

Matas Baltrėnas
ALYVUOGIŲ ALIEJAUS KLASTOČIŲ TYRIMAS RAMANO SKLAIDOS
SPEKTROMETRIJOS METODU

Pagrindinių studijų baigiamasis darbas

Taikomosios fizikos
studijų programa

Studentas

Matas Baltrėnas

Leista gintis

2018 – 05 – 25

Darbo vadovas

doc. Justinas Čeponkus

Konsultantė

dokt. Rasa Platakytė

Instituto direktorius

prof. Valdas Šablinskas

Vilnius 2018

Turinys

Ivadas	3
1. Literatūros apžvalga	4
1.1 Molekulių virpesinė spektrometrija	4
1.2 Infraraudonosios spinduliuotės sugerties spektrometrija	5
1.3 Furjė vaizdavimas infraraudonojoje spektrometrijoje (FT-IR)	6
1.4 Pažeistojo visiško vidaus atspindžio (ATR - attenuated total reflection) metodas	7
1.5 Ramano sklaidos spektrometrija	7
1.6 Spektrinių duomenų apdorojimas	10
1.7 Virpesinės spektrometrijos metodų taikymai aliejų kokybės tyrimams	11
2 Eksperimentinė dalis	12
2.1 Bandinių paruošimo metodika	12
2.2 Spektrų registravimo metodika	12
2.3 Rezultatai	13
Pagrindiniai rezultatai ir išvados	24
Literatūra	25
Santrauka	27
Summary	28

Įvadas

Alyvuogių aliejus, kilęs iš Viduržemio jūros kraštų, pripažintas ir gausiai vartojamas visame pasaulyje. Ypač tyras alyvuogių aliejus (angl. extra virgin olive oil – EVOO), pasižymintis stipriu aromatu bei turintis naudingų maistinių medžiagų, turi didelę paklausą pasaulinėje rinkoje. EVOO išspaudžiami be specialaus terminio ar cheminio apdorojimo, taip išsaugant jų kokybę. Alyvuogių aliejų kokybė vertinama pagal jų rūgštingumą. Kuo mažesnis rūgštingumas, tuo daugiau yra polifenolių, natūralių antioksidantų aliejuje. EVOO jau daugybę metų vertinamas kaip sveikatingumą gerinanti priemonė, dėl to jo kaina didesnė nei sėklinių aliejų. EVOO dažnai maišomas su pigesniais, prastesnės kokybės ar kitų rūšių (įvairių sėklų) aliejais ir toks aliejų mišinys yra parduodamas su EVOO etikete [1]. Atliktuose tyrimuose nustatyta, kad nėra vieno efektyvaus ir paprasto metodo, kuris galėtų būtų naudojamas aliejų klastočių identifikavimui. Didžioji dalis atliktų tyrimų buvo orientuoti į kepimo aliejų žalą žmogaus sveikatai [1, 2]. Kokybės tyrimams atlikti naudojami įvairūs metodai (pvz. chromatografija), tačiau ieškoma praktiškesnių, greitesnių analizės būdų [3]. Ypač patrauklūs metodai yra tie, kuriuos galima naudoti tiesiogiai prekybos ar sandėliavimo vietoje bei nepažeidžiant gaminio pakuotės.

Virpesinė spektrometrija leidžia atlikti tiek kokybinius, tiek kiekybinius bandinių tyrimus. Spektrometrijos metodai vis dažniau taikomi, nes pasižymi greitu, nedestruktyviu, sąlyginai pigiu bei nesudėtingu matavimo procesu. Ramano virpesinė spektrometrija vis dažniau pritaikoma žemės ūkio, maisto, biomedicinos ir kitose srityse [4-6]. Iš trijų spektrometrijos metodų: artimosios infraraudonosios spinduliuotės (NIR) sugerties, Furjė vaizdavimo infraraudonosios spinduliuotės (FT-IR) sugerties bei Furjė vaizdavimo Ramano (FT-Raman) sklaidos, tiriant lipidų struktūras maisto produktuose, tinkamiausiais pripažinti FT-IR bei FT-Raman metodai [7]. Taigi, manoma, jog FT-IR ar FT-Raman metodas gali padėti išspręsti aliejų klastočių tyrimo problemą.

Darbo tikslas – Nustatyti virpesinės spektrometrijos metodų taikymo galimybės alyvuogių aliejų klastočių tyrimui.

Darbo užduotys:

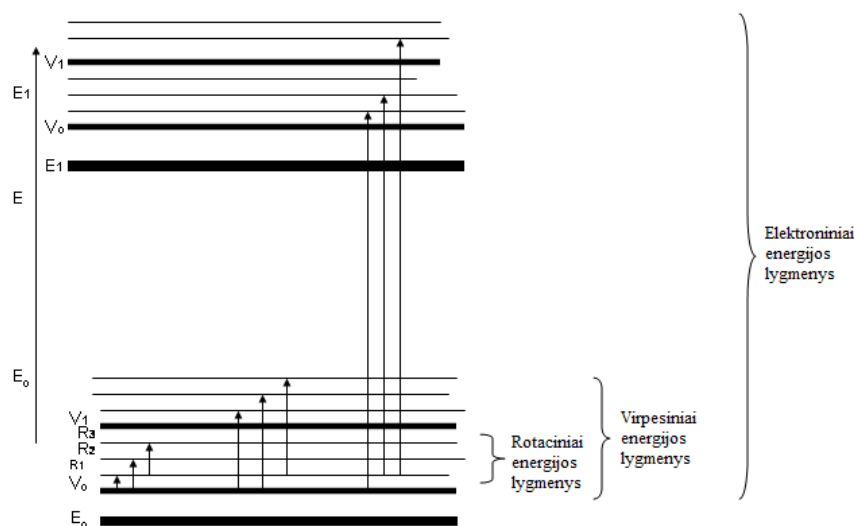
1. Užregistruoti EVOO ir saulėgrąžų aliejų spektrus naudojant FT-IR sugerties spektrometrą su pažeistojo vidaus atspindžio (angl. attenuated total reflection - ATR) technika.
2. Užregistruoti EVOO, saulėgrąžų ir rapsų aliejų spektrus naudojant FT-Raman sklaidos spektrometrą.
3. Užregistruoti EVOO ir saulėgrąžų bei EVOO ir rapsų aliejų mišinių spektrus naudojant FT-Raman sklaidos spektrometrą.
4. Atlikti spektrų, užregistruotų skirtingomis matavimo metodikomis, analizę bei panaudoti gautą informaciją aliejų kokybės identifikavimui.
5. Užregistruoti EVOO virpesinius spektrus, nepažeidžiant bandinio pakuotės.

1. Literatūros apžvalga

1.1 Molekulių virpesinė spektrometrija

Molekulių tyrimams gali būti naudojami įvairūs spektrometriniai metodai [8]. Visų spektrometrijos metodų veikimo principas yra pagrįstas elektromagnetinės (EM) spinduliuotės sąveika su medžiaga. Informacija apie tiriamą objektą gaunama paveikiant jį elektromagnetine spinduliuote. Dažniausiai stebima praėjusi pro bandinį spinduliuotė (sugerties spektrometrija) arba surenkant bandinio išsklaidytą spinduliuotę (sklaidos spektrometrija).

Elektromagnetinė spinduliuotė, sąveikaudama su medžiagos molekulėmis, suteikia joms energijos – kitaip tariant, vyksta šuoliai iš pagrindinio lygmens į sužadintąjį. Molekulėje galimi trijų skirtingų tipų sužadinimo lygmenys: elektroninių, virpesinių bei rotacinių lygmenų sužadinimai (1 pav.). Kiekvienas lygmenų sužadinimas atitinka skirtingas spektrometrijos sritis – virpesinę, rotacinę, elektroninę. Didžiausios energijos fotonai reikalingi elektroninei spektrometrijai. Šuoliams tarp elektroninių lygmenų sužadinti naudojama ultravioletinės ar regimosios srities spinduliuotė. Kiekvieną elektroninį lygmenį galima išskirti į virpesinius sužadinimo lygmenis. Molekulės virpesiniai lygmenys sužadinami naudojant infraraudonosios srities spinduliuotę. Virpesiniai lygmenys skaidomi į dar mažesnės energijos – rotacinius sužadinimo lygmenis. Rotacinių lygmenų sužadinimui naudojama mikrobangė ar tolimoji infraraudonoji spinduliuotė.

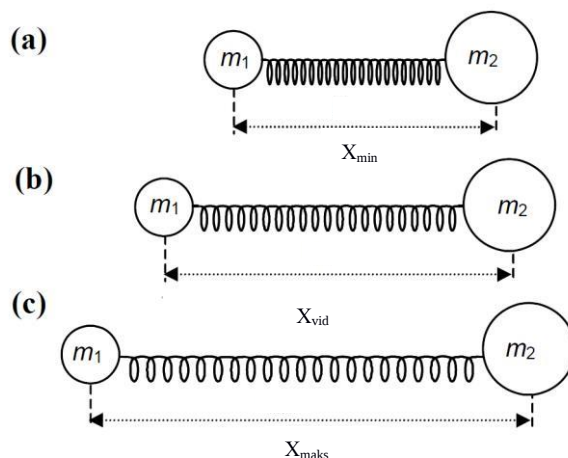


1 pav. Rotacinių, virpesinių ir elektroninių energijų lygmenų sužadinimo schema.

Virpesiai gali būti aprašomi kaip tarpatominės jungties ilgio ar kampo tarp atomų periodinis keitimasis. Klasikinis dviatomės molekulės valentinio virpesio pavyzdys: atomai, sujungti chemine jungtimi, periodiškai judantys vienas kito atžvilgiu. Periodiškai keičiantis atstumui tarp atomų, vyksta valentiniai virpesiai. Tada molekulės virpėjimą galima aprašyti Huko dėsnio (2 pav.):

$$F = -kx, \quad (1)$$

kur F – jėga, grąžinanti kūnus į pradinę padėtį, k – cheminio ryšio jėgos konstanta, o x – atstumo pokytis tarp atomų.



2 pav. Tarpatominio ryšio nagrinėjimas, taikant spyruoklės analogiją. Iš m_1 ir m_2 masių atomų sudarytos molekulės valentinis virpesys; (a) ir (c) – atomų kraštinės padėtys; (b) – pusiausvyros padėtis.

Virpesinė spektrometrija apibūdina du eksperimentinius metodus – infraraudonosios spinduliuotės (IR) sugerties bei Ramano sklaidos spektrometrijas. Tiek IR sugerties, tiek Ramano sklaidos metodai yra nedestruktyvūs, todėl išsaugoma nepakitusi molekulės struktūra ir gaunama informacija apie molekulę. Skirtingų molekulių virpesiai ar virpesių dažnis yra skirtingi. Kadangi virpesinės spektrometrijos metodais galima užregistruoti ir identifikuoti molekulių virpesius jie gali būti taikomi įvairių medžiagų tyrimams moksle ir pramonėje, tarp jų ir maisto kokybės kontrolei bei klastočių tyrimams.

1.2 Infraraudonosios spinduliuotės sugerties spektrometrija

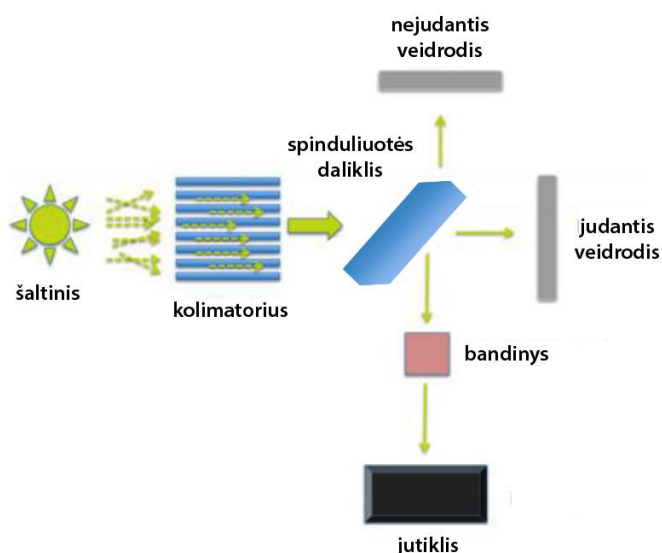
Norint užregistruoti spinduliavimo spektrus, reikalingas aukštesnių virpesinių lygmenų sužadınimas termiškai, tačiau toks sužadınimas gali sukelti disociaciją molekulėje. Dėl to, tiriant molekulių virpesius, dažniausiai registruojami sugerties spektrai. Spektrus gauname apskaičiavus intensyvumo santykį tarp kritusios į bandinį bei praėjusios pro bandinį spinduliuotės.

