

# Time Domain NMR - en fortræffelig metode til at bestemme fedt- og vandindhold i fødevarer

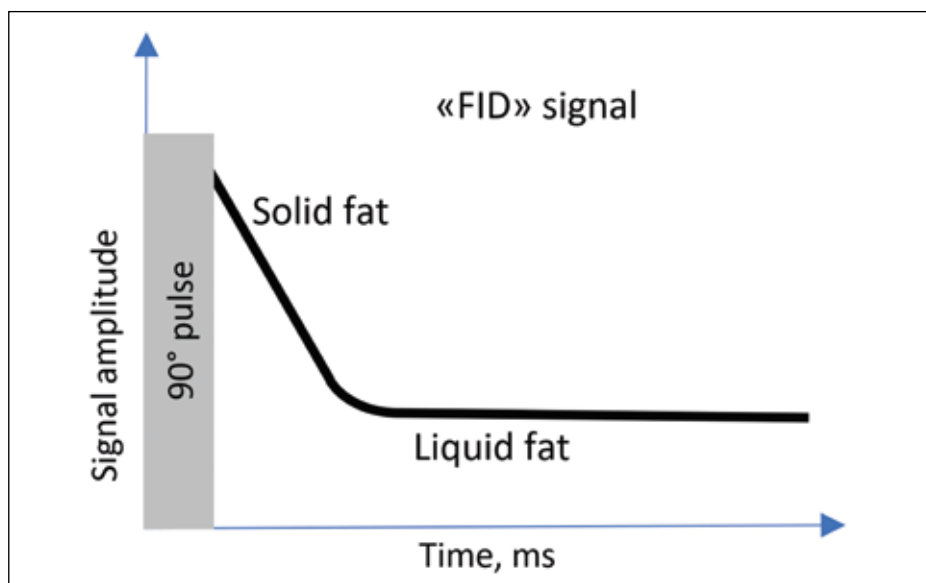
En række Time Domain (TD) NMR-applikationer er nu udviklet og taget i brug i kvalitetskontrol af fødevarer, som for eksempel hurtigbestemmelse af fedt- og proteinindhold i kødprodukter, karakterisering af fedt og vandfordeling i ost, prædiktion af vand- og olieindhold i raps- og sennepsfrø, analyse af fast fedtindhold, overvågning af teksturelle ændringer i frossen fisk og hurtiganalyse af fedt og vand i fiskefoder.

Af Emil Veliyulin,  
Samsi Instruments

Flere velkendte analytiske teknikker, der benyttes i produktion og kvalitetskontrol af fødevarer har en række ulemper. Traditionelle kemisk-fysiske analyser er ofte tidskrævende, kostbare, de kræver specialuddannet personale, ofte destru-



