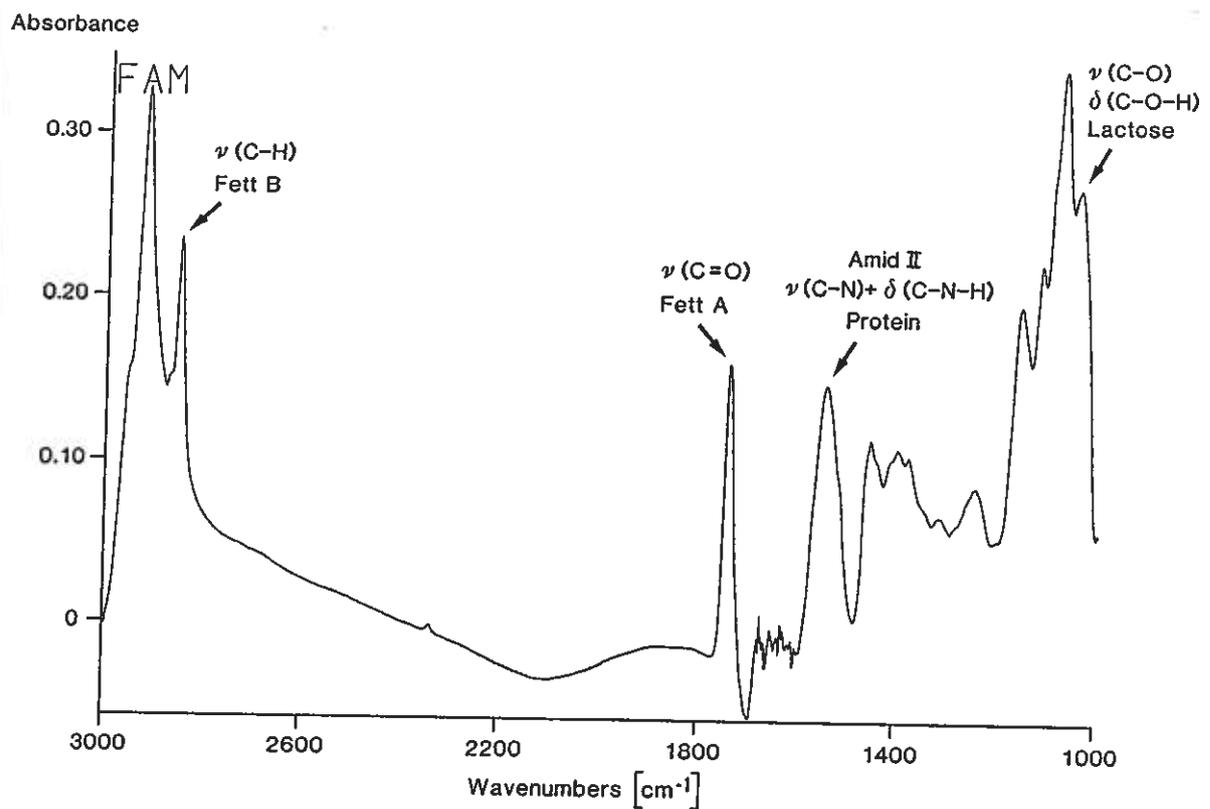


August 1992 / 253 W

Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld-Bern

FT-IR Spektrometrie - Eine Analysenmethode auch für die Milchwirtschaft?

W. Luginbühl und H. Eyer



FT-IR Spektrometrie

Eine Analysenmethode auch für die Milchwirtschaft?

Einleitung

Die quantitative Bestimmung der Hauptinhaltsstoffe von Milch mittels eines kommerziellen infrarot(IR)-Gitterspektrometers (IRMA) wurde 1964 von Goulden [1] beschrieben. Die Annahme dieser Methode durch die AOAC (Association of Official Analytical Chemists) [2] führte zur Einführung mehrerer speziell zum Zwecke der Milchanalyse entwickelten IR-Geräte [3]. Diese neueren Milchanalysatoren beruhen jedoch nicht auf dem Prinzip der Gitter- oder Prismenmonochromatoren, sondern arbeiten mit optischen Filtern, deren Transmissionsbereich für die Milchanalyse optimiert sind.

Diese Filterspektrometer sind heute in mittleren und grossen Kontrollaboratorien der Milchbranche beinahe unverzichtbar für die Bestimmung der Fett-, Protein- und Lactosegehalte in flüssigen Milchprodukten.

Die optischen IR-Filter haben den Nachteil, dass nur die Absorptionsbereiche obgenannter Inhaltsstoffe einer Messung zugänglich sind; die Aufnahme ganzer Absorptionsspektren ist nicht möglich. Um die gesamte physikalisch-chemische Information eines IR-Spektrums zu nutzen, müssen leistungsfähigere Spektrometer eingesetzt werden.

Die einzige rasche Methode zur Aufnahme qualitativ hochwertiger IR-Spektren ist die Fourier-Transform IR-Spektrometrie (FT-IR) [4, 5]. Im Gegensatz zu den Monochromatorgeräten, die ohne zusätzliche Hilfsmittel betrieben werden können, sind FT-IR Spektrometer stets mit einem Computer verbunden. Dies verhinderte lange Zeit die Anwendung dieser Methode ausserhalb des Bereichs finanziell gut dotierter Forschungs- und Entwicklungsprojekte.

Diese Situation hat sich in neuester Zeit wesentlich geändert; die Entwicklung preiswerter Kleincomputer und Programme führte zu einer bemerkenswerten Erweiterung der Anwendungsbereiche in Forschung, Entwicklung und Analytik [4, 6, 7].

Ohne Anspruch auf Vollständigkeit soll die vorliegende Arbeit einen Überblick über die FT-IR Spektrometrie als vielversprechendes Hilfsmittel für die Analyse von Milchprodukten geben. Zusätzlich werden die theoretischen Grundlagen der IR-Spektroskopie sowie einige Anwendungsbereiche der Filter- und Gittergeräte kurz erwähnt.

1. Einige Grundbegriffe der IR-Spektroskopie

Die Infrarotspektroskopie beruht auf der Wechselwirkung zwischen elektromagnetischer Strahlung und Materie. IR-Strahlung ist für das menschliche Auge unsichtbare *Wärmestrahlung*. Die Spektroskopiker unterteilen die Wärmestrahlung in nahes (NIR), mittleres (MIR) und fernes Infrarot (FIR).