Infraraudonosios spinduliuotės sugerties spektrometrijoje sužadinti molekulės virpesinius energijos lygmenis naudojamas IR šaltinis, kuris spinduliuoja polichromatinę šviesą. Molekulei pereinant iš vieno virpesinio lygmens į kitą, vyksta EM spinduliuotės sugertis ar spinduliavimas. Išspinduliuotų ar sugertų kvantų energija lygi energijos lygmenų, tarp kurių vyksta

šuoelis, skirtumui. Taip pat, IR spektruose aktyvūs yra tie šuoeliai, kuriems vykstant keičiasi molekulės dipolinis momentas. Susijungus skirtingiems atomams, vyksta krūvių pasiskirstymas, kadangi skiriasi atomų elektroneigiamumas. Dipolinio momento dydis priklauso nuo skirtumo tarp atomų elektroneigiamumo bei jungties ilgio tarp atomų. Molekulei sukantis ar virpant, stebimas molekulės dipolinio momento pokytis.

1.3 Furjė vaizdavimas infraraudonojoje spektrometrijoje (FT-IR)

Furjė spektrofotometrų veikimo principas pagrįstas interferencijos reiškiniu. Dėl to pagrindinė sudedamoji Furjė spektrofotometro dalis – interferometras. Dažniausiai naudojamas interferometras – Maikelsono interferometras (3 pav.).



3 pav. Maikelsono interferometro principinė schema.

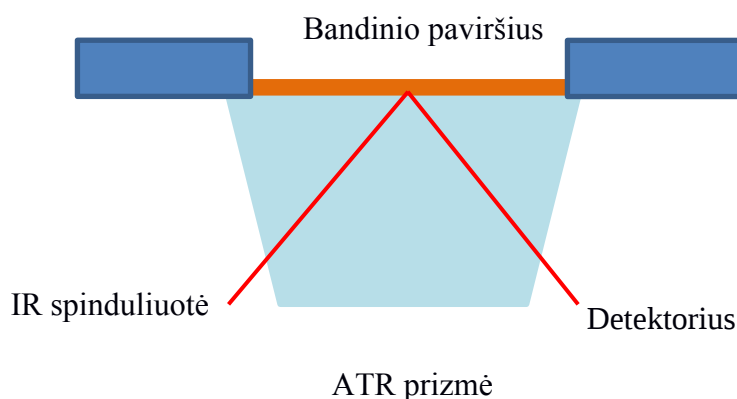
Maikelsono interferometro veikimo principas: iš šaltinio, spinduliuojama elektromagnetinė spinduliuotė, kuri patenka į kolimatorių. Kolimatoriuje spindulių pluoštas paverčiamas lygiagrečiais spinduliais, kurie keliauja į spinduliuotės daliklį. Daliklis spinduliuotę paskirsto į du lygius spindulių pluoštus. Vieną pluoštą nukreipia 90° kampu į nejudantį veidrodį. Kitą dalį spinduliuotės daliklis praleidžia į mechaniškai judantį veidrodį. Keičiant judančio veidrodžio padėtį yra sukuriamas bangos eigos skirtumas, nuo kurio priklauso interferencijos sąlyga. Spinduliai, atspindėję nuo veidrodžių, sugrįžta į spinduliuotės daliklį ir ten vyksta jų interferencija. Įvykus interferencijai, spinduliuotė keliauja per bandinį, kuriame tam tikros jos komponentės yra sugeriamos ir bandinį praėjusi spinduliuotė patenka į jutiklį. Kompiuteris apdoroja gautą informaciją, atliekant Furjė vaizdavimo algoritmą. Furjė vaizdavimas – tai matematinis algoritmas, kuris konvertuoja spinduliuotės priklausomybę nuo laiko į jos

priklausomybę nuo dažnio. Kitaip tariant, atlikus skaičiavimus kompiuteriu, galime gautą interferogramą konvertuoti į IR sugerties spektrą.

1.4 Pažeistojo visiško vidaus atspindžio (ATR) metodas

Pažeistojo visiško vidaus atspindžio metodas naudojamas IR sugerties spektrometrijoje. Šio metodo pagalba galima tirti medžiagas, joms esant tiek skystos, tiek kietos agregatinės būsenos. ATR metodas patogus ir praktiškas, kadangi nereikalingas specialus bandinio paruošimas, dėl to supaprastėja bei pagreitinėja ruošimosi matavimui darbai. Taip pat, šiuo metodu galima užregistruoti tiriamos medžiagos sugerties spektrą, į jos paviršių įsiskverbęs tik kelis mikrometrus. Taigi, naudojant ATR prizmę, skirtingai nei klasikiniu metodu, gaunama informacija nepriklauso nuo tiriamojo bandinio storio.

IR spinduliuotė per ATR prizmę nukreipiama į bandinio paviršių, kurio lūžio rodiklis mažesnis nei ATR prizmės. Terpių riboje prizmė-bandinys IR spinduliuotė visiškai atsispindi. Atspindžio metu dalis spinduliuotės yra selektyviai sugerama bandinio (4 pav.). Spinduliuotės dalis, kuri yra selektyviai bandinio sugerama, vadinama gėstančiuoju lauku. Įsiskverbusi į bandinį spinduliuotės dalis į bandinį osciliuoja bandinio paviršiumi, o įsiskverbimo gylis gali kisti nuo $0,5\ \mu\text{m}$ iki $2\ \mu\text{m}$. Spektrinė informacija apie bandinį gaunama užregistruojant pakitusią, nuo bandinio atsispindėjusią, spinduliuotę [8].



4 pav. IR spinduliuotės optinis kelias per vieno atspindžio ATR prizmę.

1.5 Ramano sklaidos spektrometrija

Ramano sklaida dažniausiai apibūdinama kaip netampri fotonų sklaida medžiagoje. Ramano sklaidos reiškinys nagrinėjamas dvejais būdais: naudojant klasikinius arba kvantinės mechanikos dėsnius.

Ramano sklaidos aprašymas klasikiniiais dėsniais. Molekulei atsidūrus elektromagnetinės bangos kintančiame elektriniame lauke, indukuojamas jos dipolinis momentas.

Dipolinis momentas priklauso nuo išorinio elektromagnetinio lauko intensyvumo bei pačios molekulės poliarizuojamumo α . Poliarizuojamumą apibrėžiame kaip elektronų debesėlio (krūvio) gebėjimą pasiskirstyti erdvėje, kai jis veikiamas išorinio elektrinio lauko. Indukuotas dipolinis momentas aprašomas:

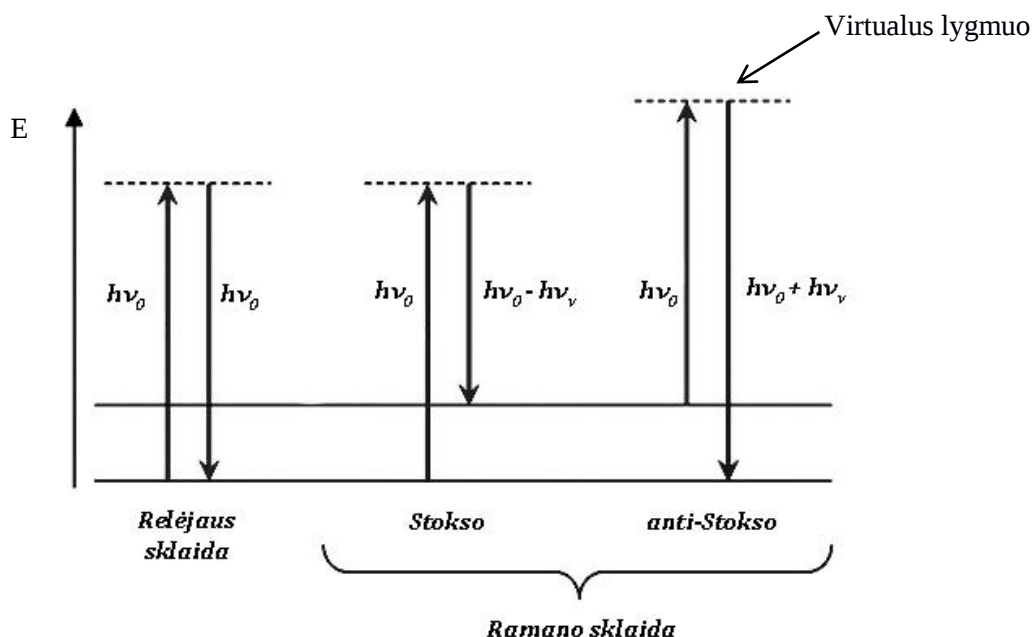
$$\mu_{ind} = \alpha E . \quad (2)$$

Dipolis elektromagnetines bangas spinduliuos tokiu dažniu ν_0 , koku kinta jo dipolinis momentas. Jeigu dipolio spinduliavimo dažnis nepakinta, matysime Reilio sklaidą. Dviatomės molekulės virpa dažniu ν_0 , o virpesio dažnis priklauso nuo cheminės jungties stiprumo ir atomų masės.

Keičiantis atstumui tarp molekulių, kinta jų poliarizuojamumas. Poliarizuojamumo modulį galime išskleisti Teiloro eilute. Atmetus aukštesnius Teiloro eilutės narius bei atlikus reikiamus matematinius veiksmus, gaunama galutinė išraiška:

$$\mu_{ind} = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{d\alpha}{dx}\right)_e x_0 E_0 \cos 2\pi[(\nu_0 + \nu_v)t + \varphi_0] + \left(\frac{d\alpha}{dx}\right)_e x_0 E_0 \cos 2\pi[(\nu_0 - \nu_v)t + \varphi_0] \quad (3)$$

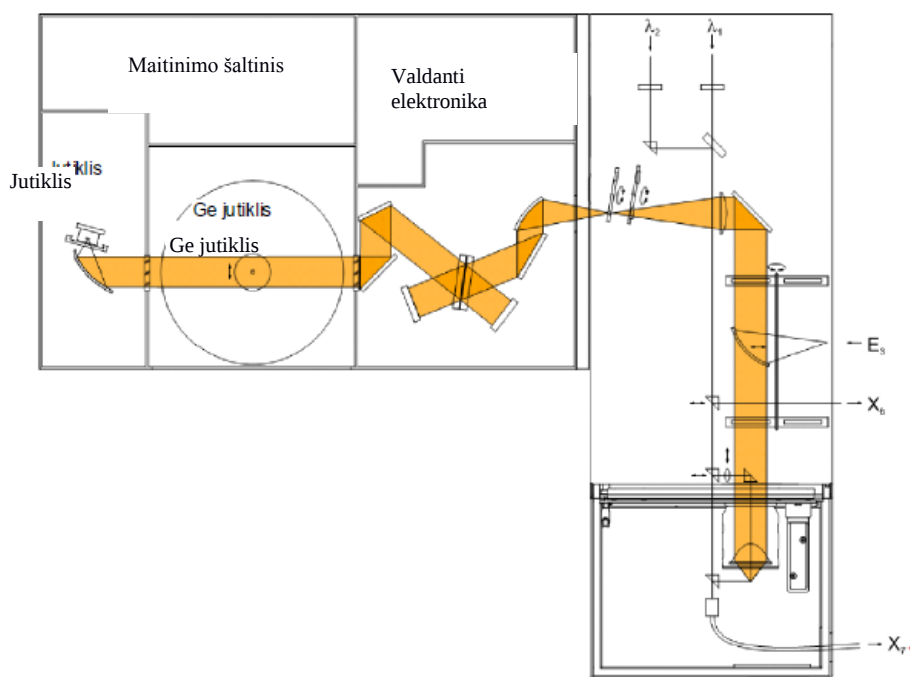
Galima teigti, kad indukuotojo dipolio momento dviatomėje molekulėje kitimas sudarytas iš trijų komponentių: ν_0 , $(\nu_0 + \nu_v)$ ir $(\nu_0 - \nu_v)$. Pirmoji komponentė (nepakitęs dažnis) žymi Reilio sklaidą, o antroji bei trečioji komponentės - Ramano anti-Stokso ir Ramano Stokso sklaidas. Sklaidą žadinančios spinduliuotės dažnis ν_0 yra žymiai didesnis nei molekulių virpesių dažniai ν_v . Dažnai Stokso bei anti-Stokso sklaidos apibūdinamos kaip žadinančios spinduliuotės dažnio moduliacija molekulės virpesiniu dažniu. Kitaip tariant, Ramano sklaida apibūdina dvi skirtingas dažnių kombinacijas - sudėtį bei atimtį.