Foto: Wikimedia commons

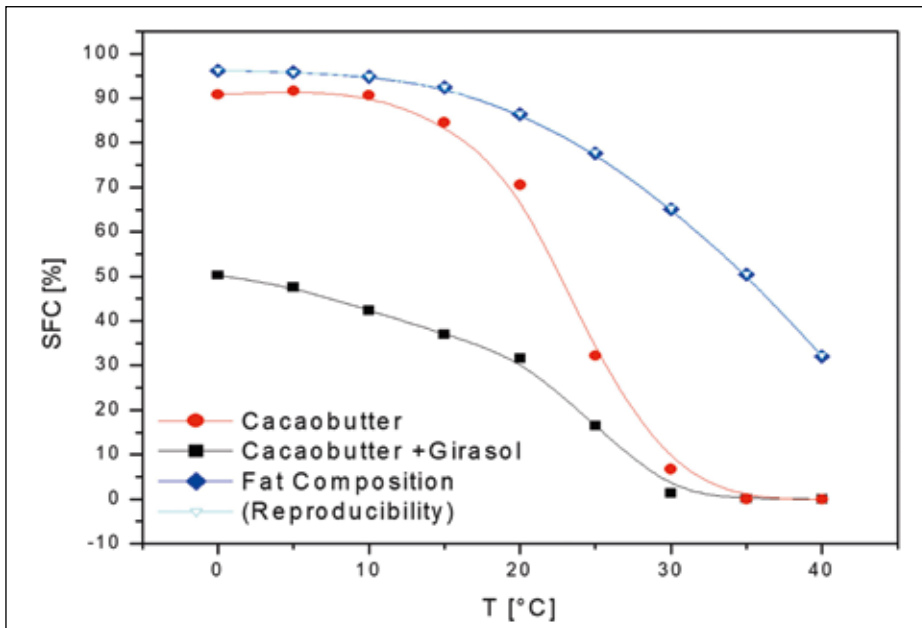


Figur 1. Solid Fat Content (SFC) måleprincip.

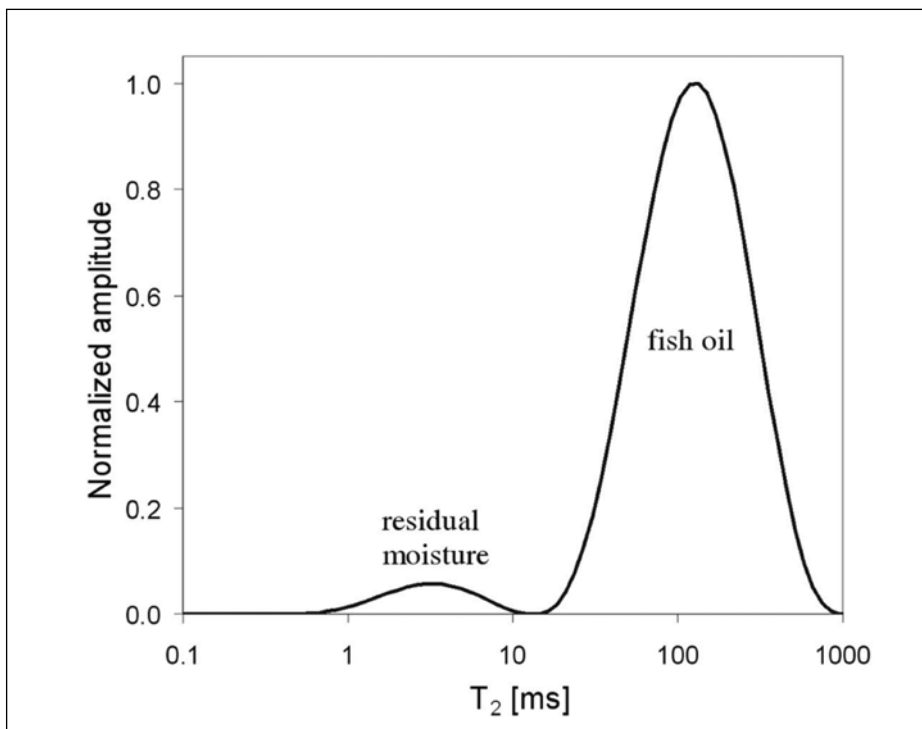
eres prøven i forbindelse med analysen, mange af metoderne bruger farlige og giftige opløsningsmidler og kan ikke udføres online. Som modstykke til dette, tilbyder moderne lavfelt kernemagnetisk resonans (Time Domain NMR eller Low Field NMR) udstyr et udvalg af hurtige, ikke-destruktive og præcise applikationer. En høj automatiseringsgrad af moderne NMR-instrumenter gør, at de fleste rutinemæssige analyser kan udføres af operatører uden specielle kompetencer. Forskellige analyser kan

give komplementær information om den undersøgte prøve. Dette opnås ved at benytte forskellige såkaldte NMR-pulssekvenser, for eksempel "Free Induction Decay" (FID), "Hahn-echo", CPMG, "solid echo" m.fl.