Im MIR ($2.5 - 25 \mu\text{m}$ bzw. $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) beruht die *Absorption* von Strahlungsenergie auf der Anregung molekularer *Schwingungen* in höhere *Energiezustände*. Diese Änderungen des Schwingungszustandes chemischer Bindungen finden jedoch nur dann statt, wenn die Strahlungsenergie genau dem Energieunterschied zwischen Grund- und angeregtem Zustand entspricht. Misst man also die Absorption von Wärmestrahlung einer Substanz im MIR-Bereich in Abhängigkeit der *Wellenzahl* ν (reziproker Wert der Wellenlänge, angegeben in cm^{-1} , proportional zur Strahlungsenergie), so erhält man ein *IR-Spektrum*. Aus diesem ist ersichtlich, welche Spektralbereiche absorbiert werden; die Höhe der *Banden* ist dabei ein Mass für die Stärke der Absorption. Die Bandenlage (Wellenzahl) ist charakteristisch für die an der Absorption beteiligten Atomgruppen innerhalb eines Moleküls.

Abbildung 1. zeigt als Beispiel ein IR-Spektrum von Milch (gegen Wasser), markiert sind jene Messbereiche, die in Filterspektrometern (z. B. Milko-Scan, DairyLab u.a.) für die quantitative Milchanalytik eingesetzt werden.

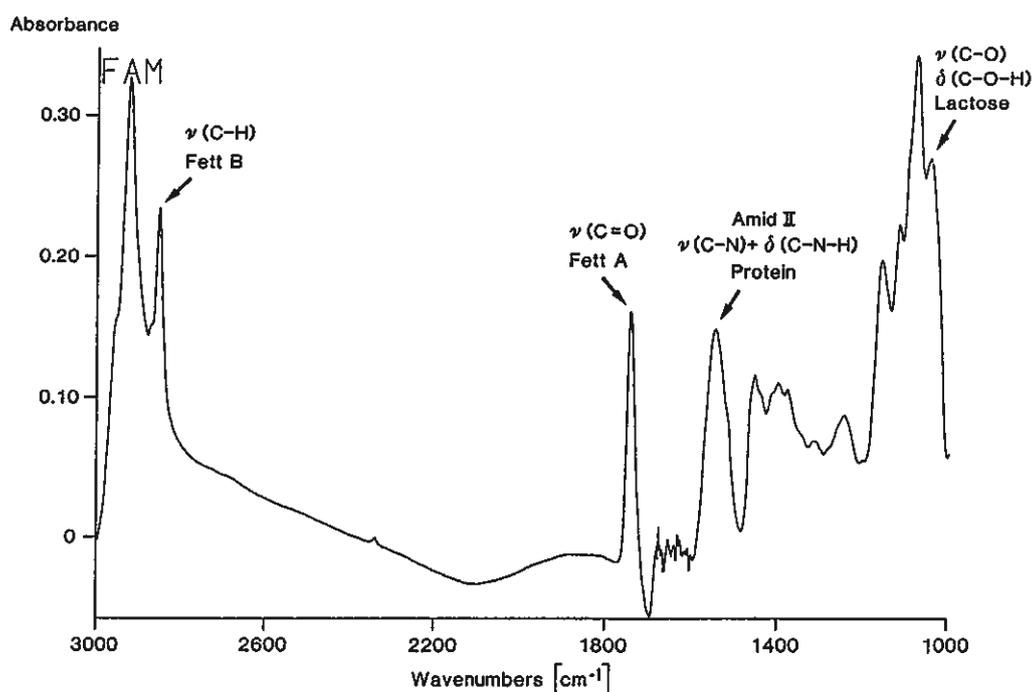


Abb.1 FT-IR Absorptionsspektrum von Rohmilch gegen Wasser. Die markierten Bereiche werden bei den Filtergeräten zur quantitativen Analyse benutzt.

2. IR-Spektrometer

Die heute gebräuchlichen *IR-Spektrometer* lassen sich in drei Typen einteilen. Dem im milchwirtschaftlichen Labor Tätigen sind am ehesten die erwähnten *Filtergeräte* vertraut. Weitverbreitet sind daneben Spektrometer mit einem Gittermonochromator und - in rasch zunehmendem Masse - die *Fourier-Transform IR-Spektrometer*.

Filtergeräte

Dieser Gerätetyp wird vor allem dann eingesetzt, wenn nur Proben mit sehr ähnlicher Grundzusammensetzung untersucht werden, wenn also bekannt ist, welche Bereiche des Spektrums die gewünschten Informationen enthalten. Die optischen Filter werden so gewählt, dass sie von der polychromatischen Strahlung einer IR-Quelle nur die interessierenden Wellenlängenbereiche auf die Probe gelangen lassen. Dementsprechend liefert ein solches Gerät *nicht* ein IR-Spektrum, sondern nur die Absorptionswerte bei den gewählten Wellenlängen.

Solche für spezifische Anwendungen "massgeschneiderte" Geräte haben sich in der Milchwirtschaft seit langem zur Schnellbestimmung von *Fett*, *Protein* und *Lactose* in Milch bewährt. Die neueren Entwicklungen auf diesem speziellen Gebiet der IR-Spektrometrie sind gut dokumentiert [8-10] und sollen hier nicht beschrieben werden.

Dispersive IR-Spektrometer

Bei diesem Gerätetyp ist - meist zwischen Probe und Detektor - ein *Gittermonochromator* angeordnet, der die polychromatische IR-Strahlung in ein kontinuierliches Spektrum auffächert. Durch Drehung des Monochromators kann das ganze IR-Spektrum "abgefahren" werden. Dies erlaubt es, die Absorption kontinuierlich über das ganze MIR zu messen, also ein IR-Spektrum aufzunehmen. Solche Geräte sind der mechanischen Teile wegen eher langsam; zur Aufnahme eines Spektrums benötigt man mehrere Minuten. Als weiterer Nachteil erweist sich die geringe Strahlungsintensität, die auf den Detektor gelangt. Dies führt zu einem für quantitative Messungen ungünstigen Signal/Rauschen - Verhältnis.

Trotz diesen Beschränkungen gab und gibt es für die dispersiven IR-Spektrometer auch im milchwissenschaftlichen Bereich vielfältige Anwendungen [11-32]; allerdings werden derartige Fragestellungen in Zukunft eher mit FT-IR Geräten bearbeitet.

Fourier-Transform IR-Spektrometer

Ein physikalisch völlig anderes Prinzip wird bei den FT-IR Spektrometern angewendet, nämlich die aus der Wellenoptik bekannte *Interferenz* elektromagnetischer Wellen. Optisches "Herzstück" jedes FT-IR Gerätes ist ein *Interferometer*, meistens in der Anordnung nach Michelson. Anhand der Abbildung 2 soll das Funktionsprinzip erläutert werden.