5 pav. Ramano sklaidos metu vykstantys šuoliai tarp energetinių lygmenų.

Ramano sklaidos aprašymas kvantinės mechanikos dėsniais. Ramano sklaida – tai reiškinys, kai tam tikro dažnio ν_0 kvantas sugeriamas ir išspinduliuojamas $\nu_0 + \nu_v$ arba $\nu_0 - \nu_v$ dažnio kvantas. Kai kvantas yra sugeriamas, molekulė pereina iš nesužadintos elektroninės būsenos virpesinio lygmens į virtualųjį lygmenį. Tokio lygmens gyvavimo trukmė yra nykstamai maža ($\sim 10^{-14}$ s). Anti-Stokso sklaida yra suminio dažnio ($\nu_0 + \nu_v$) ir yra visada mažiau intensyvesnė nei skirtuminio dažnio ($\nu_0 - \nu_v$) Stokso sklaida. Šis skirtumas atsiranda dėl to, kad anti-Stokso sklaida vyksta ne iš pagrindinio, o jau iš sužadintojo virpesinio lygmens, kurio užpildą yra mažesnė. Tuo tarpu Stokso sklaida vyksta iš nesužadinto virpesinio lygmens į virtualųjį lygmenį, o jos intensyvumas priklauso nuo molekulės poliarizuojamumo kitimo. Šio lygmens užpildą yra didesnė nei bet kurių kitų virpesinių lygmenų.

Ramano sklaidos spektrometrijoje naudojami skirtingi prietaisai. Ramano sklaidos spektrometrai skirstomi į dispersinius bei Furjė vaizdavimo įrenginius. FT-Raman spektrometrai pasižymi tuo, jog jų nereikia kalibruoti taip dažnai, kaip dispersinių Ramano spektrometrų. Tačiau, ištobulinti dispersiniai spektrometrai su CCD kameromis nėra prastesni. Lyginant šių prietaisų techninius parametrus: matavimo spartą, gaunamos informacijos tikslumą bei kitus, parametrai labiau priklauso nuo konkretaus modelio, o ne paties įrenginio schemas. Galima paminėti, jog Furjė vaizdavimo Ramano spektrometrai dažniausiai naudoja NIR spinduliuotę, todėl dėl mažesnės elektroninio lygmens sužadavimo tikimybės juose išvengiama fluorescencijos. Dažniausiai prietaisai tyrimams pasirenkami pirmiausia pagal tiramuosius bandinius, jų savybes. Kadangi laboratorijoje yra galimybė dirbti su FT-Raman sklaidos spektrometru, o lipidinių bandinių bei aliejų klastočių tyrimai dažniausiai atliekami su FT-Raman dėl to eksperimentui pasirinktas Furjė vaizdavimo Ramano sklaidos spektrometras – MultiRAM, kurio schema pavaizduota 6 pav.



6 pav. FT-Raman spektrometro MultiRAM schema [8].

MultiRAM spektrometro schema bei spinduliuotės optinis kelias spektrometre, pavaizduotas .6 pav. Lazerio spinduliuotė fokusuojama į bandinį. Lęšio pagalba, nuo bandinio išsisklaidžiusi spinduliuotė surenkama, o Reilio sklaida filtruojama Notch filtru. Likusi spinduliuotė, atspindėjusi nuo veidrodžio, patenka į interferometrą. Tada spinduliuotės daliklis nukreipia spinduliuotę į germanio (Ge) jutiklį. Jutiklis perduoda informaciją kompiuteriui, kuriame apdorojami duomenys ir vyksta Furjė vaizdavimas.

1.6 Spektrinių duomenų apdorojimas

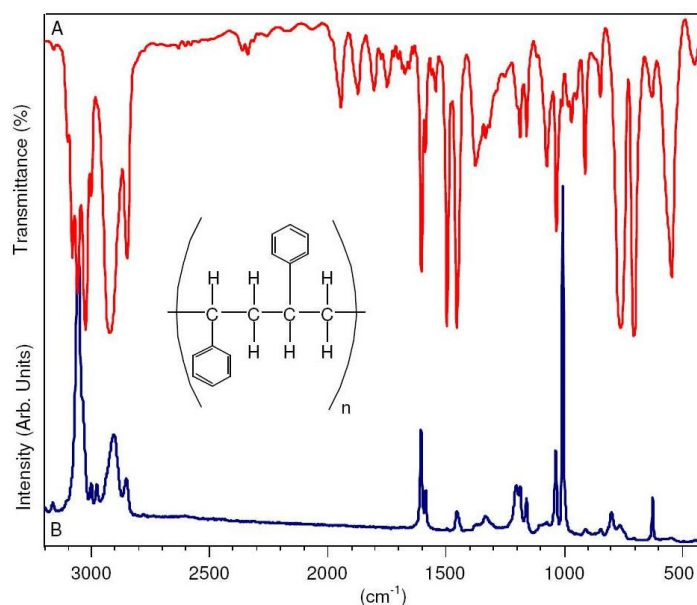
Infraraudonųjų spindulių ir Ramano spektrometrijos duomenys pateikiami pavyzdiniame polistirolų plėvelės IR sugerties spektras (7 pav.). Infraraudonųjų spindulių pralaidumo spektras - šviesos kiekio pralaidumas (%) arba optinio tankio priklausomybė nuo bangos skaičiaus (cm^{-1}). Ramano sklaidos spektras rodo išsklaidytos šviesos intensyvumo priklausomybę nuo Ramano poslinkio (cm^{-1}).

1 lentelė. Virpesinės spektrometrijos metodų palyginimas.

Ramano sklaidos spektrometrija	IR sugerties spektrometrija
Molekulės virpėdamos išsklaido krintančią spinduliuotę	Molekulės virpėdamos sugeria dalį krintančios spinduliuotės
Virpesiai aktyvūs Ramano sklaidos spektre, jei vyksta molekulės poliarizuojamumo pokytis	Virpesiai aktyvūs IR, jei vyksta molekulės dipolinio momento pokytis
Molekulėms nebūtina turėti dipolinį momentą (galime stebėti homobranduolines molekules)	Molekulėms būtina turėti dipolinį momento pokytį (homobranduolinių molekulių virpesiai – neaktyvūs)
Vanduo gali būti naudojamas kaip tirpiklis	Vanduo kaip tirpiklis nenaudojamas dėl per didelės sugerties
Bandinių paruošimas gana lengvas Bandinius galima matuoti įvairių agregatinių būsenų (kartais net neišimant iš pakuotės)	Bandinių paruošimas dažniausiai užima nemažai laiko (priklauso nuo naudojamos aparatūros) Kartais reikia bandinį atskiesti, ištirpdyti ar iš jo pagaminti IR spinduliuotei pralaidžią tabletę.

Norint geriau suprasti šių spektrometrijų skirtumus, galima nagrinėti, kaip skiriasi juostų intensyvumas IR sugerties bei Ramano sklaidos spektruose, registruojant polistirolų plėvelės molekulių virpesinius spektrus (7 pav.). Nors abu metodai registruoja molekulės virpesius, galime

pastebėti konkrečių cheminių grupių, pvz., C=C, -CH, virpesinių juostų skirtumą. Reikia atsižvelgti, jog molekulių virpesiai užregistruojami, vykstant skirtingiems reiškiniams, t.y. IR spektrometrijoje vyksta sugertis, o Ramano spektrometrijoje stebimas sklaidos efektas. Iš gautų duomenų matyti, kad -CH (3000 cm^{-1} - 2800 cm^{-1}) grupės spektrinės juostos yra labai intensyvios IR sugerties spektre, bet silpnos Ramano sklaidos spektre. Priešingai, aromatinių žiedų C=C ($\sim 1000\text{ cm}^{-1}$) spektrinė juosta intensyvi Ramano sklaidos bei silpna IR sugerties spektre. Taip yra todėl, kad -CH cheminė grupė turi didelį dipolinį momentą, o C=C grupė - didelės poliarizacijos. Molekulinė struktūrinė informacija gaunama atlikus spektrinę analizę, įvertinus spektrinių juostų padėtį, plotį bei intensyvumą.



7 pav. Lyginamasis polistirolų plėvelės spektrai užregistruoti IR sugerties (A) bei Ramano sklaidos (B) metodais [11].

1.7 Virpesinės spektrometrijos metodų taikymai aliejų kokybės tyrimams

Naudojant Ramano sklaidos bei infraraudonosios spinduliuotės sugerties spektrometrijas galima aptikti mažas priemaišų koncentracijas, dėl to šie metodai tinkami naudoti EVOO klastočių tyrimams. Ramano spektrometro praktiškumas suteikia galimybę matuoti aliejų neišpilant jo iš pakuotės. Atlikus matavimus Ramano sklaidos bei IR sugerties metodais, jų rezultatai skiriasi nežymiai, Ramano sklaidos metodu aptiktos priemaišų koncentracijos šiek tiek mažesnės [9].

EVOO klastotės tyrimams atlikti naudojamas Ramano spektrometras. Gulgun Yildiz Tiryaki ir Huseyin Ayvaz atlikto eksperimento metu EVOO maišomas su sojų aliejumi. Priemaišų (sojų aliejaus) koncentracija didinama iki 25 %. Išmatavus sumaišytų aliejų bandinių spektrus ir pritaikius PLSR (angl. partial least squares regression) matematinės analizės metodą, buvo gauta

1,34 % paklaida. Tokio dydžio paklaida leidžia atskirti klastotes nuo originalių aliejų. Eksperimento autoriai apibendrina, jog Ramano spektrometrija yra greitas, paprastas, santykinai pigus, nedestruktyvus metodas aliejų kokybės tyrimams, tačiau tokio tipo tyrimų trūksta [3].

Atlikti EVOO klastočių tyrimai dažnai susiję su bandymais aptikti kitų rūšių aliejų priemaišų. Tačiau atliekant šiuos tyrimus, neatsižvelgiama į pačių alyvuogių aliejų kokybinį klasifikavimą. EVOO etiketę tiekėjai gali užklijuoti ant savo produkto, jei laisvųjų riebalų rūgščių (oleino rūgšties) aliejuje ne daugiau kaip 0,8 g/100 g. Nors rūgštingumo intervalas nuo 0 % iki 0,8 % yra nedidelis, alyvuogių aliejaus kokybei tai turi didelę įtaką. Taigi, tyrimo metu siekiama pabandyti nustatyti laisvųjų riebalų rūgštis, naudojant virpesinės spektrometrijos metodus.