Valg af NMR-pulssekvens afhænger ikke bare af den type information, som ønskes om prøven, men i stor grad også af prøvens fysiske og kemiske egenskaber. Tilstedeværelse af faste og flydende faser, deres mobilitet, stivhed og "levetiden" af NMR-signalet er blandt



Figur 2. Typiske smeltekurver.



Figur 3. T<sub>2</sub> relaxationspektrum for fiskefoder viser separate vand- og fedtkomponenter.

de vigtigste parametre, som skal tages i betragtning.

**Bestemmelse af fastfase fedtindhold (SFC)**

Fedt er en kompleks ingrediens, som spiller en afgørende rolle i ernæring og forbrugernes opfattelse af produkter. De mest udbredte industrielle og R&D-applikationer af TD NMR er måling af fastfase fedtindhold (SFC - Solid Fat Content) og bestemmelse af fedt- og vandindhold i tørre produkter. Især i

bage-, konditor- og margarineindustrien er måling af SFC vigtig, da fedt er en nøglekomponent i mange af denne type produkter. SFC viser, hvor stor en andel af fedtet, der forekommer på fast fase i produktet. Denne analyse danner basis for at lave såkaldte "smeltekurver" af produkterne og dermed få en forståelse af smelteegenskaberne i spiseolier og fedt. Smelteprofilen af fedt er en af de parametre, som må kontrolleres nøje for at sikre et konsistent produkt og den rigtige smagsoplevelse.

Når et NMR-rør med prøve placeres i det permanente magnetfelt i NMR-instrumentet, bliver alle hydrogen-atomer i prøven "polariserede", dvs. at prøven får en lille nettomagnetisering langs magnetfeltet. For at bestemme SFC, udsender man en enkelt radiofrekvens (RF) puls, som tipper alle de polariserede hydrogen-atomer i prøven væk fra ligevægten med 90°, således at nettomagnetiseringen efter pulsen havner i det transversale plan. Derefter vil prøven komme tilbage til ligevægt ved at afgive den ekstra energi, som kom fra 90° RF-pulsen, men denne relaxationsproces vil tage markant forskellig tid for protoner i hhv. fast og flydende fase. NMR-signalet fra fast fase vil "dør ud" efter få mikrosekunder, mens fedt på flydende form vil afgive et signal, som "lever" i millisekunder (figur 1). På denne måde er det relativt enkelt at beregne andelen af fast fedt i prøven. SFC-måling gøres som regel ved flere fastlagte temperaturer og derefter dannes en "smeltekurve" (SFC % vs. temperatur) (figur 2).

**Hurtigbestemmelse af totalt vand- og fedtindhold**

En anden vigtig anvendelse af TD NMR er hurtigbestemmelse af totalt vand- og fedtindhold i diverse råvarer og fødevarer. Her kan man skelne mellem to hovedtyper af produkter: i) relativt tørre produkter med et vandindhold under 10-12 wt.%, som diverse oliefrø, nødder, fiskefoder, snacks, kartoffelchips etc., og ii) produkter som indeholder betydelige mængder vand, som for eksempel kød, fisk, fjerkræ, pølseprodukter, etc.

I tørre prøver med et vandindhold under 10-12 wt.%, vil mobiliteten af vandmolekylerne være meget lav sammenlignet med mobiliteten af fedtmolekylerne. Lav mobilitet i NMR-sammenhæng svarer til en kort levetid af det observerede NMR-signal (vandsignalet "dør ud" efter få millisekunder). På NMR-"sproget" kan man sige, at NMR relaxations-tiden for en bundet vandkomponent er væsentlig kortere (få millisekunder) end relaxations-tiden af en fedtkomponent (hundredvis af millisekunder). Figur 3 viser fordelingen af NMR relaxations-tider i en typisk fiskefoderprøve (vandindhold ca. 4-5 wt.%) hvor man tydeligt kan se to separate komponenter fra hhv. bundet vand og fedt i prøven. NMR relaxations-tiden har direkte sammenhæng med mobiliteten af forskellige grupper af hydrogen-atomer i prøven.

