\text{cm}^{-1}$ ) i lipide (5800, 5685, 4340 i 4261  $\text{cm}^{-1}$ ). PLSR modeli točno su predvidjeli sadržaj CBM-a u kontaminiranim uzorcima bez lažnih pozitivnih rezultata za uzorke koji sadrže placebo kontaminante (bjelanjak, sojino brašno, tofu i formula za dojenčad) (Rodriguez-Saona i sur. 2000).

Razvoj IR mikrospektroskopije (IRMS) omogućio je dobivanje spektra iz područja uzorka veličine samo nekoliko mikrona. IRMS ujedinjuje dvije analitičke tehnologije za biološku analizu spajanjem beskonačno ispravljenog mikroskopa na IR spektrometar visokih performansi opremljen živa-kadmij-telurid (MCT) detektorom koji će proizvesti spektar s razinom šuma 10 do 100 puta nižom od razine šuma iz uobičajeno korištenog detektora deuteriranog triglicin sulfata (DTGS). IRMS značajno poboljšava osjetljivost, ponovljivost, diferencijaciju i mogućnosti brzine IR spektroskopije i omogućio je dobivanje spektara iz uzoraka od samo 100 pg ( $10^{-10}$  g), promičući njegovu primjenu u medicinskim i biološkim poljima (Ozen i sur., 2003). IRMS pruža mogućnosti za visokoučinkoviti pregled kemijskih kontaminanata i sposobnost razlučivanja spektralnih profila unutar željenih područja cilja. Snimanje ovakvih IR spektara omogućuje preciznu karakterizaciju kemijskog sastava, strukture i kemijske arhitekture raznih tvari te informacija koje su često presudne za razumijevanje složenih uzoraka (Diem, 1993).

### 3. ZAKLJUČCI

Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) se do sada pokazala se kao vrlo djelotvorna metoda u mikrobiologiji i analizi hrane. FTIR spektroskopija nudi nekoliko prednosti, uključujući široki spektralni raspon, visoku osjetljivost i sposobnost analize složenih smjesa.

FTIR spektroskopija je dobro uspostavljena analitička metoda za brzu, visoko propusnu, nedestruktivnu analizu širokog niza tipova uzoraka, dajući otisak prsta karakterističan za kemijske ili biokemijske tvari prisutane u uzorku. Prednosti u FTIR instrumentaciji i multivarijantnim tehnikama su pokazale potencijal za analizu složenih multispektralnih informacija za diskriminaciju, klasifikaciju, kvantifikaciju i identifikaciju bioloških sustava.

Također, uspješno se koristi u procjeni sigurnosti i autentičnosti hrane. Može detektirati kontaminante, kao što su pesticidi, mikotoksini, teški metali i štetne tvari, koji mogu biti prisutni u uzorcima hrane. Tehnika se također može koristiti za određivanje podrijetla, geografskog položaja i povijesti obrade prehrambenih proizvoda, pomažući u sprječavanju prijevara s hranom i osiguravajući zaštitu potrošača.

Unatoč brojnim prednostima, FTIR spektroskopija ima neka ograničenja koja mogu utjecati na točnost mjerenja. Međutim, napredak u dizajnu instrumenata i tehnika analize podataka nastavlja rješavati te izazove, proširujući raspon primjene FTIR spektroskopije u analizi hrane.

Kako se polje FTIR spektroskopije nastavlja razvijati, možemo očekivati daljnji napredak i primjene koje će poboljšati naše razumijevanje sastava, obrade i sigurnosti hrane, pridonoseći sveukupnom poboljšanju prehrambene industrije.

#### 4. POPIS LITERATURE

Alkhalf MI, Mirghani MES (2017) Detection of formaldehyde in cheese using FTIR spectroscopy. *International Food Research Journal* **24**, 496–500.

<https://doi.org/10.3390%2Ffoods10020477>

Assis C, Pereira HV, Amador VS, Augusti R, de Oliveira LS, Sena MM (2019) Combining mid infrared spectroscopy and paper spray mass spectrometry in a data fusion model to predict the composition of coffee blends. *Food Chemistry* **281**, 71–77.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.044>

Banc R, Loghin F, Miere D, Fetea F, Socaciu C (2014) Romanian wines quality and authenticity using FT-MIR spectroscopy coupled with multivariate data analysis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* **42**, 556–564. <http://dx.doi.org/10.15835/nbha4229674>

Beć KB, Grabska J, Huck CW (2020) Biomolecular and bioanalytical applications of infrared spectroscopy - A review. *Analytica Chimica Acta* **1133**, 150–177.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.04.015>

Brondi AM, Torres C, Garcia JS, Trevisan MG (2017) Differential scanning calorimetry and infrared spectroscopy combined with chemometric analysis to the determination of coffee adulteration by corn. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **28**, 1308–1314.