2 Eksperimentinė dalis

2.1 Bandinių paruošimo metodika

Aliejai, naudoti eksperimento metu, buvo įsigyti parduotuvėse. Bandinių paruošimas nereikalavo specifinių sąlygų. Bandiniai buvo tiriami mažais kiekiais. Matavimai vyko laboratorijos sąlygomis. Naudoti skirtingi EVOO, saulėgrąžų bei rapsų aliejai. Po kiekvieno matavimo paviršius, ant kurio dedamas bandinys, buvo nuvalomas.

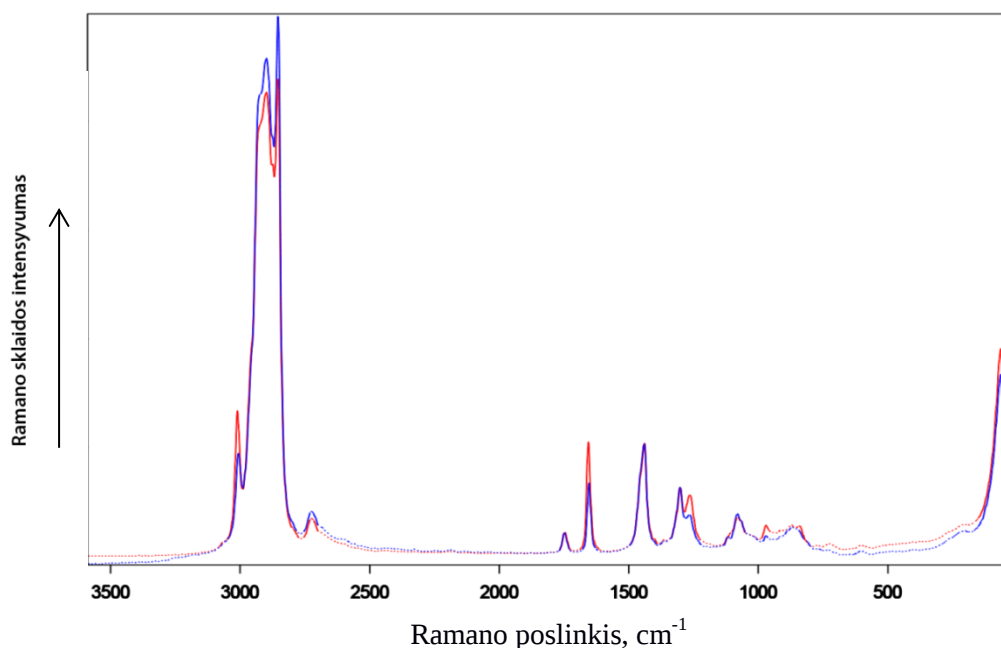
2.2 Spektrų registravimo metodika

Furjė vaizdavimo infraraudonųjų spindulių sugerties spektrometrijai naudojamas Bruker „ALPHA“ spektrometras. Techniniai spektrometro duomenys: spinduliuotės šaltinis - globaras (silicio karbido strypas), ROCKSOLID™ interferometras, vieno atspindžio deimantinis ATR kristalas, piroelektrinis DTGS jutiklis, programinė įranga „OPUS 6.5“. Eksperimento atlikimo techniniai parametrai: skyra 4 cm^{-1} , vidurkinamų spektrų skaičius 128, matuojamas intervalas nuo 4000 cm^{-1} iki 400 cm^{-1} .

Furjė vaizdavimo Ramano sklaidos spektrometrijai naudojamas „Bruker MultiRAM“ spektrometras. Techniniai spektrometro duomenys: spinduliuotės šaltinis - Nd:YAG lazeris, germanio (Ge) jutiklis (šaldomas skystu azotu), XYZ stalelis, „RockSolid“ interferometras, žadinančios spinduliuotės bangos ilgis – 1064 nm, programinė įranga „OPUS 7.2“. Eksperimento atlikimo techniniai parametrai: lazerio galia 1000 mW, skyra 4 cm^{-1} , vidurkinamų spektrų skaičius 128, matuojamas intervalas nuo 3500 cm^{-1} iki 70 cm^{-1} .

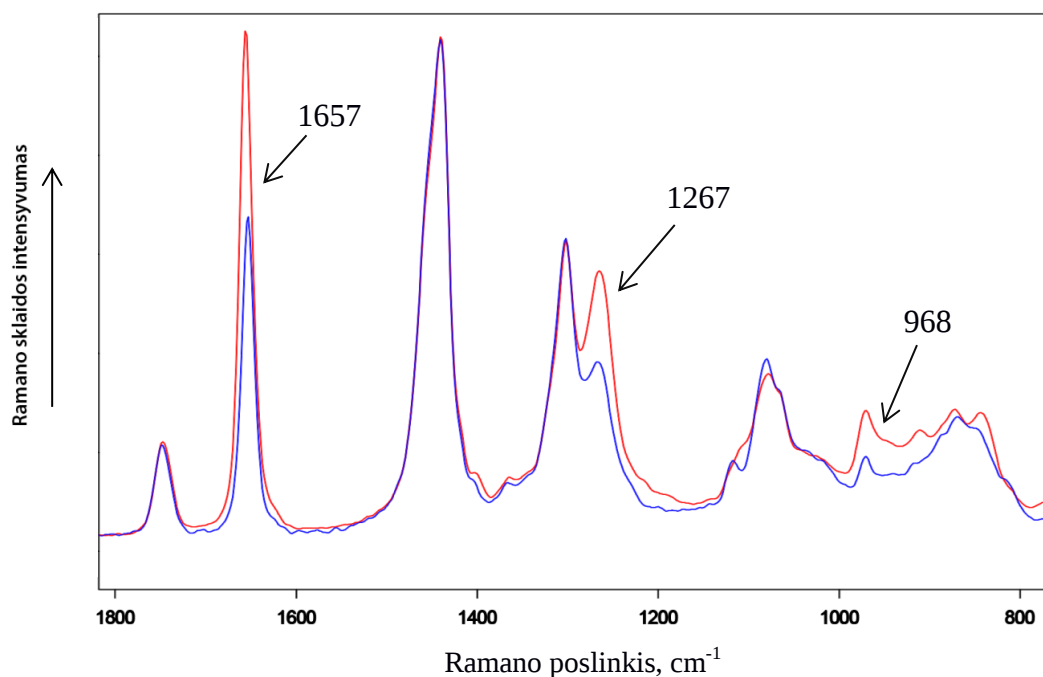
2.3 Rezultatai

Tyrimas pradedamas nuo skirtingų rūšių aliejų virpesinių spektrų registravimo dviem skirtingais virpesinės spektrometrijos metodais. Kadangi tiriamųjų aliejų rūšys skirtingos, užregistruotuose spektruose turėtų stebėti spektrinių juostų skirtumus. Matavimai pradedami tyrimą atliekant FT-Raman sklaidos metodu, tiriant EVOO bei saulėgrąžų aliejų.



8 pav. EVOO (mėlyna linija) ir saulėgrąžų aliejaus (raudona linija) Ramano sklaidos spektrai.

Matome, kad naudojant Raman sklaidos metodą galima atskirti EVOO nuo saulėgrąžų aliejaus pagal užregistruotus virpesinius spektrus. Lyginant užregistruotus spektrus, stebimos tos spektrinės juostos, kurių intensyvumai priklauso nuo aliejų rūšies. Pavyzdžiui, intervale nuo 3500 cm^{-1} iki 2500 cm^{-1} , matomi intensyvumo skirtumai CH grupės virpesių srityje. Šiame intervale stebimi virpesiai: $=\text{CH}$ valentiniai (3010 cm^{-1}), $-\text{CH}$ valentiniai (2900 cm^{-1} , 2855 cm^{-1} , 2726 cm^{-1}).

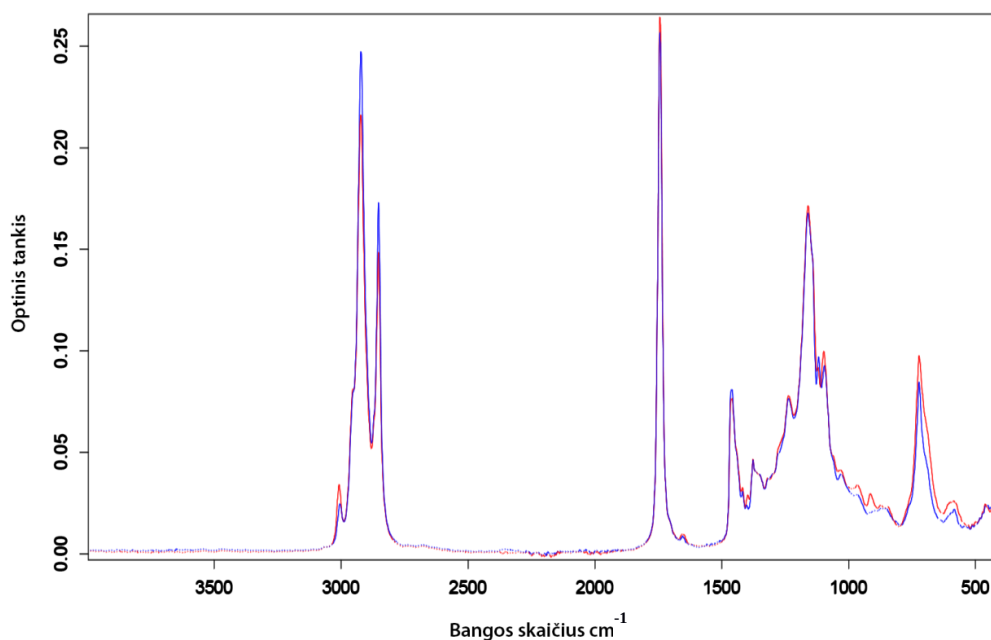


9 pav. EVOO (mėlyna linija) ir saulėgrąžų aliejaus (raudona linija) Raman sklaidos spektrai. Pateikta „pirštų antspaudų“ sritis, esanti 1800-800 cm^{-1} intervale.

„Pirštų antspaudų“ srityje matomi skirtumai tarp tiriamųjų aliejų spektrų. Stebimi trys intervalai, kuriuose spektrinės juostos skiriasi labiausiai. Užregistruotame spektre, saulėgrąžų aliejaus spektrinės juostos intensyvesnės nei EVOO. Didžiausi skirtumai matomi ties 1657 cm^{-1} (*cis* C=C valentiniai virpesiai), ties 1267 cm^{-1} (*cis* C=CH deformaciniai virpesiai) ir ties 968 cm^{-1} (=CH₂ deformaciniai virpesiai). Manoma, jog šių smailių intensyvumų skirtumus matome dėl aliejuose esančių molekulių, kurioms priskiriamas stebimas virpesinis dažnis, koncentracijos skirtumų.