Der findes relativt enkle TD NMR-teknikker, som kan bruges til at måle vand- og fedtindhold i relativt tørre produkter. En kombination af en 90°

og en  $180^\circ$  puls vil generere et såkaldt "spin-ekko"-signal som vist i figur 4. Det er vigtigt at lægge mærke til, at tidsforsinkelsen  $\tau$  mellem  $90^\circ$  og  $180^\circ$  pulsene er identiske med tidsforsinkelsen mellem  $180^\circ$  pulsen og det observerede "spin-ekko". Tidsafstanden fra  $90^\circ$  pulsen til ekkotoppen hedder "ekko-tiden" og den er  $2\tau$ . Ved korrekt optimering af "ekko-tiden" vil amplituden på det detekterede spin-ekko være et direkte mål for fedtindholdet i prøven og intet vand vil bidrage til dette signal. En standardkurve for fedtindhold kan derfor laves ved at måle amplituden til spin-ekkoet på nogle få prøver med kendt fedtindhold.

En enkelt  $90^\circ$  puls vil generere et NMR-signal, som kaldes et FID (Free Induction Decay). Dette signal kan observeres lige efter  $90^\circ$  pulsen (som vist i figur 4) og er et mål for alle hydrogen-atomer i flydende fase, dvs. at FID-signalet vil være proportionalt med summen af fedt og vand i prøven. Ved at måle både FID-signal (fedt+vand) og spin-ekko-signalet (fedt) vil det være muligt at bestemme både fedt- og vandindhold i prøven i én og samme måling. I produkter, hvor det primært er af interesse at måle fedtindhold (for eksempel i nødder, diverse frø, snacks, etc.) er det praktisk at anvende forskellige kendte mængder af ren bulk olie for at kalibrere instrumentet.

Den her omtalte TD NMR-teknik er blevet brugt i 20 år af fiskefoderproducenter, både i laboratorier og på produktionslinjer for en hurtig og fleksibel kontrol af produktionen. Men TD NMR-metoden er universal og kan også anvendes på de fleste tørre fødevarer såsom diverse frø, snacks, kartoffelchips, kiks, nødder, etc.

## Fødevarer med højt vandindhold

Hvis et produkt indeholder betydelige mængder vand (kød, fisk, fjerkræ etc.) vil den ovenfor enkle TD NMR-teknik ikke kunne anvendes. Årsagen er, at "levetiden" (NMR relaksationstid) på signalkomponenten fra frit vand i prøven vil være lang og overlape med signalkomponenten fra fedt. Vand- og fedtfase i prøven har altså sammenlignelige NMR relaksationstider, og derfor vil begge komponenter bidrage til det observerede spin-ekko-signal, uden at der kan skelnes mellem fedt og vand. En løsning kan være at anvende en mere kompleks statistisk teknik baseret på såkaldt multivariat dataanalyse (kemometri). Metoden blev oprindeligt udviklet og implementeret af Bruker BioSpin for hurtig måling af kropssammensætning i små levende dyr (rotter og mus), men er også blevet brugt på fødevarerapplikationer. Ud over fedt- og vandindhold, måler teknikken også protein. En speciel NMR pulsskvens (såkaldt kombineret  $T_1$ - $T_2$  metode) producerer et stort antal målepunkter, som indeholder information om alle tre komponenter i prøven. Den typiske måletid er to minutter per analyse.