<http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20160296>

Contal L, Leon V, Downey G (2002) Detection and quantification of apple adulteration in strawberry and raspberry purees using visible and near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **10**, 289–99. <http://dx.doi.org/10.1255/jnirs.345>

Daniel C (2015) The role of visible and infrared spectroscopy combined with chemometrics to measure phenolic compounds in grape and wine samples. *Molecules* **20**, 726–737.

<http://dx.doi.org/10.3390/molecules20010726>

Diem M (1993) *Introduction to Modern Vibrational Spectroscopy*, 10. izd., J. Wiley, New York.

Edutorij e-skole – Razlaganje svjetlosti, [https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco\\_noauth/edutorij/api/proxy-guest/1d895338-6c52-4d7e-a2f2-5df65634fbaf/razlaganje-svjetlosti.html](https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco_noauth/edutorij/api/proxy-guest/1d895338-6c52-4d7e-a2f2-5df65634fbaf/razlaganje-svjetlosti.html) Prisutpljeno 22. svibnja 2023.

Geana EI, Ciucure CT, Apetrei C, Artem V (2019) Application of spectroscopic UV-Vis and FT-IR screening techniques coupled with multivariate statistical analysis for red wine authentication: Varietal and vintage year discrimination. *Molecules* **24**, 4166.

<http://dx.doi.org/10.3390/molecules24224166>

Geground coffee – Arabica, Robusta and everything in between, <https://gegrond.co.za/arabica-robusta-and-everything-in-between/> Pristupljeno 28. svibnja 2023.

Günzler H, Gremlich HU (2006) Uvod u infracrvenu spektroskopiju, (preveli Meić Z, Baranović G), Školska knjiga, Zagreb.

Honey-well – Composition of Honey, [www.honey-well.com/composit.html](http://www.honey-well.com/composit.html) Pristupljeno 25. svibnja 2023.

Karoui R, Mazerolles G, Dufour É (2003) Spectroscopic techniques coupled with chemometric tools for structure and texture determinations in dairy products, *International Dairy Journal* **13**, 607-620. [http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00076-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00076-1)

Khan MU, Hassan MF, Rauf A (2017) Determination of trans Fat in Selected Fast Food Products and Hydrogenated Fats of India Using Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy. *Journal of Oleo Science*, **66**, 251–257. <http://dx.doi.org/10.5650/jos.ess16168>

Laasonen M, Harmia-Pulkkinen T, Simard CL, Michiels E, Rasanen M, Vuorela H (2002a). Fast identification of *Echinacea purpurea* dried roots using near-infrared spectroscopy. *Analytical Chemistry* **74**, 2493–99. <http://dx.doi.org/10.1021/ac011108f>

Laasonen M, Wennberg T, Harmia-Pulkkinen T, Vuorela (2002b). Simultaneous analysis of alkaloids and caffeic acid derivatives for the identification of *Echinacea purpurea*, *Echinacea angustifolia*, *Echinacea pallida* and *Parthenium integrifolium* roots. *Planta Medica* **68**, 572–74. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2002-32561>

Leite AIN, Pereira CG, Andrade J, Vicentini NM, Bell MJV, Anjos V (2019) FTIR-ATR spectroscopy as a tool for the rapid detection of adulterations in butter cheeses. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* **109**, 63–69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.017>

Link JV, Lemes ALG, Marquetti I, dos Santos Scholz MB, Bona E (2014) Geographical and genotypic classification of arabica coffee using Fourier transform infrared spectroscopy and radial-basis function networks. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **135**, 150–156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemolab.2014.04.008>

Liu Y, Sun LJ, Ran ZY, Pan XY, Zhou S, Liu SC (2019) Prediction of Talc Content in Wheat Flour Based on a Near-Infrared Spectroscopy Technique. *Journal of Food Protection* **82**, 1655–1662. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-582>

Lu Y, Li XL, Li WJ, Shen TT, He ZN, Zhang MQ, Zhang H, Sun YQ, Liu F (2021) Detection of chlorpyrifos and carbendazim residues in the cabbage using visible/near-infrared spectroscopy combined with chemometrics. *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **257**, 119759. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2021.119759>

Martos I, Ferreres F, Tomás-Barberán J FA (2000) Identification of Flavonoid Markers for the Botanical Origin of Eucalyptus Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**, 1498-1502. <https://doi.org/10.1021/jf991166q>

Mirghani MES (2010) Rapid methods for analysis of edible oils and fats by fourier transform infrared spectroscopy. UK: Lambert Academic publishing