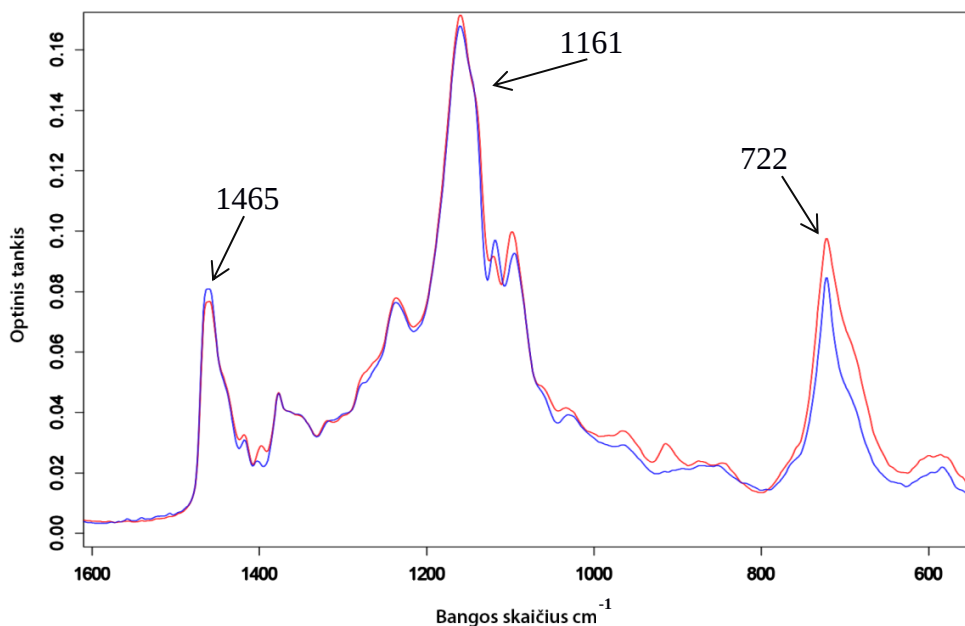
Toliau išvardinti 9 pav. matomi užregistruoti aliejų molekulių virpesiai (bangos skaičiaus poslinkio mažėjimo tvarka): C=O valentinis (1749 cm^{-1}), C=C valentinis (1657 cm^{-1}), -CH₂ deformacinis (1442 cm^{-1}), -CH deformacinis (1303 cm^{-1}), =CH deformacinis (1267 cm^{-1}), C-C valentinis (1082 cm^{-1}), =CH₂ deformacinis (968 cm^{-1}).

Atlikus matavimus Ramano sklaidos metodu, pavyko pamatyti skirtumus tarp skirtingų rūšių aliejų virpesinių spektrų. Sekantis žingsnis, patikrinti tų pačių bandinių atskyrimo galimybes naudojant FT-IR metodą.



10 pav. EVOO (mėlyna linija) ir saulėgrąžų aliejaus (raudona linija) IR sugerties spektrai.

Matome, kad naudojant FT-IR sugerties metodą taip pat galima atskirti EVOO nuo saulėgrąžų aliejaus pagal jų virpesinius spektrus. Stebimi skirtingi virpesinių juostų intensyvumai, priklausomai nuo aliejų rūšies. Pavyzdžiui, intervale nuo 3500 cm^{-1} iki 2700 cm^{-1} , matomi intensyvumų skirtumai CH grupės virpesių srityje. Šiame intervale stebimi virpesiai: =CH valentiniai (3005 cm^{-1}), -CH valentiniai (2922 cm^{-1} , 2851 cm^{-1}). Ties 1743 cm^{-1} stebima intensyvi juosta gali būti priskirta C=O valentiniam virpesiui.



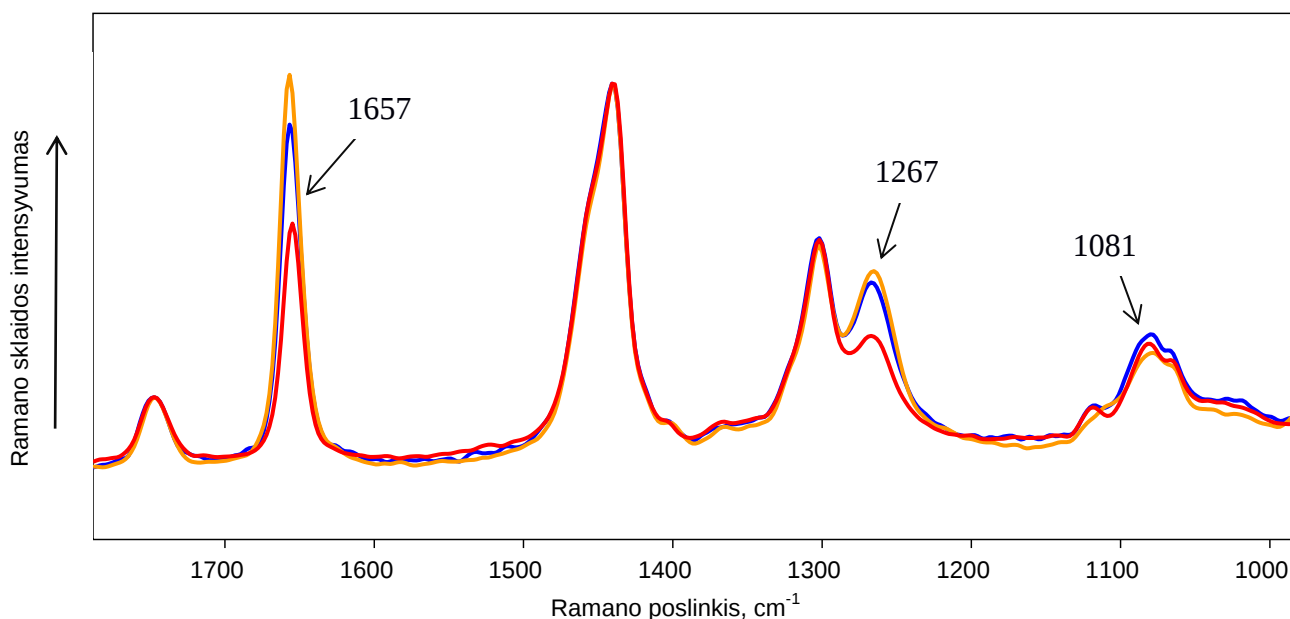
11 pav. EVOO (mėlyna linija) ir saulėgrąžų aliejaus (raudona linija) IR sugerties spektrai. Pateikta „pirštų antspaudų“ sritis, esanti 1600-600 cm^{-1} intervale.

Stebimi spektriniai skirtumai nedideli, lyginant su FT-Raman metodu (9 pav.). Didžiausi intensyvumų skirtumai matomi 1000 cm^{-1} - 800 cm^{-1} bangos skaičių srityje. Didžiausias intensyvumų skirtumas užregistruotas ties 722 cm^{-1} esančia smaile, kuri priskiriama $-\text{CH}_2$ deformaciniam virpesiui.

Toliau išvardinti 11 pav. matomi užregistruoti aliejų molekulių virpesiai (bangos skaičiaus mažėjimo tvarka): $-\text{CH}$ deformaciniai (1465 cm^{-1}), $-\text{CH}$ deformaciniai (1378 cm^{-1}), C-O valentiniai (1236 cm^{-1} , 1161 cm^{-1}), C-O valentiniai (1117 cm^{-1} , 1098 cm^{-1}), $-\text{CH}_2$ deformacinis (722 cm^{-1}) [10].

Užregistravus skirtingų rūšių aliejų virpesinius spektrus ir atlikus lyginamąją jų analizę, stebimi spektriniai skirtumai yra mažesni naudojant FT-IR sugerties metodą nei naudojant FT-Raman sklaidos metodą. Taip pat, naudojant Raman sklaidos metodą, yra galimybė matavimus atlikti nepažeidžiant bandinio pakuotės (neatidarant aliejaus butelio). Dėl šių priežasčių tolimesnei tyrimo eigai pasirenkamas Raman sklaidos metodas.

Norint geriau suprasti, kuo skiriasi EVOO nuo kitų rūšių aliejų, jų spektrai lyginami tarpusavyje (12 pav.).

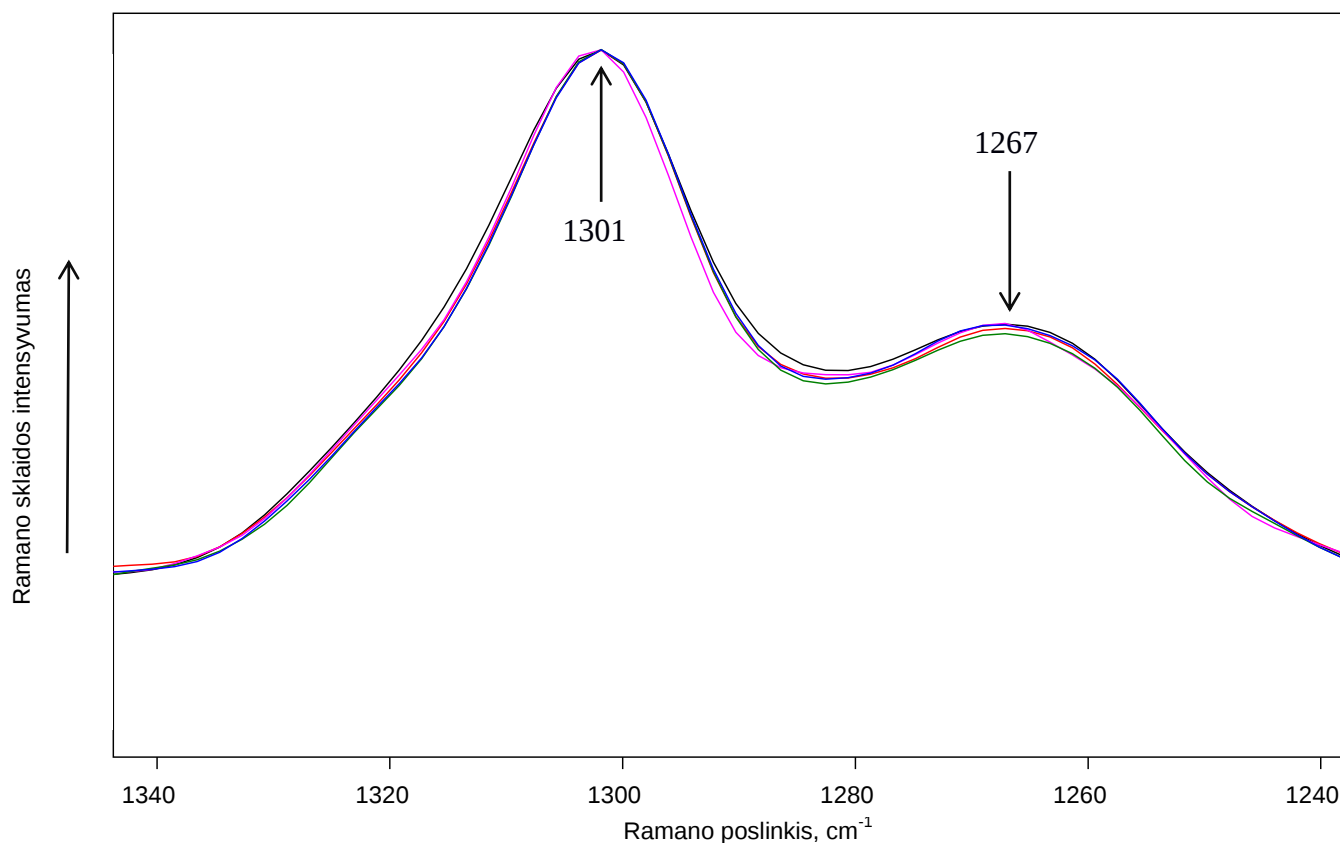


12 pav. EVOO, saulėgrąžų bei rapsų aliejų Ramano sklaidos spektrai. Aliejų spektrai iš apačios į viršų: EVOO (raudona), rapsų (mėlyna), saulėgrąžų (oranžinė).

Užregistravus EVOO, saulėgrąžų bei rapsų aliejų spektrus, stebimi spektriniai skirtumai trejose spektriniuose intervaluose. Intervale $1700\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ užregistruota virpesinė juosta ties 1657 cm^{-1} . Lyginant aliejų spektrus, šios juostos EVOO intensyvumas mažiausias. Juosta, esanti ties 1657 cm^{-1} , priskiriama *cis* $\text{R}_1\text{C}=\text{CR}_2$ valentiniam virpesiui, kuris yra nesočiųjų riebalų rūgščių molekulėse. Sekančiame intervale, nuo 1300 cm^{-1} iki 1200 cm^{-1} , užregistruota ties 1267 cm^{-1} esanti virpesinė juosta, kurios iš tiriamųjų aliejų EVOO intensyvumas mažiausias. Juosta, esanti 1267 cm^{-1} , priskiriama *cis* $\text{R}_1\text{C}=\text{CH}-\text{CR}_2$ ($=\text{CH}$ grupė) deformaciniam virpesiui, kuris yra nesočiųjų riebalų rūgščių molekulėse. Trečiasis intervalas priskiriamas nuo 1100 cm^{-1} iki 1000 cm^{-1} , kuriame matome spektrų skirtumus juostoje esančia ties 1081 cm^{-1} . Ši juosta priskiriama C-C grupės valentiniam virpesiui, tačiau atsižvelgus į spektrų persidengimus ir nedidelius skirtumus, juosta toliau neanalizuojama.