Etablering af en multivariat kalibreringsmodel på basis af referenceprøver er nødvendig. Den enkleste måde er at bruge rene modelstoffer, der efterligner protein, fedt og vand i prøven. For protein bruges ofte fersk kyllingebryst, for fedt anvendes ren 100 procent svinefedt og en 0,9 procent fysiologisk NaCl-løsning anvendes som model for vandkomponenten. Fra disse laves en matrice af modelprøver med forskellige sammensætninger, som dækker de

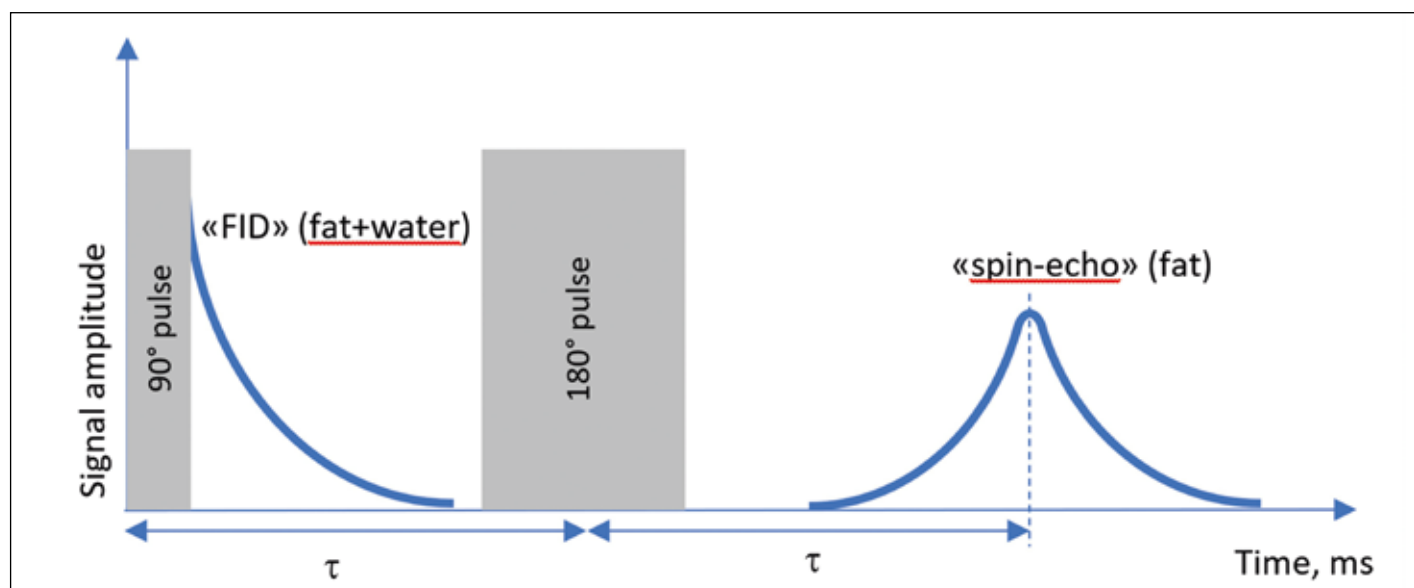
## Egenskaber, der gør TD NMR-teknikken unik i R&D og QA i foder- og fødevarerindustrien:

- Hurtig analyse (sekunder)
- Ingen prøvetilberedning
- Muligheder for helautomatiseret implementering
- Ikke-invasiv og ikke-destruktiv for prøven
- Ingen brug af kemiske opløsningsmidler
- Enkel betjening af udstyr
- Kalibreringer er lineære og stabile over tid
- Minimale vedligeholdelsesomkostninger
- Samme instrument kan bruges til forskellige applikationer
- Applikationer kan skræddersys.

forventede kombinationer af protein, fedt og vand i prøven. En multivariat model bliver derefter etableret og valideret på basis af de målte NMR-data ved hjælp af et tilegnet software, som er en del af TD NMR-systemet.

NMR-teknikkerne beskrevet her kan måle både direkte på produktet og på det emballerede produkt - plast og papir er "usynlige" for NMR. Dette gør, at TD NMR-teknikken er egnet til stikprøvekontrol af færdige, emballerede produkter ved både produktion og distribution.

E-mail:  
Emil Veliyulin: [emil@samsi.no](mailto:emil@samsi.no)



Figur 4. Spin-ekko NMR-sekvens.