

Raman Spektroskopisinin Gıdaların Kalite Kontrolünde Kullanım Potansiyeli

Gölgün YILDIZ TİRYAKİ



KSÜ Gıda Mühendisliği Bölümü

İÇERİK

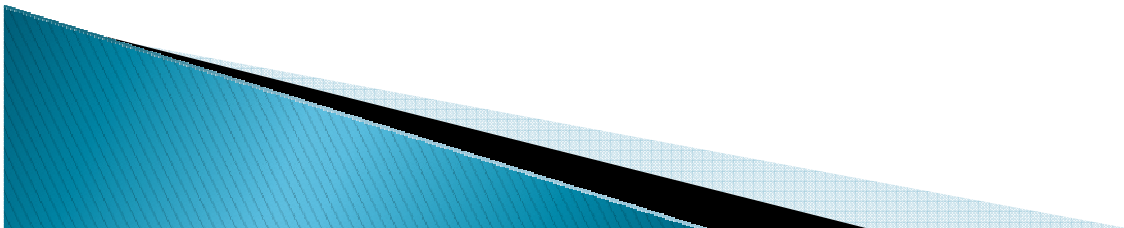
☐ Genel Bilgilendirme

✓ Işığın saçılması

☐ Raman Spektroskopisi

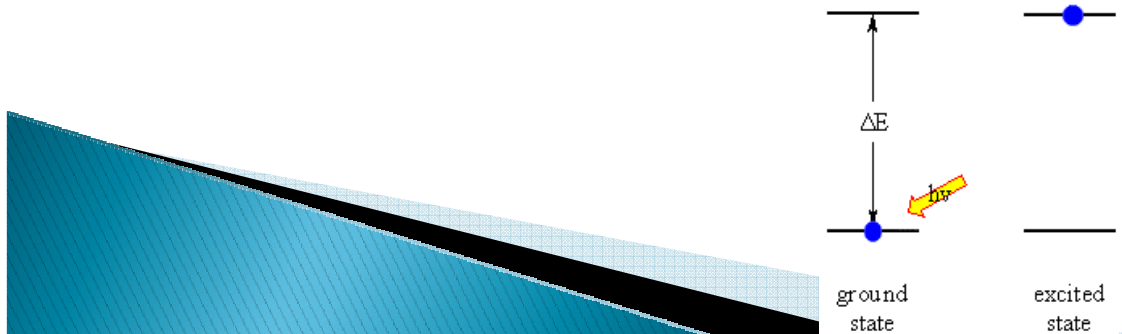
✓ Dayandığı Temel

☐ Analitik Uygulamalara Örnekler



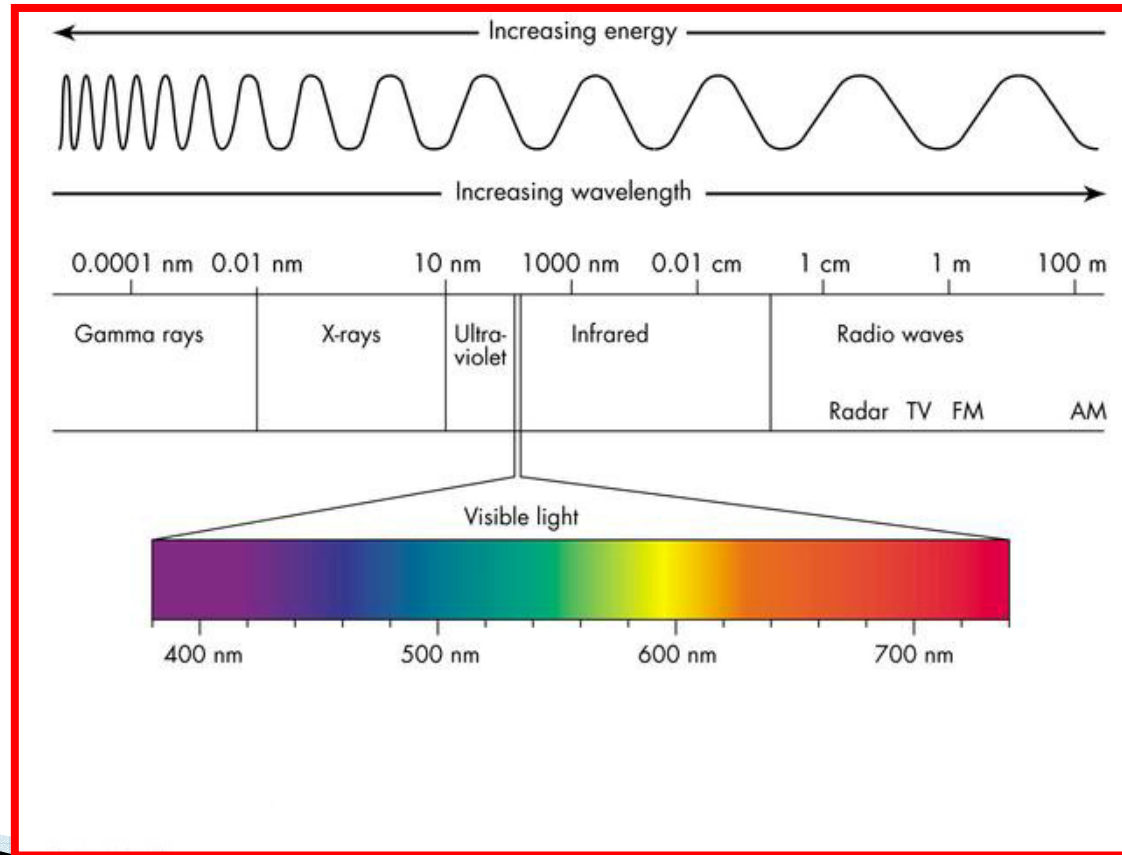
Genel Bilgilendirme

- ❑ **Spektroskopi**, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının ölçülmesi ve yorumlanmasıdır.
 - Kuantum kuramına göre atomlar, ancak elektron konfigürasyonuna ve dış elektronlarının belirli enerji düzeyleri arasındaki geçişlerine bağlı belirli potansiyel enerji düzeylerinde bulunabilirler.