Nustačius spektrinę informaciją apie tiriamų aliejų skirtumus, išskiriamos dvi pagrindinės spektrinės juostos (ties 1657 cm^{-1} ir 1267 cm^{-1}), kurios siejamos su nesočiųjų riebalų rūgščių koncentracija. Kadangi aliejai skiriasi pagal savo sudėtyje esančių nesočiųjų riebalų rūgščių koncentraciją, manoma, kad stebint šių juostų pokyčius, galima aliejų atskirti pagal rūšį ar kokybę. Nors abiejų užregistruotų juostų intensyvumų skirtumai dideli, tyrimui užtenka stebėti vienos spektrinės juostos pokyčius. Dėl to tolimesnei eksperimento eigai vaizduoti pasirenkama pokyčiams jautri spektrinė juosta, esanti ties 1267 cm^{-1} bei spektrinė juosta stebima ties 1301 cm^{-1} , pagal kurios intensyvumą buvo sunormuoti spektrai.

Norint geriau įvertinti tiriamojo aliejaus spektrometrinius žymenis, matavimams reikalinga didesnė bandinių imtis. Pasirenkami penki skirtingi EVOO (13 pav.).

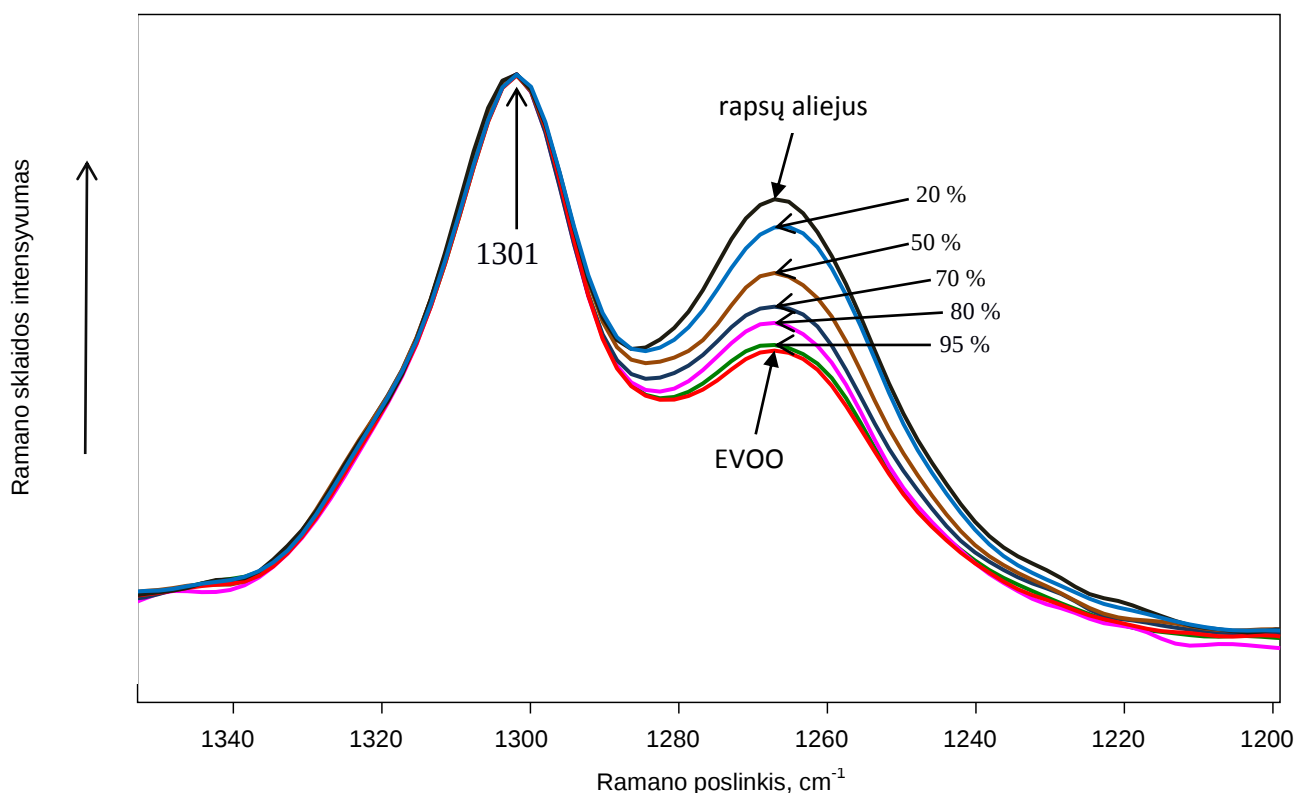


13 pav. Penkių skirtingų EVOO Ramano sklaidos spektrai.

Užregistruoti skirtingų EVOO spektrai sunormuoti pagal virpesinę juostą, esančią ties 1301 cm^{-1} . Normavimas atliktas tam, kad kompensuotume skirtumus tarp skirtingų matavimų, fokusavimo sugebėjimų, lazerio spinduliuotės galios, antrinės sklaidos bandinyje ir pan. Šios juostos intensyvumų skirtumai, tarp didžiausio ir mažiausio, skiriasi $\sim 3,1\%$. Taip pat, apskaičiuoti dviejų stebimų spektrinių juostų intensyvumų santykiai. Juostos, pagal kurią sunormuoti spektrai (esančia ties 1301 cm^{-1}), intensyvumas lyginamas su juostos, esančia ties 1267 cm^{-1} , intensyvumu. Užregistruotų spektrinių juostų intensyvumų santykiai patenka į intervalą nuo 1,890 iki 1,957. Remiantis apskaičiuotu intervalu, galima pastebėti, jog šių dviejų juostų intensyvumų santykis turėtų patekti į nurodytą intervalą matuojant EVOO spektrus ir atvirkščiai, nepatekti, jeigu matuojamas aliejus turi kito aliejaus priemaišų.

Sekantis tyrimas atliekamas matuojant EVOO bei jų mišinius su kitais aliejais. Kadangi aliejų klastotėms, tikėtina, naudojami pigesni ir prastesnių rūšių (sėkliniai) aliejai, tai mišiniams gaminti pasirenkami aliejai, labiausiai tinkantys klastojimui. EVOO aliejus maišomas su saulėgrąžų bei rapsų aliejais, keičiamas aliejų santykis ir matuojami mišinių spektrai.

Pirmieji mišinių matavimai atlikti keičiant EVOO bei rapsų aliejaus koncentracijas. EVOO maišomas su rapsų aliejumi nuo 95 % iki 10 % EVOO. Rezultatuose pateikiami charakteringiausios mišinių spektrų juostos (14 pav.).



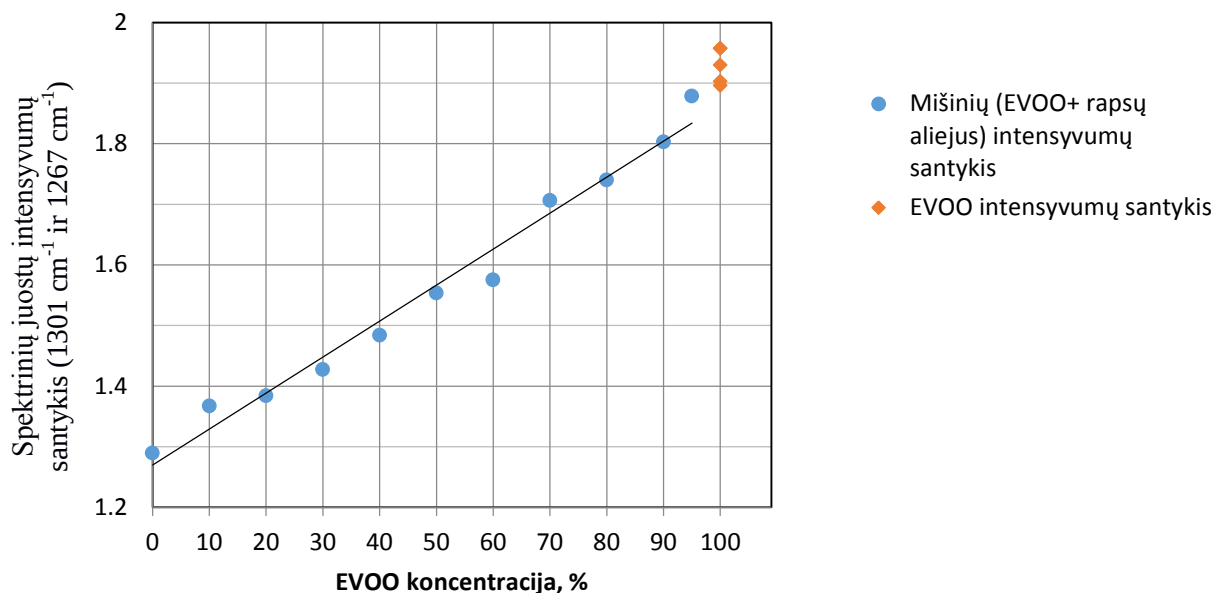
14 pav. EVOO ir rapsų aliejų bei jų mišinių Ramano sklaidos spektrai. Spektrai iš apačios į viršų pateikti EVOO koncentracijos mažėjimo tvarka.

Užregistruoti spektrai sunormuoti pagal spektrinę juostą, esančią ties 1301 cm^{-1} . Išmatuotų skirtingų koncentracijų mišinių skirtumai matomi iš ties 1267 cm^{-1} esančios spektrinės juostos. Matoma, jog spektrinės juostos intensyvumas gana tiesiškai kinta priklausomai nuo EVOO koncentracijos mišiniuose. Kuo intensyvesnė ši juosta, tuo mažesnė EVOO koncentracija. Taip pat apskaičiuoti ir užregistruotų spektrinių juostų intensyvumų santykiai, kurie pateikiami lentelėje (2 lentelė).

2 lentelė. Spektrinių juostų intensyvumų santykis pagal mišinio koncentraciją.