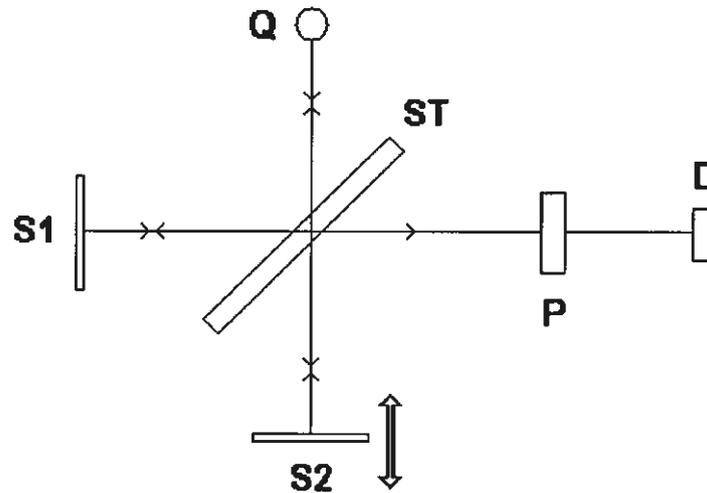


Abb. 2 Michelson-Interferometer in schematischer Darstellung.
Erläuterungen vgl. Text

Das Michelson-Interferometer besteht aus einem fixen Spiegel (S1), einem beweglichen Spiegel (S2) und einem *Strahlenteiler* (ST, z. B. KBr-Platte). Der Strahlenteiler lässt eine Hälfte der von der IR-Quelle (Q) emittierten Strahlung auf den Spiegel S1 fallen, die andere Hälfte gelangt auf den Spiegel S2. Die beiden Teilstrahlen werden zum Strahlenteiler ST reflektiert, wo sie sich wieder vereinigen und durch die Probe (P) auf den Detektor (D) treffen.

Solange sich die beiden Spiegel genau *äquidistant* zum Strahlenteiler befinden, sind alle Wellenlängen *in Phase* (konstruktive Interferenz) und der Detektor misst die gesamte Intensität der polychromatischen IR-Quelle. Wird nun der Spiegel S2 um $d/2$ verschoben, so entsteht eine *Wegdifferenz* (Gangunterschied) d zwischen den beiden Teilstrahlen. Dies führt für alle Wellenlängen zu einer *Phasenverschiebung* und damit - je nach betrachteter Wellenlänge - zu verschiedenen Formen der Interferenz: Alle Wellen, für die d ein ganzzahliges Vielfaches der Wellenlänge darstellt ($d = n \cdot \lambda$), vereinigen sich im Strahlenteiler wieder zu ihrer ursprünglichen Intensität (konstruktive Interferenz). Daneben gibt es Wellen, für welche die Wegdifferenz ein ungeradzahliges Vielfaches ihrer halben

Wellenlänge beträgt $[d = (2n+1) \cdot \lambda/2]$, so dass im Strahlenteiler Wellenberg und Wellental zusammentreffen. Solche Wellen werden ausgelöscht (destruktive Interferenz). Der grösste Teil der Strahlung erfüllt jedoch bei einem gegebenen Gangunterschied d keine der obigen Bedingungen; ihre Intensität beim Verlassen des Strahlenteilers liegt also zwischen Null und der von der Quelle emittierten Intensität. Die gesamte vom Detektor gemessene Strahlungsintensität ist daher abhängig von der Position des Spiegels S2. Trägt man diese Grössen gegeneinander auf (Intensität gegen Spiegelverschiebung), so erhält man ein *Interferogramm* der IR-Quelle, vgl. Abbildung 3.

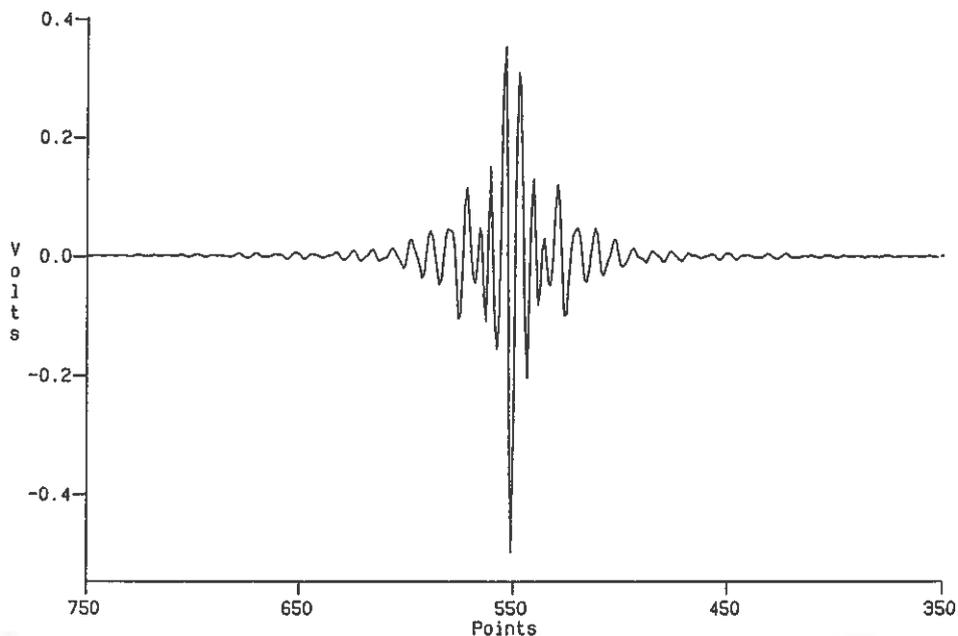


Abb. 3 Interferogramm der IR-Quelle

Eine vor dem Detektor in den Strahlengang gebrachte Substanzprobe verändert dieses Interferogramm durch die Absorption von IR-Strahlung; allerdings hat auch dieses modifizierte Interferogramm keinerlei Ähnlichkeit mit einem Spektrum. Um ein solches zu erhalten, benötigt man eine mathematische "Umwandlung", *Fourier-Transformation* genannt. Diese Transformation ist sehr aufwendig, weil zur Berechnung jedes einzelnen Punktes des Spektrums (Wellenzahl, Intensität) die Gesamtheit der Interferogramm-Messpunkte (Gangunterschied, Intensität) in die Rechnung eingeht. Dieser Umstand erklärt auch,

dass sich die FT-IR Spektrometrie parallel mit der Computertechnik entwickelte, weil nur dieses Hilfsmittel über die notwendige Rechenleistung verfügt.