IŞIĞIN ELEKTROMANYETİK SPEKTRUMU

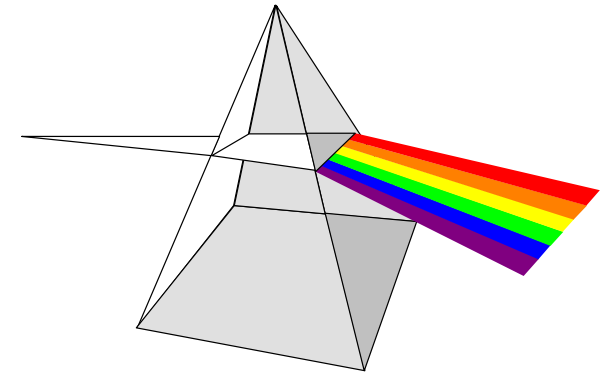
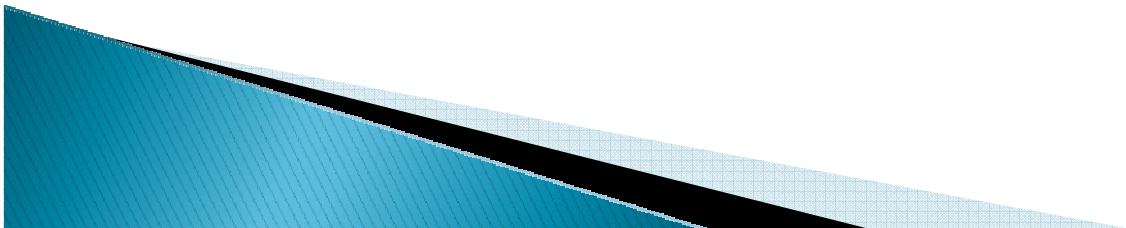
- ✓ Elektromanyetik ışıma, uzayda çok büyük hızla hareket eden bir enerji türüdür.



Elektromanyetik Işıma-Madde Etkileşimleri

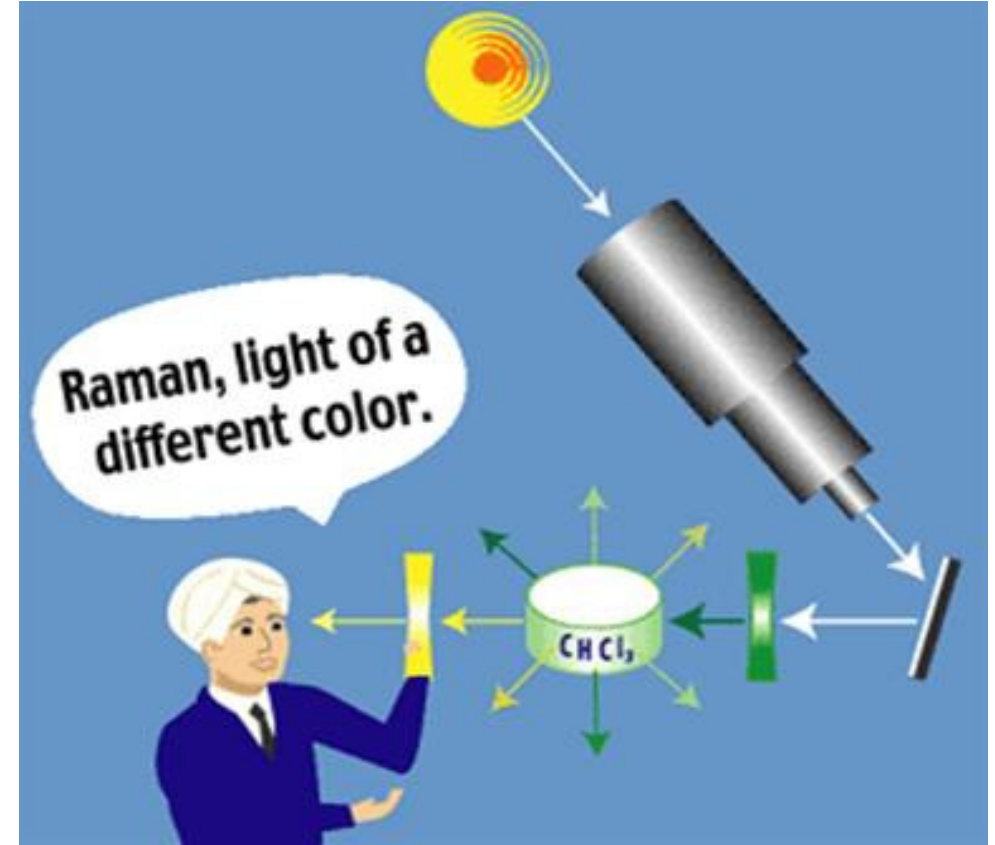
- ☐ Işımanın kırılması ve yansıması
- ☐ Işımanın polarizasyonu
- ☐ Işımanın absorpsiyonu ve emisyonu
- ☐ **Işımanın saçılması**

✓ Fotonun örnekteki parçacıklara çarparak yön değiştirmesine **saçılma** adı verilir.