Mossoba MM, Moss J, Kramer JKG (2009) Trans-fat labeling and levels in U.S. foods: assessment of chromatographic and infrared spectroscopic techniques for regulatory compliance. *Journal of AOAC International* **92**, 1284–300  
<http://dx.doi.org/10.1093/jaoac/92.5.1284>

Obeidat SM, Hammoudeh AY, Alomary AA (2018) Application of FTIR Spectroscopy for Assessment of Green Coffee Beans According to Their Origin. *Journal of Applied Spectroscopy* **84**, 1051–1055. <http://dx.doi.org/10.1007/s10812-018-0585-9>

Oryan A, Alemzadeh E, Moshiri J A (2016) Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. *Journal of Tissue Viability* **25**, 98-118. <https://doi.org/10.1016/j.jtv.2015.12.002>

Ozen B, Weiss I, Mauer L (2003) Dietary supplement oil classification and detection of adulteration using Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 5871–76. <http://dx.doi.org/10.1021/jf034245h>

Paradkar MM, Sivakesava S, Irudayaraj J (2003) Discrimination and classification of adulterants in maple syrup with the use of infrared spectroscopic techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **83**, 714–21. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.1332>

Popović Z (1999) Infracrvena spektroskopija, Zagreb, str. 2-11.

Rodriguez-Saona LE, Fry FS, Calvey EM (2000) Use of Fourier transform near-infrared reflectance spectroscopy for rapid quantification of castor bean meal in a selection of flour-based products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**, 5169–77.  
<http://dx.doi.org/10.1021/jf000604m>

Schulz H, Schrader B, Quilitzsch R, Steuer B (2002) Quantitative analysis of various citrus oils by ATR/FT-IR and NIR-FT Raman spectroscopy. *Applied Spectroscopy* **56**, 117–24. <http://dx.doi.org/10.1366/0003702021954296>

Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ, Bryce DL (2015) Spectrometric Identification of Organic Compounds, 8 izd., John Wiley & Sons, Ltd: Hoboken, NJ, USA.

Skoog DA, Holler FJ, Crouch S (2017) Principles of Instrumental Analysis, 7 izd., Cengage Learning, Boston, MA, USA.

Svečnjak L, Prđun S, Rogina J, Bubalo D, Jerković I (2017) Characterization of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) nectar-to-honey transformation pathway using FTIR-ATR spectroscopy. *Food Chemistry* **232**, 286-294. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.159>

Tahir HE, Xiaobo Z, Zhihua L, Jiyong S, Zhai X, Wang S, Mariod AA (2017) Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Food Chemistry* **226**, 202-211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.024>

Thorburn Burns D, Tweed L, Walker MJ (2017) Ground Roast Coffee: Review of Analytical Strategies to Estimate Geographic Origin, Species Authenticity and Adulteration by Dilution. *Food Analytical Methods* **10**, 2302–2310. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-016-0756-3>

Twomey M, Downey G, McNulty PB (1995) The potential of NIR spectroscopy for the detection of the adulteration of orange juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **67**, 77–84. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740670113>

Villano C, Lisanti MT, Gambuti A, Vecchio R, Moio L, Frusciante L, Aversano R, Carputo D (2017) Wine varietal authentication based on phenolics, volatiles and DNA markers: State of the art, perspectives and drawbacks. *Food Control* **80**, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.020>

Wang T, Gao X, Tong J, Chen L (2012) Determination of formaldehyde in beer based on cloud point extraction using 2, 4-dinitrophenylhydrazine as derivative reagent. *Food Chemistry* **131**, 1577-1582. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.021>

Wellner RB, Hewetson JF, Ploi MA (1995) Ricin: mechanism of action, detection, and intoxication. *Journal of Toxicology: Toxin Review* **14**, 483–522. <https://doi.org/10.3390%2Ftoxins3101332>

Xu X, Su R, Zhao X, Liu Z, Li D, Li X, Zhang H, Wang Z (2011) Determination of formaldehyde in beverages using microwave-assisted derivatization and ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography. *Talanta* **85**, 2632-2638. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.08.037>

Yazici A, Tiryaki GY, Ayvaz H (2020) Determination of pesticide residual levels in strawberry (*Fragaria*) by near-infrared spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **100**, 1980–1989. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10211>

Zheng SY, Wei ZS, Li S, Zhang SJ, Xie CF, Yao DS, Liu DL (2020) Near-infrared reflectance spectroscopy-based fast versicolorin A detection in maize for early aflatoxin warning and safety sorting. *Food Chemistry* **332**, 127419. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127419>

## Izjava o izvornosti

Ja Magdalena Volar izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

M. Volar

Vlastoručni potpis