Vorteile der FT-Spektrometer

FT-IR Spektrometer haben gegenüber den dispersiven Geräten wesentliche Vorteile, die sich aus der prinzipiell verschiedenen Art der Spektrenerzeugung ergeben [33]. Am wichtigsten ist der viel geringere Rauschpegel der FT-Geräte, was besonders bei quantitativen Messungen von Bedeutung ist. Durch die Absenz von Spaltblenden und dispersiven optischen Elementen gelangt sehr viel mehr IR-Strahlung auf die Probe (und damit auch zum Detektor), so dass auch extrem stark und breitbandig absorbierende Proben - z. B. wasserhaltige - noch exakt gemessen werden können. Weiter sind zu nennen : hohe Geschwindigkeit (in der Größenordnung von Sekunden, abhängig von der Anzahl akkumulierter Spektren), konstante spektrale *Auflösung* über den ganzen Bereich, ausserordentliche *Wellenlängengenauigkeit* und *-reproduzierbarkeit* durch interne Kalibration mittels Laserstrahl und, daraus folgend, problemlose *Spektrenakkumulation* zur weiteren Verringerung des Rauschpegels. Die hohe Strahlungsleistung ermöglicht die Verwendung einer Vielfalt spezieller Messtechniken [z. B. ATR (Attenuated Total Reflexion)], so dass die Probenbeschaffenheit die Anwendungsbereiche der IR Spektrometrie kaum mehr limitiert.

3. Computergestützte Anwendungen

Ein FT-IR Spektrometer erzeugt keine IR-Spektren, sondern digitalisierte Interferogramme, die jedoch die gesamte spektrale Information enthalten. Die Fourier-Transformation liefert vorerst Einstrahlspektren. Transmissions- und Absorptionsspektren $T(\nu)$ bzw. $A(\nu)$ werden nach den Gleichungen

$$T(\nu) = I_P(\nu) / I_R(\nu)$$

$$A(\nu) = -\log T(\nu) = \log [I_R(\nu) / I_P(\nu)]$$

aus den Signalintensitäten $I_P(\nu)$ und $I_R(\nu)$ eines Proben- und eines Referenzeinstrahlspektrums (z. B. Milch- und Wasserspektrum) berechnet. Für die *quantitative Spektrometrie* ist die Extinktion $A(\nu)$ (engl. absorbance, A) die geeignete Grösse, weil diese gemäss dem *Lambert-Beerschen Gesetz*

$$A(\nu) = d \sum \varepsilon_i(\nu) \cdot c_i$$

proportional den Konzentrationen c_i der absorbierenden Stoffe und der Schichtdicke d der Probe ist. Die Proportionalitätskonstanten $\varepsilon_i(\nu)$, die *Extinktionskoeffizienten*, können nur in ganz einfachen Fällen direkt bestimmt und zur quantitativen Analyse verwendet werden. Im allgemeinen umgeht man dies durch eine *Kalibration* des Gerätes, wie dies auch bei den bekannten Filtergeräten vor der Analyse notwendig ist.

Quantitative FT-IR Spektrometrie

Kalibration und Mehrkomponentenanalyse

Die Qualität einer *Mehrstoffanalyse* mittels IR-Spektrometrie steht und fällt mit der Sorgfalt, mit der die Kalibration ausgeführt wird.

Eine Kalibration erstellen bedeutet, zwischen der Variabilität der chemischen Zusammensetzung mehrerer Proben eines bestimmten Produkts und der Variabilität der IR-Absorptionsspektren dieser Proben einen mathematisch definierbaren Zusammenhang zu bestimmen. Zu diesem Zweck werden die Kalibrationsproben, die den ganzen zu erwartenden Konzentrationsbereich der einzelnen Komponenten repräsentieren sollen, einerseits mittels chemischer Standardmethoden analysiert, andererseits werden die IR-Absorptionsspektren dieser Proben aufgenommen. Zur Berechnung der mathematischen Funktion, welche den Zusammenhang zwischen den Konzentrationen und Absorptionswerten beschreibt, gibt es verschiedene Verfahren [34]. All diese *Kalibrationsalgorithmen* sind sehr rechenintensiv und ohne

Computer nicht zu bewältigen. Auf eine nähere Beschreibung soll hier verzichtet werden. Obwohl jedes dieser Verfahren auf dem einfachen Lambert-Beerschen Gesetz beruht, können sie nur mit den Methoden der Matrizenrechnung formuliert werden.

Ist die Kalibration erfolgt, so kann die FT-IR Spektrometrie als *Sekundärmethode* zur Bestimmung der Produktzusammensetzung routinemässig eingesetzt werden. Solche FT-IR spektrometrischen Mehrkomponentenanalysen sind auch in der Lebensmittelindustrie zunehmend verbreitet [6, 7, 35, 36].

Die Bestimmung der Hauptkomponenten (Minorkomponenten können nach einer Anreicherung oder Isolierung auch bestimmt werden) ist nicht die einzige Anwendung der quantitativen FT-IR Spektrometrie. Die hohe Geschwindigkeit, mit der die Spektren aufgenommen werden können, erlaubt es, zeitabhängige chemisch-physikalische Veränderungen einer Probe zu verfolgen, also *kinetische* Messungen vorzunehmen.

Qualitative FT-IR Spektrometrie

Die unmittelbar ersichtliche Information, die ein IR-Spektrum enthält, ist qualitativer Art. Wie eingangs erwähnt, ist jede IR-Bande charakteristisch für bestimmte *Atomgruppen* (vor allem funktionelle Gruppen) innerhalb eines Moleküls. Ein IR-Spektrum einer bestimmten Reinsubstanz ist deshalb sehr gut zur *Identifikation* der chemischen Konstitution geeignet. Durch die hervorragende Wellenzahlgenauigkeit und -reproduzierbarkeit von FT-IR Spektren können solche Identifikationen mit Hilfe gespeicherter Spektrenkataloge sehr viel zuverlässiger vorgenommen werden als früher. Mit den gleichen Verfahren können auch Spektren von Industrieprodukten, deren Zusammensetzung nur innerhalb enger Grenzen variiert, mit gespeicherten Standardspektren verglichen werden. Diese Anwendung zur *Produktidentifikation* wird in verschiedenen Branchen zur *Qualitätskontrolle* und -*sicherung* eingesetzt [37-39]; auch in der Lebensmittelindustrie wird von dieser Möglichkeit Gebrauch gemacht [40, 41]. Durch die Entwicklung von *IR-Lichtleitfasern* sind heute auch in-line *Prozesskontrollen* realisierbar [42].