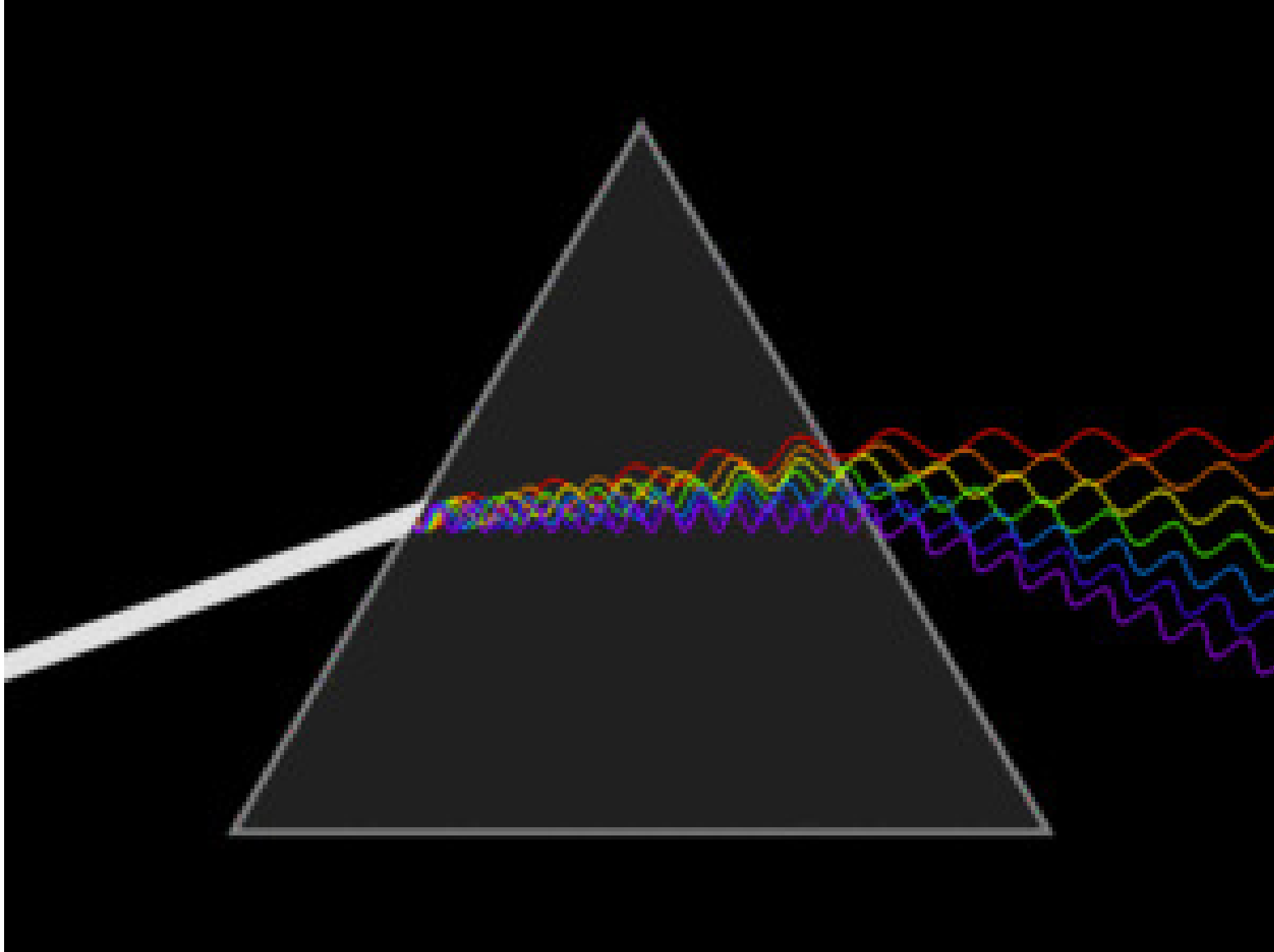


Raman, 1931 Nobel Fizik Ödölünü Aldı

- ✓ Raman saçılımı, Hint fizikçi C.V. Raman tarafından 1928 yılında bulundu.



Üçgen Prizmadan Geçerek Dağılan Bir Işık Demeti

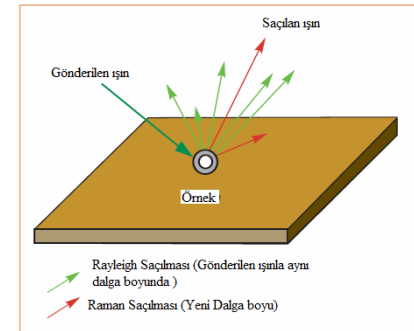


Raman'a göre

1. Işın geçirgen bir ortamdan geçerken, ortamdaki türler, gelen ışın demetinin bir kısmını çeşitli yönlerle doğru saçarlar.

✓ Raman saçılmasının diğer saçılma türlerinden farkı saçılan ışının bir bölümünün frekans değişimlerine uğramasıdır.

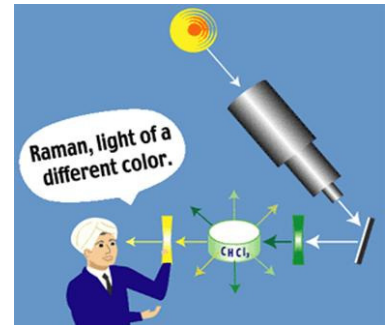
✓ Bu değişimler, moleküllerdeki titreşim enerji geçişleriyle meydana gelirler.

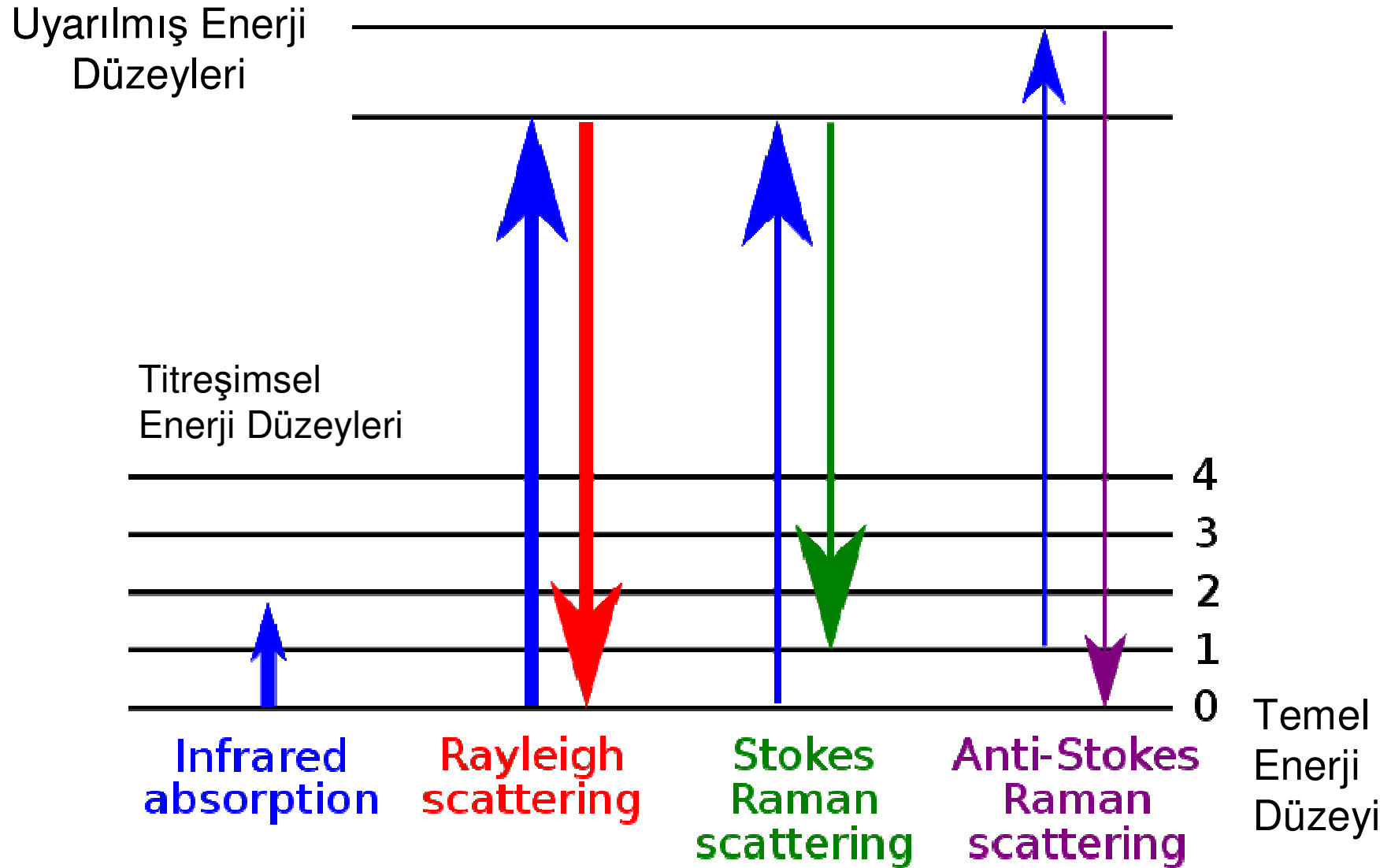


Raman'a göre...