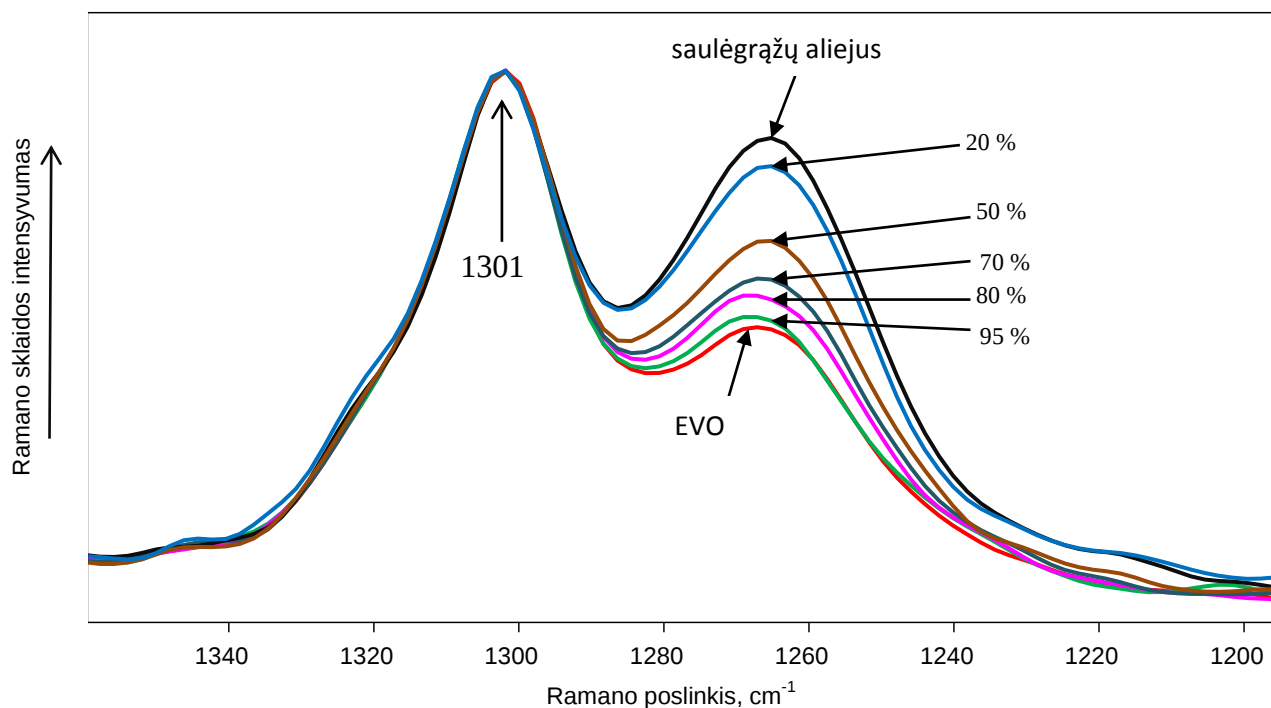
Mišinio koncentracija (EVOO atžvilgiu)	Spektrinių juostų intensyvumų santykis (1301 cm^{-1} ir 1267 cm^{-1})
100 %	1,918
95 %	1,882
90 %	1,803
80 %	1,759
70 %	1,706
60 %	1,575
50 %	1,553
40 %	1,484
30 %	1,427
20 %	1,384
10 %	1,367
0 %	1,289

Pagal apskaičiuotą EVOO intensyvumų intervalą (1,890 – 1,957) bei pateiktą lentelę (2 lentelė), matoma, jog mišinio intensyvumų santykis nebepatenka į EVOO intervalą nuo 95 %. Kitaip tariant, priemaišų kiekiui mišinyje esant 5 % ar daugiau, matomi spektriniai skirtumai, kuriais remiantis galima identifikuoti aliejaus klastotę. Taip pat, iš gautų duomenų nubrėžta kalibracinė kreivė (15 pav.).



15 pav. EVOO ir rapsų aliejaus mišinių spektrinių juostų intensyvumų santykio priklausomybė nuo mišinio koncentracijos.

Tokiu pat principu atliktas eksperimentas su EVOO ir saulėgrąžų aliejaus mišiniais (16 pav.).



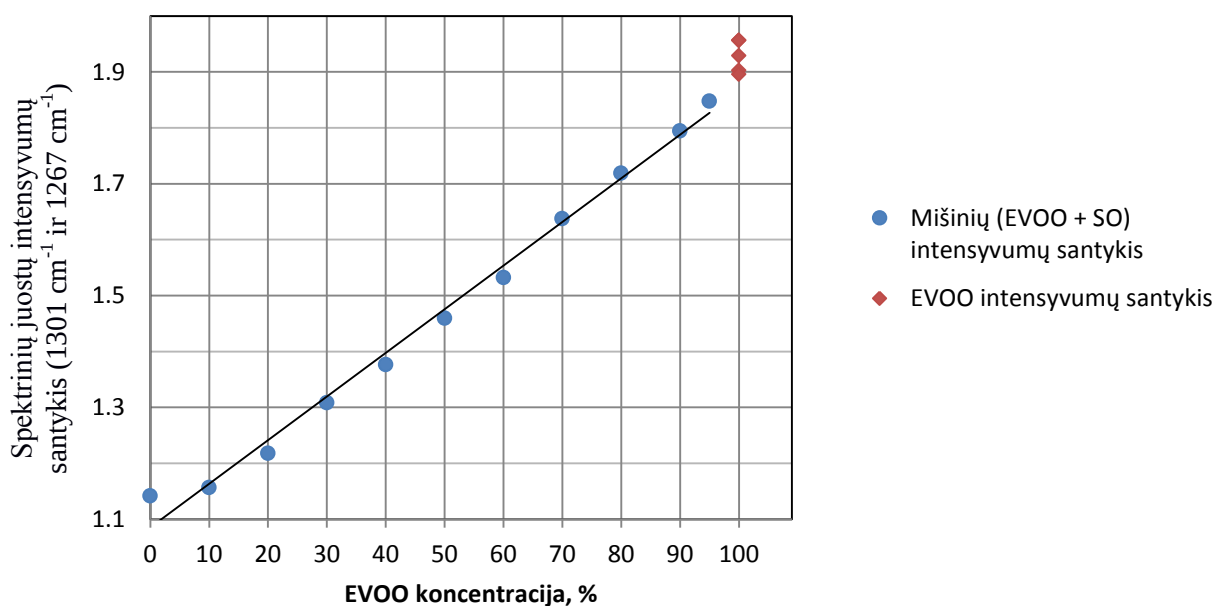
16 pav. EVOO ir saulėgrąžų aliejų bei jų mišinių Raman sklaidos spektrai. Spektrai iš apačios į viršų pateikti EVOO koncentracijos mažėjimo tvarka.

Užregistruoti spektrai sunormuoti pagal esančią ties 1301 cm^{-1} spektrinę juostą. Išmatuotų skirtingų koncentracijų mišinių spektriniai skirtumai matomi ties 1267 cm^{-1} spektrine juosta. Mišiniuose, tiek EVOO su rapsų aliejumi, tiek EVOO su saulėgrąžų aliejumi, spektrų skirtumai panašūs, matoma, jog spektrinės juostos intensyvumas gana tiesiškai kinta priklausomai nuo EVOO koncentracijos mišiniuose. Taip pat apskaičiuoti ir užregistruotų spektrinių juostų intensyvumų santykiai, kurie pateikiami lentelėje (3 lentelė).

3 lentelė. Spektrinių juostų intensyvumų santykis pagal mišinio koncentraciją.

Mišinio koncentracija (EVOO atžvilgiu)	Spektrinių juostų intensyvumų santykis (1301 cm^{-1} ir 1267 cm^{-1})
100 %	1,912
95 %	1,848
90 %	1,794
80 %	1,719
70 %	1,764
60 %	1,532
50 %	1,460
40 %	1,377
30 %	1,308
20 %	1,218
10 %	1,157
0 %	1,142

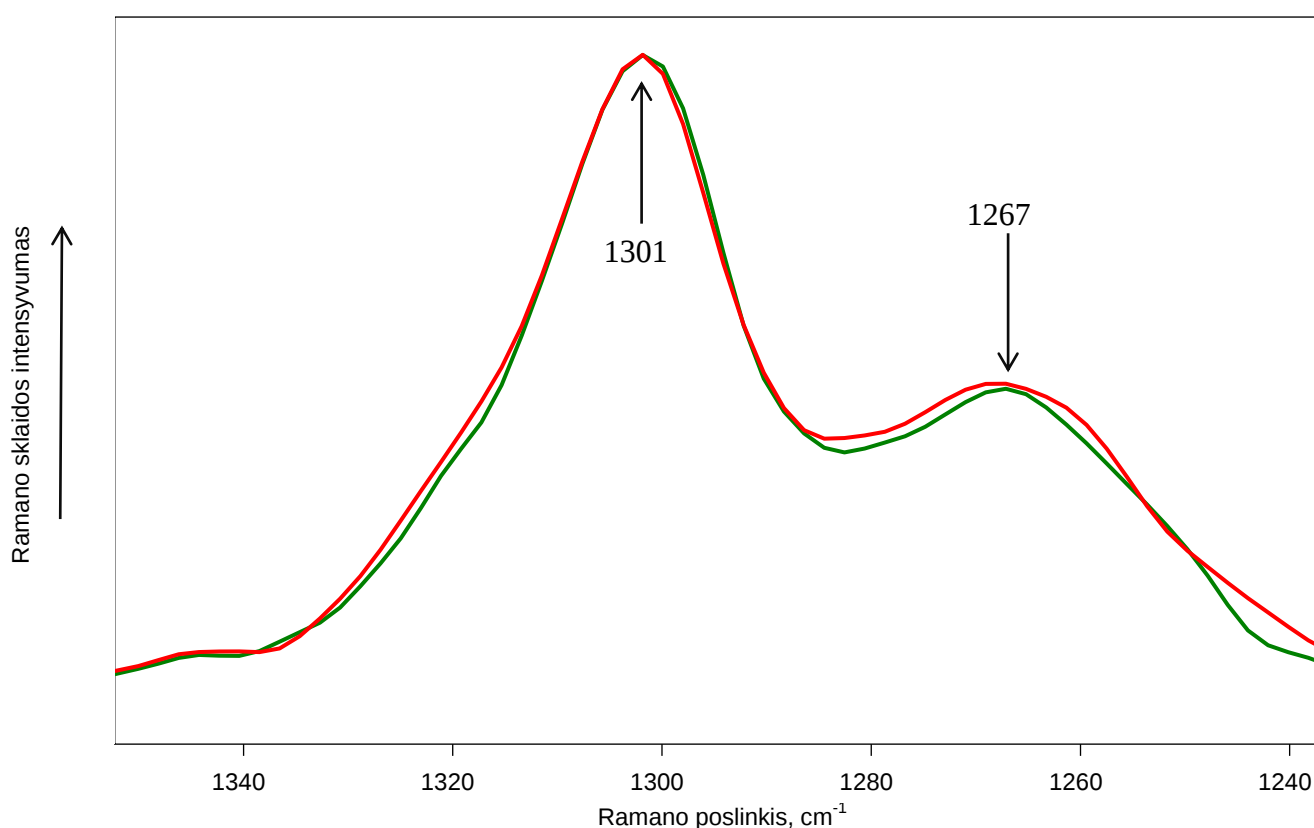
Mišiniai saulėgrąžų aliejaus su EVOO taip pat identifikuojami esant 5 % ar daugiau priemaišų, kadangi EVOO intensyvumų intervalo minimumas – 1,890, o 95% EVOO apskaičiuotas intensyvumų santykis – 1,848. Iš gautų duomenų, nubrėžta kalibracinė kreivė (17 pav.).



17 pav. EVOO ir saulėgrąžų aliejaus mišinių spektrinių juostų intensyvumų santykio priklausomybė nuo mišinio koncentracijos.

Taigi, tiek EVOO ir rapsų aliejaus bei EVOO ir saulėgrąžų aliejaus mišiniai sėkmingai identifikuojami, užregistruojant jų virpesinius spektrus Ramano sklaidos metodu. Mišinius pavyko atskirti esant 95 % ar mažesnei EVOO koncentracijai bandinyje. Kadangi, tikėtina, jog aliejų klastotės galėtų būti gaminamos dėl praktinės naudos, tai klastočių su mažesnės nei 5 % priemaišų koncentracija gaminti neapsimokėtų. Dėl to, gauti rezultatai vertinami teigiamai ir kalibracinė kreivė gali būti naudojama kaip nežinomų priemaišų kiekio nustatymui.

Paskutinė tyrimo dalis skirta patikrinti, ar yra galimybė, matuojant Ramano sklaidos metodu, užregistruoti aliejaus spektrą nepažeidžiant pakuotės. Eksperimentas atliktas dvejais matavimais: registruojant EVOO spektrą tiesiogiai ir neišpilant aliejaus iš stiklinio butelio (16 pav.).



16 pav. EVOO aliejų Ramano sklaidos spektrai. Aliejus matuotas tiesiogiai (raudona), per tarą (žalia).