Qualitative Anwendungen der IR-Spektroskopie, die nicht im oben erwähnten Masse computerisierbar sind, gibt es ausserordentlich viele [39]; der Vorteil der FT-IR Methode liegt dort vor allem in der Geschwindigkeit der Spektrenaufnahme, -speicherung und -manipulation. Dies erlaubt dem Spektroskopiker die maximale Nutzung der in einem IR-Spektrum enthaltenen Informationen.

4. FT-IR Spektrometrie von Milch und Milchprodukten Routineanalytik von Milch mittels FT-IR?

Obwohl FT-IR Spektrometer durchaus für *Routineanalysen* einsetzbar sind, ist kaum zu erwarten, dass in den milchwirtschaftlichen Kontrolllaboratorien die FT-IR Forschungsgeräte Einzug halten werden. Die Tatsache, dass sich milchwirtschaftliche Forschungsinstitutionen erst seit kurzer Zeit mit der quantitativen FT-IR Milchanalytik beschäftigen oder gerade damit beginnen (FAM), zeigt auch, dass gegenüber den Filtergeräten ein Erfahrungsrückstand von über zwanzig Jahren besteht. Nicht auszuschliessen ist jedoch die Entwicklung spezieller FT-IR Milchanalytoren, ähnlich jenen, wie sie für die Qualitätskontrolle von Motorenölen bereits eingesetzt werden [36].

Eine andere Beurteilung bezüglich der quantitativen FT-IR Analytik ergibt sich für die milchwissenschaftliche *Forschung* und *Entwicklung*. In diesem Bereich können die grossen Vorteile der rechnergestützten FT-Spektrometrie voll genutzt werden, weil der *Probendurchsatz* nicht im Vordergrund steht (s. unten).

Anwendungen in Forschung, Entwicklung und Produktion - Rückblick und Ausblick

Da die FT-IR Spektroskopie bis vor kurzem praktisch nur in der Forschung eingesetzt wurde, sind die wenigen FT-IR Studien, die über Milch, Milchprodukte und Milchinhaltstoffe publiziert wurden, fast ausschliesslich der Grundlagenforschung gewidmet [43-48]. All diese Arbeiten befassen sich mit qualitativen Aspekten, vorwiegend auf dem Gebiet der Proteinchemie. Zur *quantitativen* FT-IR Spektrometrie von Milch im MIR gibt es bis jetzt nur sehr wenige publizierte Arbeiten. Mendenhall et al. [49] haben Spektralbereiche ermittelt (aber nicht angegeben), die sich einerseits zur Kalibration des Fett-, Protein- und Lactosegehaltes eignen, andererseits nicht auf lipolytische Veränderungen der Milch ansprechen sollen. Richardson et al. [50] beschrieben eine Gerätekonfiguration zur Erfassung verschiedener Qualitätskriterien von Milch. Zur quantitativen Bestimmung von Fett, Protein und Lactose wurde nur ein sehr kleiner Spektralbereich verwendet (7.79 - 9.09 μm bzw. 1280 - 1100 cm^{-1}), ein Kalibrationsalgorithmus wurde nicht angegeben. Die Aussagen, dass weder eine Homogenisation der Milch noch eine Thermostatisierung der Messzelle erforderlich sei, sind eher fragwürdig (vgl. z. B. [28, 51]). Die geringe Zahl von veröffentlichten Arbeiten auf dem Gebiet der milchwissenschaftlichen Anwendung der FT-IR Spektroskopie ist indessen nicht ein Indiz für mangelnde Eignung dieser Methode, sondern vielmehr durch die hohen Gerätekosten bedingt, die noch bis vor kurzem eine weite Verbreitung der FT-IR Spektrometer verhinderte. Dies erkennt man vor allem an der beträchtlichen Zahl

milchwissenschaftlicher Fragestellungen, die mit den früher wesentlich preiswerteren Gitterspektrometern bearbeitet wurden. Im Abschnitt über dispersive IR-Spektrometer wurden diese Arbeiten kurz erwähnt; hier sei bloss bemerkt, dass diese Studien heute eher mittels FT-IR Geräten ausgeführt würden.

Die *zukünftigen* Anwendungsmöglichkeiten der rechnergestützten FT-IR Spektrometrie im milchwirtschaftlichen Bereich sind - wie in anderen Branchen - äusserst vielfältig. Im Folgenden sollen einige dieser Möglichkeiten beschrieben werden.

a) *FT-IR Spektrometrie als sekundäre Analysenmethode*

Im Bereich der Forschung und Entwicklung ist es eher selten, dass über längere Zeit eine grosse Anzahl von Proben eines wohldefinierten Milchprodukts routinemässig analysiert werden muss. Meistens sind die F + E Projekte zeitlich befristet und die zur chemischen Analyse gelangende Probenzahl wird - oft durch die nicht beliebig erweiterbare Kapazität des chemisch-analytischen Labors begrenzt - möglichst tief gehalten. Die quantitative FT-IR Spektrometrie kann zu einer Verringerung des chemisch-analytischen Aufwandes beitragen, weil nur die Kalibrationsproben chemisch analysiert werden müssen. Beispiel: Bei einem Projekt fallen während zehn Tagen jeden Morgen zehn Milchproben an, die auf mehrere Inhaltsstoffe zu untersuchen sind. Anstatt diese hundert Proben chemisch zu analysieren, wird von jeder Probe ein IR-Spektrum aufgenommen und gespeichert. Anhand der Spektren werden jeden Tag zwei oder drei der Proben als Kalibrationsproben ausgewählt und chemisch analysiert. Nach Abschluss des Versuchs wird anhand der zwanzig oder dreissig Kalibrationsspektren und der zugehörigen Analysenwerte eine Kalibration erstellt, worauf die restlichen Spektren quantitativ ausgewertet werden können. Ein solches Vorgehen - nachträgliche Kalibration und Spektrenauswertung - führt nicht nur zu einer Entlastung des chemisch-analytischen Labors, sondern ist auch ökologisch vorteilhaft, weil der Chemikalienverbrauch drastisch reduziert werden kann. Die dem Gebrauch der Filtergeräte entsprechende Verwendung - Erstellung der Kalibration für ein Produkt vor der Probenmessung - ist dann angezeigt, wenn das FT-IR Gerät auch kontinuierlich zur routinemässigen Analyse dieses Produkts eingesetzt wird. Dies erfordert eine systematische Überprüfung und Aktualisierung (Pflege) der Kalibration mit chemisch analysierten Referenzproben. Der Einsatz der FT-IR Spektrometrie als sekundäre Analysenmethode eignet sich vor allem für die Bestimmung von Hauptkomponenten eines Produkts. Sollen Minorkomponenten analysiert werden, so ist vorgängig eine Isolierung oder Anreicherung notwendig.