2. Yayınlanan ışın üç tiptir:

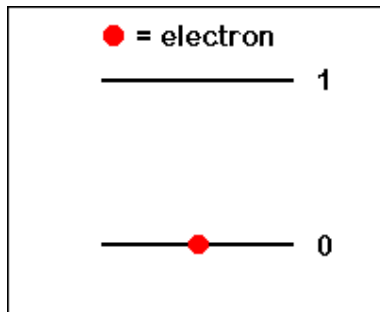
- ✓ Stokes saçılımı,
 - ✓ Anti-Stokes saçılımı ve
 - ✓ Rayleigh saçılımı.
- Dalga boyu, uyarıcı kaynağın dalga boyuyla tamamen aynı olup bu saçılım diğer iki tipten belirgin bir şekilde daha şiddetlidir.



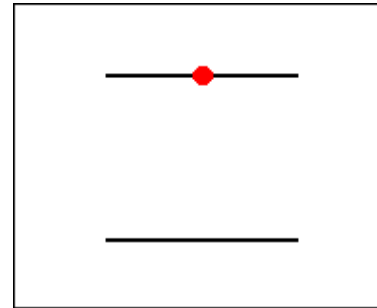


Şekil 1. Işın saçılımları

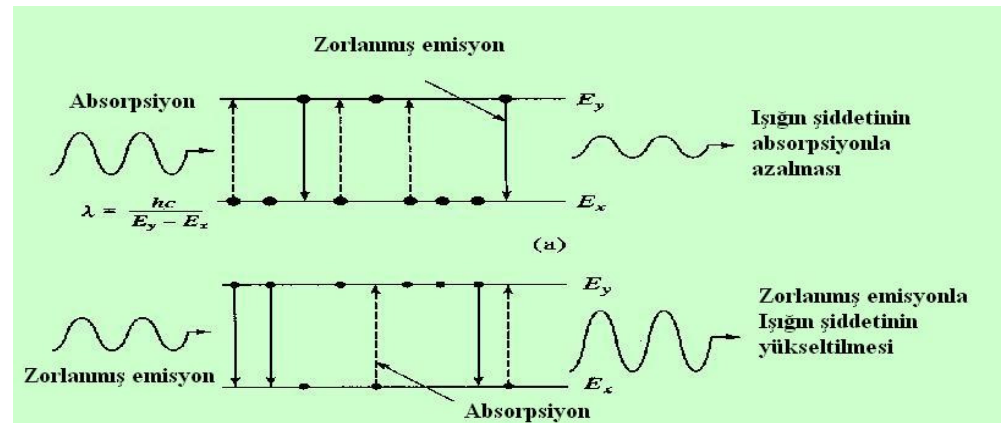
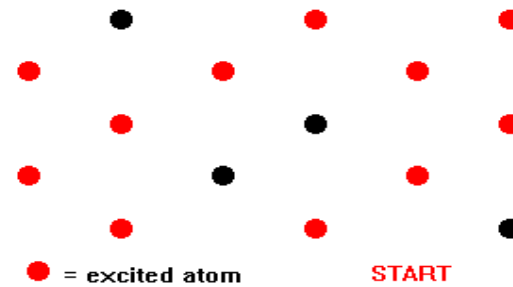
Uyarılmış enerji düzeyinde bulunan bir atom veya molekül kendiliğinden bir ışık emisyonu yapabileceği gibi, uyarılma enerjisine eşit enerjili bir fotonla etkileşerek de ışık emisyonuna zorlanabilir.



Kendiliğinden emisyon



Zorlanmış emisyon



RAMAN SPEKTROSKOPİSİ

Lazer Raman Spektroskopisi



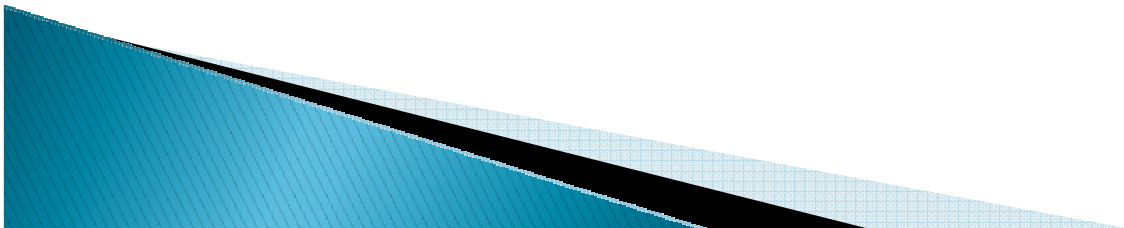
✓ Moleküller ile etkileştirilen ışığın kaynağı olarak son yıllarda genellikle lazer türü kaynaklar kullanıldığından bu yöneme *Lazer Raman Spektroskopisi* adı da verilir.