Užregistravus EVOO tiesiogiai ir nepažeidžiant pakuotės, skirtumai matomi nežymūs. Intensyvumų skirtumas, užregistruotas juostoje ties 1267 cm^{-1} , siekia 1,57 %, o juostų intensyvumų santykis, lyginant su šalia esančia juosta, patenka į apskaičiuotą EVOO intensyvumų intervalą. Matuojant per butelį, dalis lazerio spinduliuotės yra išsklaidoma. Dėl to, norint pasiekti santykinai gerą signalo ir triukšmo santykį, matavimas užtrunka apie 5 kartus ilgiau (15 min.). Nors matavimas per butelį užtrunka ilgiau, gautas rezultatas patenkina tyrimo numatytas sąlygas.

Apibendrinant, abu išbandyti virpesinės spektrometrijos metodai yra tinkami aliejų rūšies atskirimui, matuojant jų spektrus, tačiau FT-Raman sklaidos metodu stebimi didesni spektriniai skirtumai. Užregistravus EVOO, saulėgrąžų ir rapsų aliejų spektrus, stebimos dvi charakteringos spektrinės juostos (1657 cm^{-1} , 1267 cm^{-1}), turinčios didžiausius intensyvumų skirtumus, iš kurių tolimesnei tyrimo eigai pasirinkta viena (1267 cm^{-1}). Užregistravus penkis skirtingus EVOO ir nustačius šalia esančių juostų (1301 cm^{-1} , 1267 cm^{-1}) intensyvumus, apskaičiuotas intensyvumų santykių intervalas (1,890 - 1,957), kuris naudojamas kaip rodiklis aliejų klastotėms identifikuoti. Taip pat, užregistruoti mišinių su rapsų bei saulėgrąžų aliejais, kuriuose EVOO koncentracija keičiama nuo 95 % iki 10 % spektrai. Atlikus mišinių spektrų analizę, pastebėta, kad abiem atvejais (tiek su rapsų, tiek su saulėgrąžų aliejumi) klastotė gali būti identifikuojama kai įdėta 5 % priemaišų, kadangi užregistruotų spektrinių juostų intensyvumų santykis nepatenka į nurodytą EVOO intensyvumų santykių intervalą. Remiantis tais pačiais kriterijais, užregistruotas EVOO spektras nepažeidžiant bandinio pakuotės (per tarą), patenka į nurodytą intervalą. Manoma, kad FT-Raman sklaidos metodas yra tinkamas aliejų klastočių identifikavimui tiek tiesiogiai, tiek matuojant nepažeidžiant bandinio pakuotės.

Pagrindiniai rezultatai ir išvados

1. Užregistruoti EVOO bei saulėgrąžų aliejų spektrai naudojant du virpesinės spektrometrijos metodus: FT-IR sugerties bei FT-Raman sklaidos. Skirtingų rūšių aliejus pavyko atskirti iš spektrų, gautų abiem metodais.
2. Lyginant šių dviejų metodikų spektrus, pastebėjome, kad FT-Raman sklaidos spektrometrija yra tinkamesnė EVOO kokybės tyrimams atlikti, nes FT-Raman sklaidos spektruose stebimi didesni spektrinių juostų intensyvumų skirtumai.
3. Tiriant užregistruotų aliejų mišinių spektrus, nustatyta, jog esant priemaišų kiekiui 5 % ar daugiau iš spektrinių juostų pokyčių galima identifikuoti EVOO klastotes.
4. Tyrimo metu nustatyta, kad galima užregistruoti analizei tinkamos kokybės FT-Raman spektrą, nepažeidžiant aliejaus pakuotės.

Literatūra

- [1] Li, Y., Fang, T., Zhu, S., Huang, F., Chen, Z., & Wang, Y. (2018). Detection of olive oil adulteration with waste cooking oil via Raman spectroscopy combined with iPLS and SiPLS. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*.
<http://doi.org/10.1016/j.saa.2017.06.049>
- [2] Torrecilla, J. S., Cancilla, J. C., Matute, G., Díaz-Rodríguez, P., & Flores, A. I. (2013). Self-organizing maps based on chaotic parameters to detect adulterations of extra virgin olive oil with inferior edible oils. *Journal of Food Engineering*, 118(4), 400–405.
<http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.029>
- [3] Yildiz Tiriyaki, G., & Ayvaz, H. (2017). Quantification of soybean oil adulteration in extra virgin olive oil using portable raman spectroscopy. *Journal of Food Measurement and Characterization*. <http://doi.org/10.1007/s11694-016-9419-8>
- [4] Mazurek, S., Szostak, R., Czaja, T., & Zachwieja, A. (2015). Analysis of milk by FT-Raman spectroscopy. *Talanta*, 138, 285–289. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.03.024>
- [5] Butler, H. J., Ashton, L., Bird, B., Cinque, G., Curtis, K., Dorney, J., ... Martin, F. L. (2016). Using Raman spectroscopy to characterize biological materials. *Nature Protocols*, 11(4), 664–687.
<http://doi.org/10.1038/nprot.2016.036>
- [6] Huang, F., Li, Y., Guo, H., Xu, J., Chen, Z., Zhang, J., & Wang, Y. (2016). Identification of waste cooking oil and vegetable oil via Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, 47(7), 860–864. <http://doi.org/10.1002/jrs.4895>
- [7] Fei, G., Lujia, H., & Xian, L. (2017). Vibration spectroscopic technique for species identification based on lipid characteristics. *Int J Agric & Biol Eng Open Access Int J Agric & Biol Eng*, 10(103), 255–268. <http://doi.org/10.3965/j.ijabe.20171003.3144>
- [8] Šablinskis, V., & Čeponkus, J. (2014). Modernioji molekulių virpesinė spektrometrija, 240.
- [9] Philippidis, A., Poulakis, E., Papadaki, A., & Velegrakis, M. (2017). Comparative Study using Raman and Visible Spectroscopy of Cretan Extra Virgin Olive Oil Adulteration with Sunflower Oil. <http://doi.org/10.1080/00032719.2016.1208212>

[10] Rohman, A., & Man, Y. B. C. (2010). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. *Food Research International*, 43(3), 886–892. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.12.006>

[11] <http://www.inphotonics.com/raman.htm>

Santrauka

ALYVUOGIŲ ALIEJAUS KLASTOČIŲ TYRIMAS RAMANO SKLAIDOS SPEKTROMETRIJOS METODU

Matas Baltrėnas

Darbo tikslas – Nustatyti virpesinės spektrometrijos metodų taikymo galimybės alyvuogių aliejų klastočių tyrimui.

Darbo uždutys:

1. Užregistruoti EVOO ir saulėgrąžų aliejų spektrus naudojant FT-IR sugerties spektrometrą su pažeistojo vidaus atspindžio (angl. attenuated total reflection - ATR) technika.
2. Užregistruoti EVOO, saulėgrąžų ir rapsų aliejų spektrus naudojant FT-Raman sklaidos spektrometrą.
3. Užregistruoti EVOO ir saulėgrąžų bei EVOO ir rapsų aliejų mišinių spektrus naudojant FT-Raman sklaidos spektrometrą.
4. Atlikti spektrų, užregistruotų skirtingomis matavimo metodikomis, analizę bei panaudoti gautą informaciją aliejų kokybės identifikavimui.
5. Užregistruoti EVOO virpesinius spektrus, nepažeidžiant bandinio pakuotės

Viena didžiausių maisto pramonės problemų – produktų klastotės. Užklįjamos etiketės, kuriose nurodyta informacija neatitinka realios produkto vertės. Paskutiniu metu, aliejai, ypač alyvuogių, įvardinami kaip viena iš labiausiai klastojamų prekių. Problema ta, kad nėra praktiško, greito, sąlyginai pigaus būdo, kaip būtų galima patikrinti aliejų kokybę ar atskirti klastotę.

Tyrimui pasirinkta tirti aliejus, siekiant atrasti tinkamą metodą, kuris padėtų atpažinti klastotes ar įvertinti aliejaus kokybę. Bandiniams tirti pasirinkta virpesinė spektrometrijos sritis, kadangi užregistravus molekulių virpesius, galima nuspėti bandinio molekulinę struktūrą. Eksperimentai atlikti naudojant du virpesinės spektrometrijos metodus: FT-IR sugerties bei FT-Raman sklaidos. Duomenis gauti registruojant bei lyginant gautus spektrus tarpusavyje.

Pradžioje užregistruoti skirtingų rūšių (EVOO bei saulėgrąžų) aliejai abiem virpesinės spektrometrijos metodais. Iš gautų rezultatų daroma išvada, jog abu metodai tinkami atskirti aliejų rūšis. Kadangi spektrų skirtumai didesni užregistruoti FT-Raman metodu, likę matavimai atlikti FT-Raman sklaidos metodu. Išmatuoti EVOO, saulėgrąžų, rapsų aliejų spektrai, kuriuos lyginant matomos charakteringiausios spektrinės juostos. Užregistruoti 5 skirtingi EVOO spektrai, iš kurių paskaičiuotas spektrinių intensyvumų santykių intervalas, kuris parodo, ar aliejus patenka į EVOO kategoriją. Išmatuoti aliejų mišinių (EVOO ir rapsų, EVOO ir saulėgrąžų), kurių koncentracija (EVOO atžvilgiu) kinta nuo 95 % - 10 %, spektrai. Suskaičiavus mišinių spektrinių intensyvumų santykius, matoma, jog mišiniai turintys 5 % ar daugiau priemaišų, nebepatenka į EVOO santykių intervalą. Taip pat, matavimai atlikti nepažeidžiant pakuotės ir aliejų tiriant per butelį. Signalo bei triukšmo santykis tinkamas, jog išmatuotam spektrui galima pritaikyti EVOO spektrinių santykių intervalą.

Summary

Detection of Olive Oil Adulteration Using Raman Spectroscopy

Matas Baltrėnas

The main goal of the study was to find out if any vibrational spectroscopy method is suitable for olive oil adulteration.

Main tasks:

1. Using FT-IR absorption spectrometer register spectra of EVOO and sunflower oil.
2. Using FT-Raman scattering spectrometer register spectra of EVOO, sunflower and rapeseed oil.
3. Using FT-Raman scattering spectrometer register spectra of mixtures of these oils: EVOO with sunflower oil and EVOO with rapeseed oil.
4. Examine received spectra data from different vibrational spectroscopy methods and use information for quality of oils identification.
5. Register EVOO spectra directly through the bottle, without damaging the package.

Food adulteration is one of the most considerable food industry problems. Products are falsified by putting on them labels with the descriptions that do not show the true products' quality. Lately, edible oils, for example, extra virgin olive oils (EVOO), are mentioned as the most adulterated commodity. The main problem in this topic is that there is no reliable, practical, fast and cheap way to identify adulterations and classify oils by their quality.

In this work, oils have been studied in order to figure out if vibrational spectroscopy methods can be applied to determine the quality of olive oils. Vibrational spectroscopy methods are non-invasive, fast and quite precise. Experiments have been made using two methods of vibrational spectroscopy: FT-IR absorption and FT-Raman scattering. The vibrational spectra were registered and analyzed.

Firstly, two different types of oils (EVOO, sunflower) were measured using different methods. The conclusions from spectra comparison are that both methods are effective to discern different oils. Further measurements were made using FT-Raman scattering method, because in FT-Raman spectra more notable differences were seen. EVOO, sunflower and rapeseed oil spectra were measured and characteristic bands selected. Also, five different EVOO spectra were registered from which intensity of spectra ratio interval was calculated. It shows if measured oil fits EVOO category. Different mixtures of oil spectra (EVOO and rapeseed, EVOO and sunflower), which concentration, changing from 95 % to 10 %, were measured. From the calculations of the spectra ratio intensity it was seen that, mixtures, that have 5 % or more impurity, do not fit into EVOO ratio intensity interval. Additionally, the measurements were made without damaging the package and measuring directly through the bottle. In the spectra which were measured, signal-to-noise ratio is suitable for EVOO intensity ratio interval.