b) Studium zeitabhängiger Veränderungen - Kinetik

Chemische, biochemische oder physikalische Vorgänge, die ein Milchprodukt verändern, gehen stets einher mit intra- oder intermolekularen Veränderungen der Inhaltsstoffe und können daher mittels IR-Spektrometrie verfolgt werden. Sehr oft stellt sich die Frage, wie die *Geschwindigkeit* solcher Prozesse von Parametern wie Temperatur, Konzentration der Inhaltsstoffe, Lagerungsbedingungen, Verarbeitungsart usw. beeinflusst wird. Die FT-IR Spektrometrie kann bei solchen kinetischen Untersuchungen sehr nützlich sein, weil sowohl relativ rasche (in der Grössenordnung von Minuten ablaufende), als auch sehr langsame Reaktionen gemessen werden können, indem periodisch Spektren des sich verändernden Produkts aufgenommen werden. Als Beispiele seien genannt: Lipolyse, Proteolyse, Fermentationsverlauf und Reifung, Kristallisation, Koagulation, Synärese... Die in Form von Spektrenserien gesammelten Daten können sowohl quantitative - mittels einer entsprechenden Kalibration - als auch qualitative Informationen bezüglich der beteiligten Substanzen und deren zeitabhängigen Verhalten liefern.

c) Indirekte Messung von Produkteigenschaften

Sämtliche Eigenschaften eines Milchproduktes sind letztlich durch die physikalisch-chemischen Gegebenheiten bestimmt, d. h. durch die Konzentration der Inhaltsstoffe, deren gegenseitigen *Wechselwirkungen* und räumlichen Verteilungen, sowie des physikalischen Zustandes der einzelnen Komponenten. Die Variabilität von Produkteigenschaften (z. B. Dichte, Gefrierpunkt, Viskosität, Brechungsindex, kalorische und sensorische Eigenschaften...) hängt daher in komplizierter Weise mit der Variabilität der physikalisch-chemischen Beschaffenheit auf mikroskopischem, submikroskopischem und molekularem Niveau zusammen. In diesem Sinne ist auch ein IR-Spektrum eine *individuelle Eigenschaft* jeder Probe, weil das Erscheinungsbild des Spektrums im Detail durch dieselben Parameter beeinflusst wird, wie die erwähnten Produkteigenschaften.

Wenn also Produkteigenschaften und Spektren verschiedener Proben aus demselben Grund variieren, *muss* ein Zusammenhang zwischen der Differenz der Spektren und der Differenz der Eigenschaften existieren. Falls dieser Zusammenhang der Differenzen innerhalb des interessierenden Bereichs der Produkteigenschaft linear ist - oder sich linearisieren lässt - so kann diese Eigenschaft wie eine Stoffkonzentration betrachtet und mittels der auf dem Lambert-Beerschen Gesetz beruhenden Algorithmen kalibriert werden. Wenn der Zusammenhang nicht linear ist, sich jedoch in Form von Näherungsgleichungen mathematisch beschreiben lässt, kann die Kalibration anhand spezifischer Programme erfolgen. So betrachtet ist jede zahlenmässig erfassbare Eigenschaft eines Milchprodukts kalibrierbar und damit indirekt messbar, *sofern* Spektralbereiche

gefunden werden, welche in genügendem Masse und in mathematisch darstellbarer Form mit der betrachteten Eigenschaft variieren.

d) Weitere Möglichkeiten der FT-IR Spektrometrie

Eine vollständige Beschreibung aller denkbaren Anwendungen der FT-IR Spektrometrie in der milchwirtschaftlichen Forschung, Entwicklung und Produktion ist nicht möglich. Hier sollen nur noch einige, den Verfassern wichtig erscheinende Applikationsmöglichkeiten kurz erwähnt werden.

- Systematische Erfassung der Parameter, welche die Fett-, Protein- und Lactosebestimmungen in Milch beeinflussen (z. B. Fütterung, Jahreszeit, Rasse, Laktationsstadium...) und dementsprechend bei der Kalibration - *auch bei Filtergeräten* - zu berücksichtigen sind.
- Entwicklung von Analysemethoden, die mit *Filtergeräten* ausführbar sind: Dies betrifft die Bestimmung von Inhalts- oder Zusatzstoffen von Milchprodukten, welche im Messbereich der Filter absorbieren (Proteinfraktionen, Fette und andere Ester, Fettsäuren, Carbonsäuren, Kohlenhydrate...). Im Gegensatz zu den obigen Anwendungen a)-c) sind hier Analysen gemeint, welche einer *Probenvorbereitung* bedürfen. Die zu bestimmenden Substanzen müssen mindestens feindispers oder gelöst und in genügender Konzentration vorliegen.
- Qualitative Erfassung von Stoff- und Produktveränderungen durch Verarbeitungsprozesse, z. B. thermische Denaturierung von Proteinen.
- Differenzspektroskopische Qualitätskontrolle: Durch Vorgabe von Toleranzgrenzen für die Differenz zwischen einem Referenz- und den Probenspektren können Qualitätsänderungen von Roh-, Zwischen- und Endprodukten, sowie von Verarbeitungsprozessen rasch erkannt werden.
- Gekoppelte Analysetechniken (GC-IR, IR-Mikroskopie, HPLC-IR, TGA-IR u. a.) können auch im milchwissenschaftlichen Labor zur Lösung vielfältiger Fragestellungen beitragen.
- Qualitative oder quantitative on-line bzw. in-line Produkte- und Prozesskontrolle. Bei entsprechendem Aufwand ist auch eine Prozesssteuerung oder -regelung denkbar. Dies ist vor allem im Hinblick auf computerunterstützte Fabrikationsabläufe (CIM) von Interesse [31].

5. Zusammenfassung

Die quantitative Infrarotspektrometrie mittels niedrigauflösenden Filtergeräten wird in der Milchwirtschaft seit langem zur Bestimmung der Hauptkomponenten von Milch und Milchprodukten eingesetzt und hat sich für die Routineanalytik bewährt.