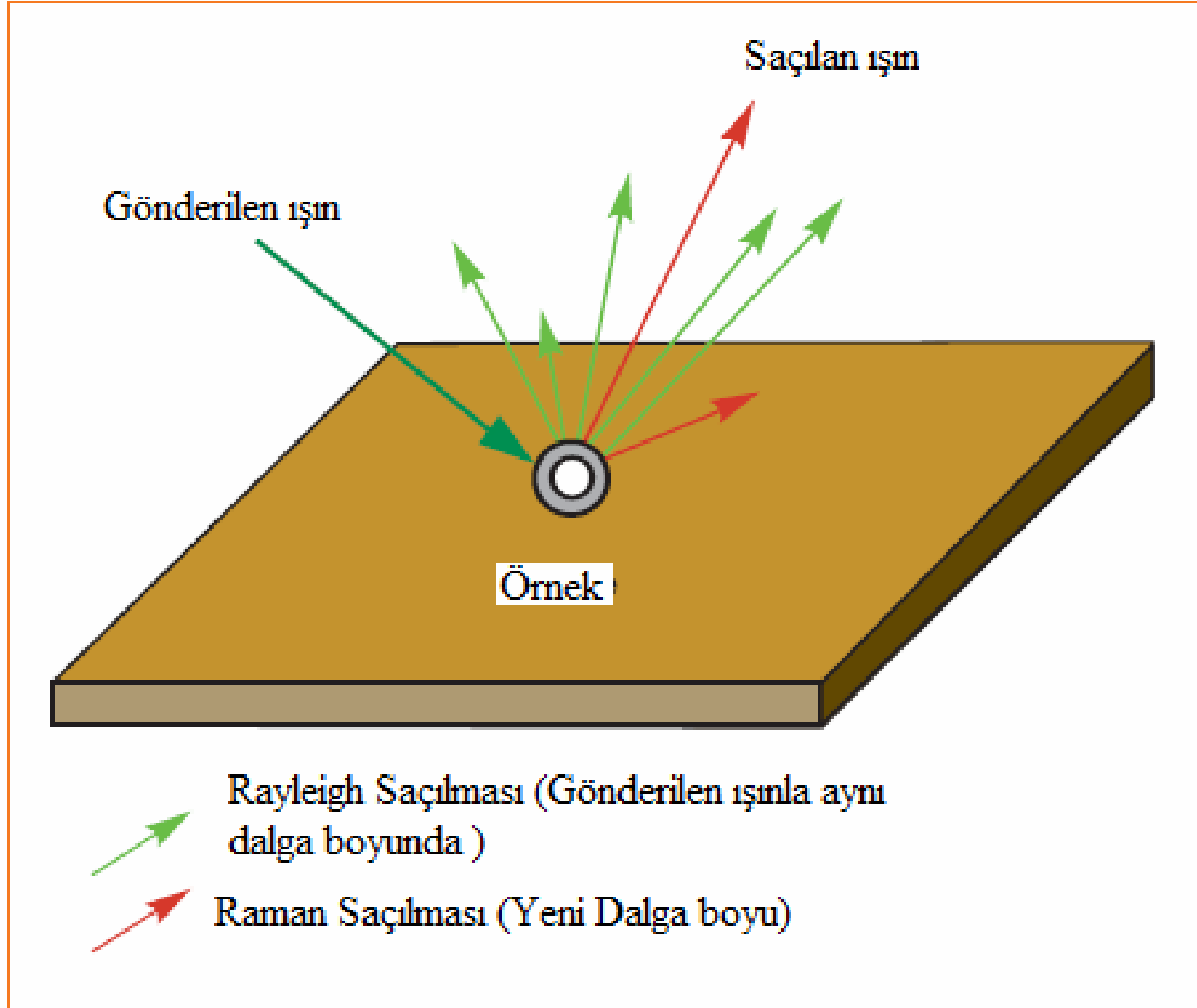


Dayandığı Temel

✓ Örnek moleküllerinin güçlü bir lazer kaynağıyla ışınlanmasıyla saçılan ışının belirli bir açıdan ölçümüne dayanmaktadır (Meurens, 2003).

✓ Raman spektroskopisi molekülün polarlığının değişmesi üzerine kurulmuştur (Gündüz 2002).

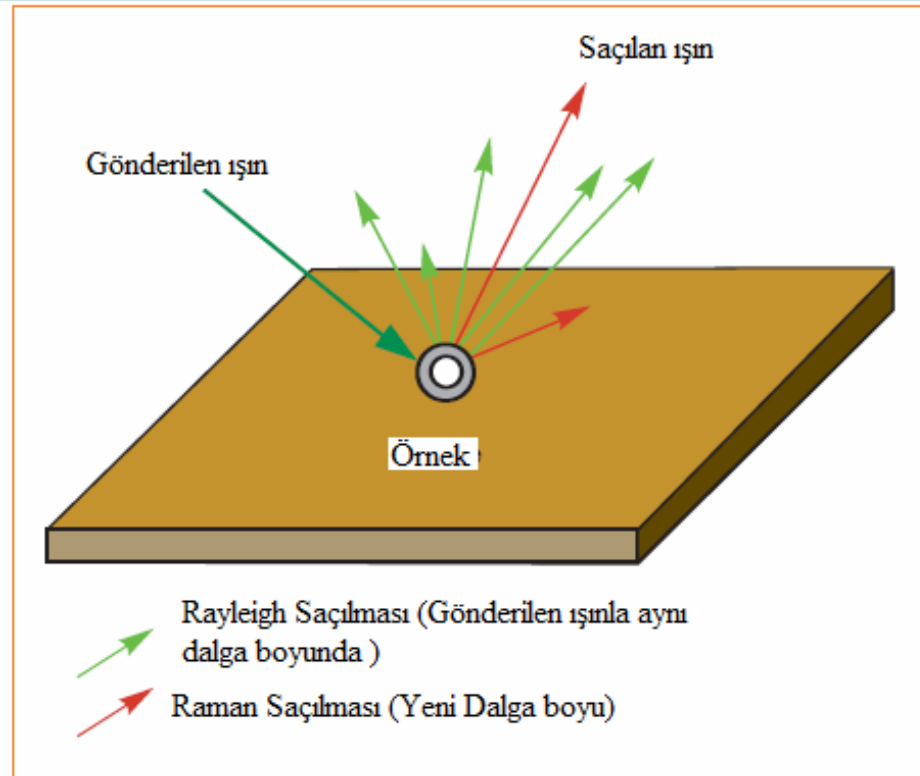




✓ **Rayleigh saçılması** (*Gönderilen ışınla aynı dalga boyunda*): Elastik saçılma olayı

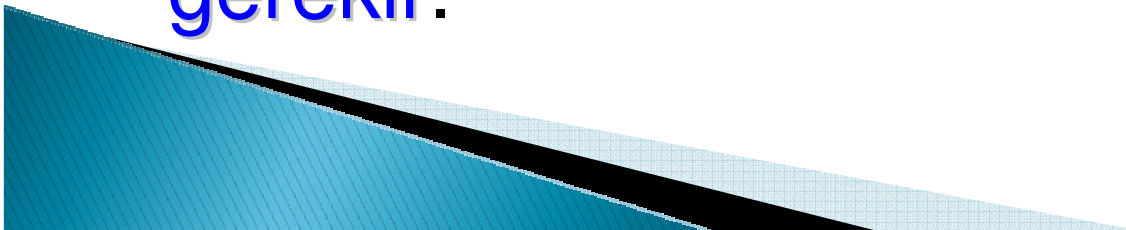
□ Raman saçılmasına göre **104 - 105 kez daha şiddetli** bir saçılmış ışık oluşur. **Ancak Rayleigh saçılması tek bir pik verir ve titreşim geçişleri hakkında bilgi vermez.**

✓ **Raman saçılması**: Elastik olmayan saçılma olayı



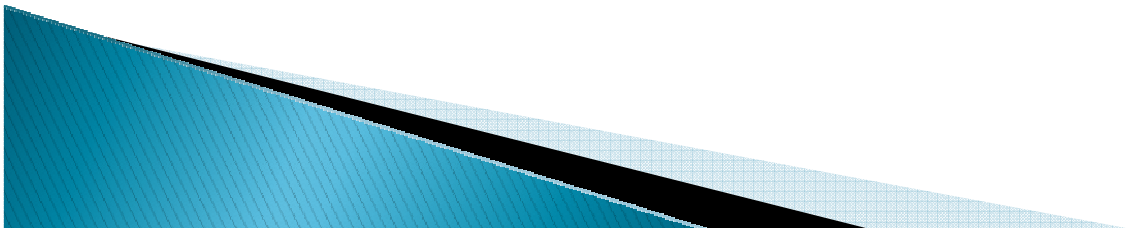
Raman Aktif Moleküller

- ✓ Raman saçılmasının spektroskopik incelenmesi ile **moleküllerin titreşim enerji düzeyleri** hakkında bilgi edinilebilir.
- ✓ Bir titreşimin Raman aktif olabilmesi için, **molekülün kutuplaşabilirliğinin titreşimsel hareket sırasında değişim göstermesi gerekir.**



Bir Raman Pikinin Şiddetine Etkili Faktörler

- ❑ Molekölün polarize olabilme özelliğine,
- ❑ Kaynağın şiddetine ve
- ❑ Aktif grubun konsantrasyonuna bağlıdır
(Skoog and West, 1981).



Raman Spektrofotometresinin Ana Bileşenleri

✓ Bir (ışın) lazer kaynağı

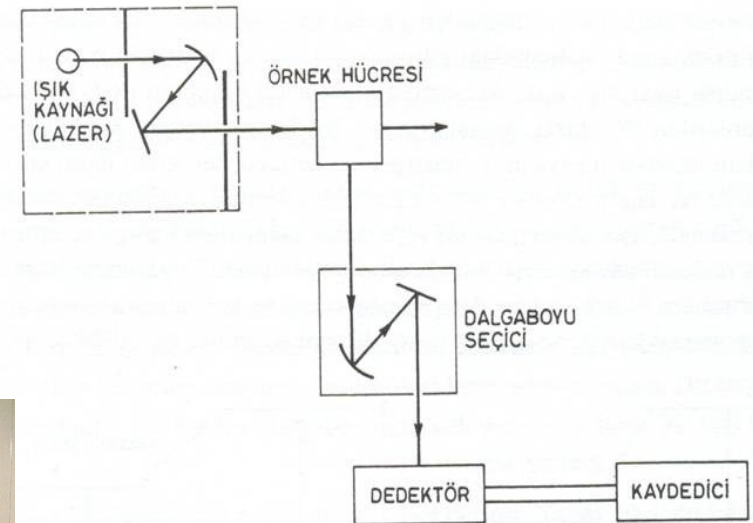
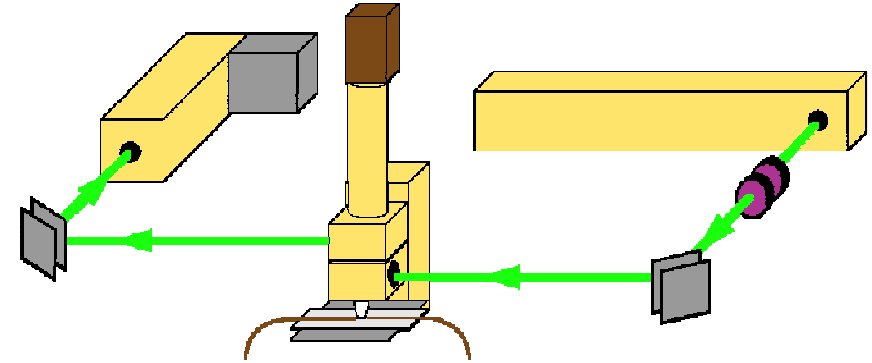
■ Lazer (L.A.S.E.R.), **zorlanmış emisyon ile ışık çoğaltılması** anlamına gelen "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation" sözcüklerinin baş harflerinden türetilmiş bir kısaltmadır.

✓ Örnek Hücresi

✓ Dalga boyu seçici

✓ Dedektör

✓ Kaydedici



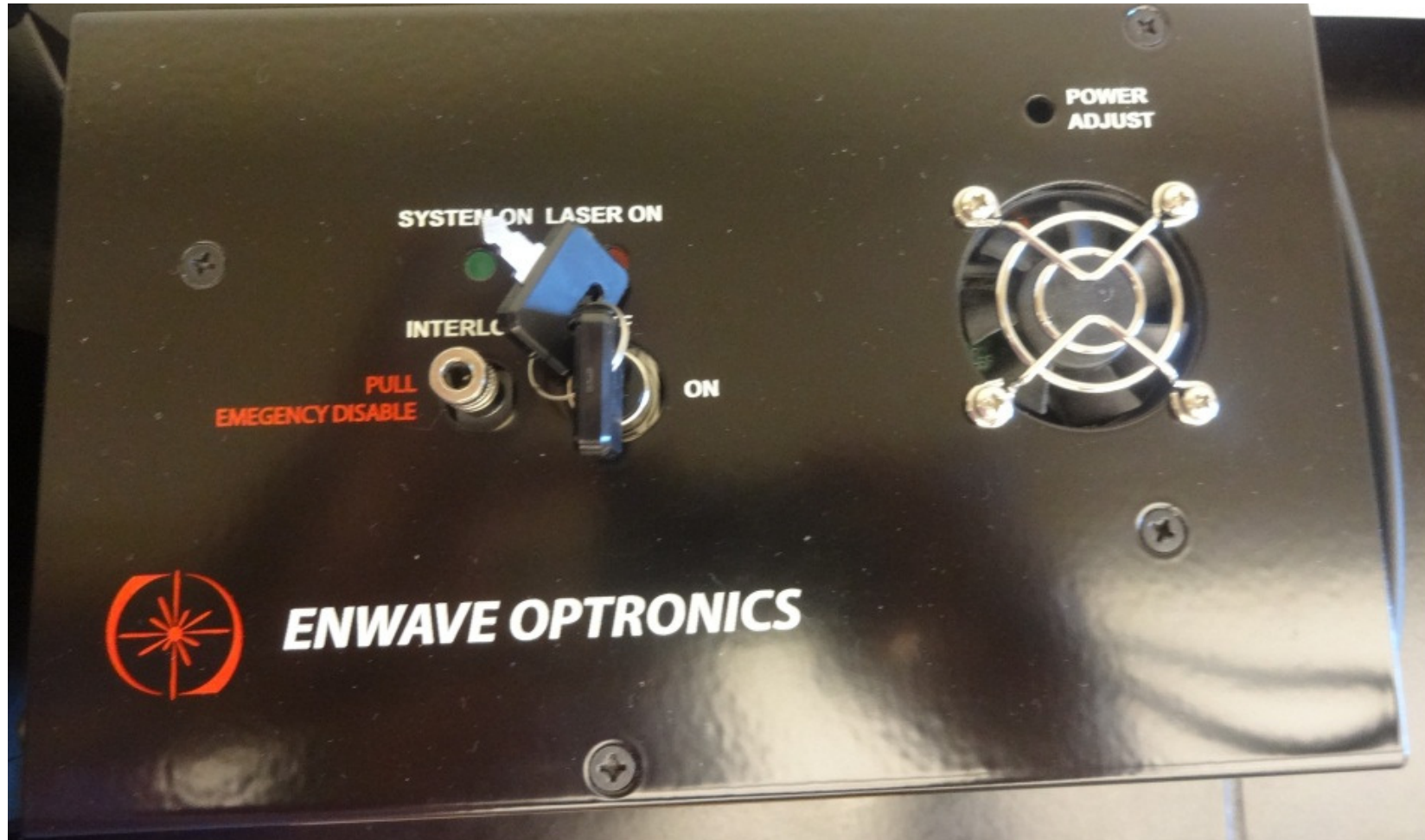


Foto 4. Lazer Kaynağı (Yıldız Tiryaki, 2012)