Die hochauflösende Fourier-Transform IR-Spektrometrie hingegen war noch bis vor kurzem - zumindest im Lebensmittelbereich - eine eher exklusive und teure Forschungsmethode. Die Entwicklung günstigerer FT-Spektrometer, sowie leistungsfähiger Algorithmen zur quantitativen Auswertung von IR-Spektren hat dazu geführt, dass die FT-IR Spektrometrie zunehmend auch für die Lebensmittelanalytik interessant wird. Obwohl sich die rechnergestützte FT-IR Spektrometrie von Milch und Milchprodukten noch in der ersten Entwicklungsphase befindet, sind jetzt schon vielfältige Anwendungsmöglichkeiten absehbar. Das Hauptgewicht wird dabei weniger in der Routineanalytik liegen, als vielmehr in der Entwicklung und angewandten Forschung. Der on-line Einsatz zur Prozessüberwachung mittels IR-Lichtleitfasertechnik könnte die FT-IR Spektrometrie zu einem wichtigen Bestandteil der computerintegrierten Produktion (CIM) in der Milchwirtschaft werden lassen.

Summary

Quantitative infrared (IR) spectrometry using low resolution filter instruments has long been used in dairy industry to determine the major components of milk and milk products. This method has proved to be adequate for routine analyses.

By comparison, high resolution Fourier transform (FT) IR spectrometry has up to now been a rather exclusive and expensive research method, which is only used exceptionally in the food sector. Owing to the development of cheaper FT spectrometers and high performance algorithms for quantitative evaluation of IR spectra, FT-IR spectrometry will become more and more important for food analyses. Even though computer assisted FT-IR spectrometry for the analysis of milk and milk products is still in the early stages of development, there are already many foreseeable application possibilities. This method will, however, rather be used for the development of methods and applied research than routine analysis. As on line process monitoring with the IR light conducting fibre technique, the FT-IR spectrometry may become an essential part of computer integrated manufacturing (CIM) in the dairy industry.

Résumé

Dans l'industrie laitière, la spectrométrie infrarouge (IR) quantitative à l'aide d'appareils à filtres à basse résolution s'utilise depuis longtemps pour la détermination des composants majeurs du lait et de produits laitiers. Cette méthode a fait ses preuves pour les analyses de routine.

Par contre, la spectrométrie IR de transformation de Fourier (TF) à haute résolution a été jusqu'ici une méthode plutôt exclusive et coûteuse, qui ne s'applique que rarement dans le secteur alimentaire. Grâce à la mise au point de spectromètres TF moins coûteux ainsi que d'algorithmes performants pour l'évaluation quantitative de spectres infrarouges, la spectrométrie IR-TF commence à prendre de l'importance pour l'analyse de denrées alimentaires. Bien que la spectrométrie IR-TF assistée par ordinateur et applicable au lait et aux produits laitiers se trouve encore dans la première phase de développement, on entrevoit déjà de multiples possibilités d'application. En premier lieu, cette méthode sera utilisée non pas pour des analyses de routine, mais pour la mise au point de méthodes et la recherche appliquée. Comme contrôle d'opération "on line" à l'aide de la technique IR à fibre optique, la spectrométrie IR-TF pourra devenir une partie importante de la production par ordinateur intégré (CIM) dans l'industrie laitière.

6. Literatur

1. GOULDEN, J.D.S. Analysis of milk by infra-red absorption. *Journal of Dairy Research*, **31**, 273-284 (1964)
2. BIGGS, D.A. Precision and accuracy of infrared milk analysis. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, **55**, 448-497(1972)
3. International Dairy Federation. Provisional Standard 141:1988. Whole milk. Determination of milkfat, protein and lactose content- Guide for the operation of mid-infrared instruments.
4. GRIFFITH, P.R., DE HASETH, J.A. *Fourier Transform Infrared Spectrometry*. John Wiley & Sons, New York (1986)
5. PERKINS, W.D. Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Chemical Education*, **63**, A5-A10; **64**, A269-A271, A296-A305 (1987)
6. VAN DE VOORT, F. R., ISMAIL, A. A. Proximate analysis of food by mid-FTIR spectroscopy. *Trends in Food Science & Technologie*, **2**(1), 13-17 (1991)
7. WILSON, R. H. Fourier transform mid-infrared spectroscopy for food analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, **9**, 127-131 (1990)
8. BARBANO, D. M., CLARK, J. L. Instrumental methods for measuring components of milk - Infrared milk analysis - Challenges for the future. *Journal of Dairy Science*, **72**, 1627-1636 (1989)
9. BIGGS, D. A., MCKENNA, D. Alternative methods for infrared analysis of fat in milk : Interlaboratory study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, **72**, 724-734 (1989)
10. VAN DE VOORT, F. R., ELKASHEF, A. A., MILLS, B. L. Dry calibration milks for infrared milk analyzers. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, **73**, 688-692 (1990)
11. BHANDARI, V., BALACHANDRAN, R., GUPTA, D., VARMA, S. P. Infrared studies of some ice cream constituents in a model system. *Asian Journal of Dairy Research*, **6**, 69-77 (1987)

12. CRONIN, D. A., MCKENZIE, K. A rapid method for the determination of fat in foodstuffs by infrared spectrometry. *Food Chemistry*, **35**, 39-49 (1990)
13. LUND, P., JENSEN, F. A comparison of infrared spectrophotometry and gas liquid and thin layer chromatographic methods for determination of trans fatty acids in butter. *Milchwissenschaft*, **37**, 645-647 (1982)
14. RATHFELDER, B., RUDZIK, L., WÜST, E. Schnelle Charakterisierung von Milchfetteigenschaften durch infrarotspektroskopische Methoden. *Deutsche Milchwirtschaft*, **41**, 267-269 (1990)
15. RUDZIK, L., VON ALLWÖRDEN, N. H., FELDHEIM, W. Schwingungsspektroskopische Untersuchungen an Milchfett. *Deutsche Milchwirtschaft*, **39**, 178-181 (1988)
16. RUDZIK, L., WÜST, E., VON ALLWÖRDEN, N. H. Messung der Kristallinität von Milchfett mittels Infrarotspektroskopie. *Deutsche Milchwirtschaft*, **39**, 555-561 (1988)
17. RUDZIK, L., WÜST, E., LAVEN, F.-J., MARQUARDT, U. Deconvolution am Beispiel von Infrarotspektren verschiedener Milcheiweissstoffe. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, **185**, 271-274 (1987)
18. RUDZIK, L., WÜST, E. Fettoxidation - infrarotspektroskopisch charakterisiert. *Deutsche Milchwirtschaft*, **40**, 333-337 (1989)
19. RUDZIK, L. Anmerkungen zur Bestimmung von Fett, Eiweiss und Lactose in Milch durch IR - spektrophotometrische Methoden. *Die Molkerei-Zeitung Welt der Milch*, **35**, 1321-1324 (1981)
20. RUDZIK, L. Einfluss von Fettsäurekettenlängen auf Infrarot - Absorptions-Messungen in Milch. *Die Molkerei-Zeitung Welt der Milch*, **36**, 297 (1982)
21. RUDZIK, L. Infrarotspektrophotometrie an Milch und Milchprodukten. *Die Molkerei-Zeitung Welt der Milch*, **38**, 631-634 (1984)
22. RUDZIK, L. Infrarotspektrophotometrische Charakterisierung des Reifungszustandes von Sauermilchquark und Camembert durch FMIR und NIRA (NIR). *Deutsche Milchwirtschaft*, **36**, 1097-1101 (1985)
23. RUDZIK, L. Infrarotspektroskopisches Verhalten wässriger Lactoselösungen. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, **180**, 303-305 (1985)