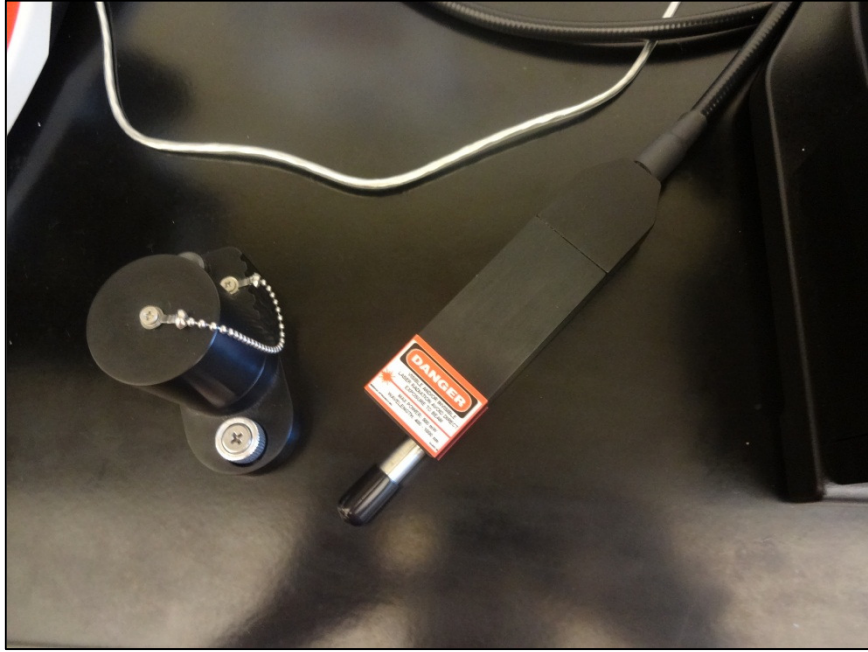
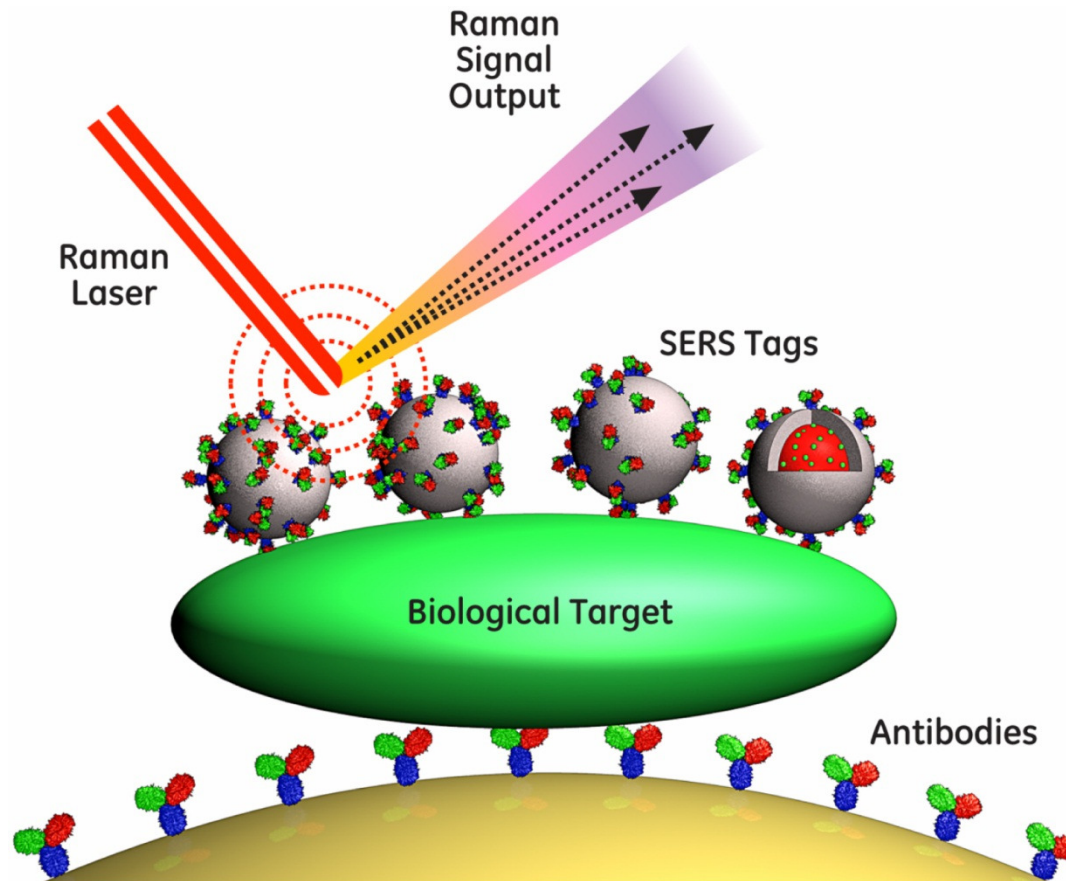


Foto 5. Örnek Ünitesi (Yıldız Tiryaki, 2012)

- ✓ Raman Spektroskopisi, hiçbir numune hazırlamayı gerektirmeyen sadece küçük bir numunenin ölçüm için yeterli olduğu ve numuneye zarara vermeyen bir yöntemdir.



Diğer Tip Raman Spektroskopileri

❑ **Resonans Raman Spektroskopisi (RRS)**

✓ Hassasiyet ve seçicilik yüksektir.

❑ **Yüzey-Zenginleştirilmiş (Surface-Enhanced) Raman Spektroskopisi (SERS)**

❑ **Fourier Transform Raman (FTR) Spektrometresi**

❑ **Doğrusal Olmayan (Coherent) Anti-Stokes Raman Spektroskopisi (CARS)**

✓ Bu teknikte normal Raman spektroskopisinde karşılaşılan

- düşük verim,
- görünür ve ultraviyole bölgeyle sınırlanma, ve
- **fluoresanstan etkilenme** gibi bazı sorunlar bulunmaz.