24. RUDZIK, L. IR - spektroskopische Möglichkeiten in der Lebensmittelindustrie - ein Ausblick. Die Molkerei-Zeitung Welt der Milch, **38**, 777-779 (1984)
25. RUDZIK, L. MIR - NIR - ein Methodenvergleich. Deutsche Milchwirtschaft, **36**, 225-228 (1985)
26. RUDZIK, L. Möglichkeiten und Grenzen infrarotspektrophotometrischer Untersuchungen (NIR / MIR) in der Milch- und Lebensmittelindustrie. Deutsche Molkereizeitung, **108**, 1090-1096 (1987)
27. RUDZIK, L. Nachweis von Produktschädigungen beim Pumpem von Milch - Versuche mit einer kavitationsgeregelten Pumpe. Deutsche Milchwirtschaft, **38**, 1211-1221 (1987)
28. RUDZIK, L., WÖBBECKE, R. Notwendigkeit der Homogenisierung bei Infrarot - Messungen in Milch. Die Molkerei-Zeitung Welt der Milch, **36**, 298, 307 (1982)
29. RÜEGG, M., BLANC, B. Die Infrarot-Spektren der Milchproteine. Schweizerische Milchwirtschaftliche Forschung, **2**, 29-36 (1973)
30. Siebert, V., Rudzik, L., Wüst, E. Berechnung von Fettsäuremustern aus MIR - Spektren. Deutsche Milchwirtschaft, **41**, 416-419 (1990)
31. WÜST, E. Was kann die IR - Spektroskopie zur Realisierung von CIM - Konzepten in der Milch- und Lebensmittelindustrie beitragen?. Deutsche Molkereizeitung, **109**, 1196-1201 (1988)
32. RÜEGG, M., METZGER, V., SUSI, H. Computer analyses of characteristic infrared bands of globular proteins. Biopolymers, **14**, 1465-1471 (1975)
33. PERKINS, W. D. Fourier transform infrared spectroscopy. Part II. Advantages of FT-IR. Journal of Chemical Education, **64**, A269-A271 (1987)
34. McCLURE, G. L. (Ed.) Computerized Quantitative Infrared Analysis, ASTM Publ. No. 934, ASTM, Philadelphia (1987)
35. AFRAN, A., NEWBERY, J. E. Analysis of the degree of unsaturation in edible oils by Fourier transform-infrared/attenuated total reflectance spectroscopy. Spectroscopy International, **3**, 39-42 (1991)

36. FULLER, M. P., GARRY, M. C., STANEK, Z. An FT-IR liquid analyzer. *American Laboratory*, **22**(15), 58, 60-62, 64-69, 72 (1990)
37. COATES, J. P., D'AGOSTINO, J. M., FRIEDMAN, C. R. Quality control analysis by infrared spectroscopy. *International Laboratory*, May 1987, 70-77; June 1987, 58-65
38. KALASINSKY, K. S. Industrial applications of vibrational spectroscopy. *Trends in Analytical Chemistry*, **9**, 83-89 (1990)
39. NYQUIST, R. A., et al. Infrared Spectrometry. *Analytical Chemistry*, **62**, 223R-255R (1990)
40. MATISSEK, R., SCHNEPEL, F.-M., STEINER, G. *Lebensmittelanalytik*, 363, Springer-Verlag, Berlin (1989)
41. RUDZIK, L. Application of infrared spectroscopic methods. In 'Rapid Methods for Analysis of Food and Food Raw Material' (Ed. Baltes, W.), 249-256, Behr's Verlag, Hamburg (1990)
42. GUMBEL, J. Infrarot-Lichtleitfasern. *Physik in unserer Zeit*, **21**, 172-174 (1990)
43. BYLER, D. M., SUSI, H. Application of computerized infrared and Raman spectroscopy to conformation studies of casein and other food proteins. *Journal of Industrial Microbiology*, **3**, 73-88 (1988)
44. BYLER, D. M., FARRELL JR., H. M. Infrared spectroscopic evidence for calcium ion interaction with carboxylate groups of casein. *Journal of Dairy Science*, **72**, 1719-1723 (1989)
45. BYLER, D. M., PURCELL, J. M. Changes in the conformation of beta-lactoglobulin upon standing in D₂O at pD 7.8: An infrared spectroscopic study. *Journal of Dairy Science*, **72**, Supplement 1, 140 (1989)
46. FARRELL JR., H. M., KUMOSINSKI, T. F., PESSEN, H., BROWN, E. M., BYLER, D. M. Symposium on the stability of proteins in dairy foods: General stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, **72**, Supplement 1, 159 (1989)
47. PARRIS, N., PURCELL, J. M. Examination of thermal denaturation of whey proteins in milk by RP-HPLC and FT-IR. *Journal of Dairy Science*, **73**, Supplement 1, 106 (1990)

48. POMMERT, J. F., KLAEBE, A., PERIE, J., LEBUGLE, A., PUECH, J. Observation and analysis of crystalline phases in processed cheese. *Journal of Food Science*, **53**, 1367-1369, 1447 (1988)

49. MENDENHALL, I. V., BROWN, R. J., GRAPPIN, R. Alternative wavelengths for infrared measurement of fat, protein, and lactose in milk. *Journal of Dairy Science*, **73**, Supplement 1, 92 (1990)

50. RICHARDSON, G. H., BROWN, R. J., YUAN, T. C. J., MENDENHALL, I. V. Combining FTIR, conductance and reflective colorimetry for simultaneous estimation of milk components, abnormal milk, microbial and antibiotic contents in raw milk. XXIII. Internat. Dairy Congress Montreal, Proceedings Vol. 2, 1306-1309 (1990)

51. MARQUARDT, U., RUDZIK, L., WÜST, E. Problematik der NIR - Kalibrierungserstellung. *Deutsche Milchwirtschaft*, **40**, 470-473 (1989)