(Skoog and West, 1981)

Raman Spektroskopisinin Kullanıldığı Analitik Uygulamalara Örnekler



RAMAN SPEKTROSKOPİSİNİN YER ALDIĞI KARAKTERİZASYON TEKNİKLERİ

KİMYASAL



FİZİKSEL



KİMYASAL ÖZELLİKLER:

Özellik	Tanımlama Aracı
Yüzey/arayüz kimyası	X-ray fotoelektron spektroskopisi (XPS, ESCA) Auger elektron spektroskopisi (AES) Sekonder iyon kütle spektroskopisi (SIMS) Iyon saçılma spektroskopisi (ISS) Ultravioleto fotoelektron spektroskopisi (UPS) Infrared spektroskopisi (IR) Raman spektroskopisi

FİZİKSEL ÖZELLİKLER:

Özellik	Tanımlama Aracı
Faz tanımlama / moleküler yapı	X-ray kırınım (diffraction) (XRD) Elektron kırınım (ED) Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR) Raman spektroskopisi Genişletilmiş X-ray analizi ince yapı (Extended X-ray analysis fine structure) (EXAFS) Nötron kırınım

Analitik Uygulamalar...

- ✓ Raman spektroskopisi, **inorganik**, **organik** ve **biyolojik sistemlerin** nitel analizlerinde yaygın olarak uygulanır.
- Raman spektrumundan organik ve inorganik maddelerin **bağları hakkında** kalitatif ve kantitatif bilgilerin yanı sıra **madde veya malzeme yapısını meydana getiren ilgili fonksiyonel gruplar hakkında** da bilgi edinilebilmektedir.



Analitik Uygulamalar...

- ✓ Raman spektroskopisi yöntemi ile katı sıvı ve gaz örnekler incelenebilir.
 - Katı ve sıvı örnekler bir kapiler cam veya kuvarz tüpte tutularak spektrumu çekilir.



Analitik Uygulamalar...

- ❑ İnfrared spektroskopisinde çözücü olarak kullanılamayan su, Raman spektroskopisinde sık kullanılır.
 - Su moleküllerinin neden olduğu Raman hatları oldukça zayıftır.
 - Suyun bu yöntemde kullanılabilen bir çözücü olması, birçok biyokimyasal ve farmasotik maddenin nitel analizinde büyük bir kolaylık sağlar.

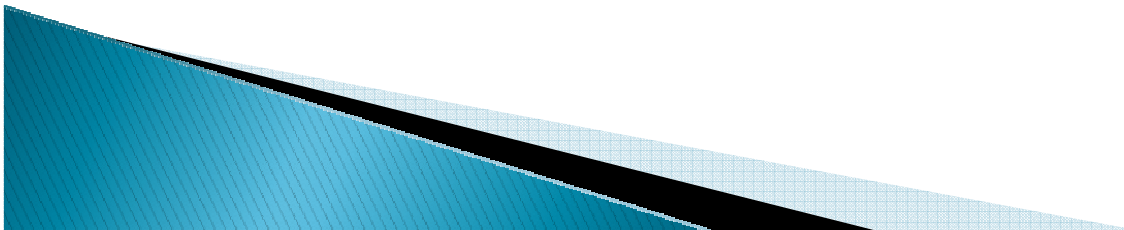


Analitik Uygulamalar...

- ❑ İnfrared spektrumunda moleküllerin yapısında bulunan ve şiddeti az olan bazı bantlar (-C=C-, -C≡C-, -N=N-, -S-S-, -C-O-C-) Raman yöntemi ile rahatça ölçülebilir.
- ❑ Raman spektroskopisi yönteminde aynı aletle
 - ✓ hem yakın infrared
 - ✓ hem normal infrared
 - ✓ hem de uzak infrared bölgelerindeki bilgiler elde edilebilir.

	Görünür Bölge	Kızılötesi Bölge		
Spektral Aralıklar	VIS	Yakın-IR (NIR)	Orta-IR (MIR)	Uzak-IR (FIR)
Dalga sayısı (cm-1)	25000 - 13000	13000 – 4000	4000 – 400	700 – 5

Raman Spektroskopisinin Gıdaların Kalite Kontrolünde Kullanımına Bazı Örnekler



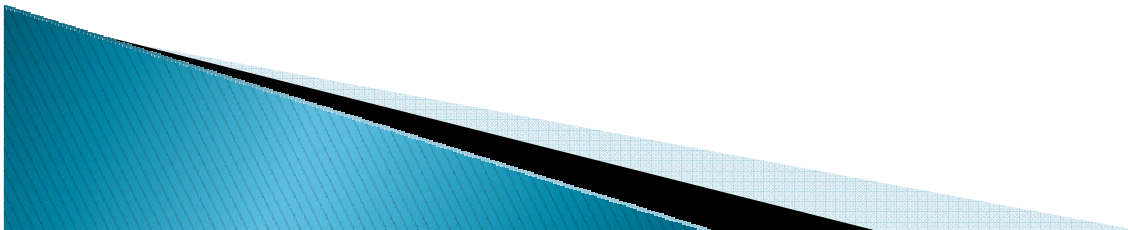
Otantisite Analizlerinde Raman Spektroskopisi Uygulamaları

- Lopez ve arkadaşları (2003): Raman spektroskopisi ve çok değişkenli bilgisayar tabanlı yöntemleri kullanarak birbirine kimyasal yapı olarak çok yakın olan sızma zeytinyağı ve fındıkyağının yapılarını karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir.



Otantisite Analizlerinde Raman Spektroskopisi Uygulamaları

- Dong ve arkadaşları (Eylül-2012): Farklı bitkisel yağların hile amacıyla sızma zeytinyağına katıldığının tahminlemesini Raman spektra ($800-1800\text{ cm}^{-1}$) ile karakterize etmişlerdir.



Dong ve arkadaşları (Eylül-2012)...

Raman spektroskopisinin

- ✓ kullanımının kolay,
- ✓ analiz edilen örneğe zarar vermeyen,
- ✓ “yağ için hassas” ve
- ✓ hile amacıyla farklı bitkisel yağlarla karıştırılmış zeytinyağının üretim hattında “on-line” kullanımına uygun olduğunu belirtilmişlerdir.



Yazgan ve arkadaşları (Haziran-2012):

□ SERS tekniğini kullanarak hassas ve sütte melamini hızlı (15 dak daha az sürede) saptayan yeni bir metot geliştirmişlerdir.

✓ **Anahtar dalga numarası:** Melamin konsantrasyonuna karşılık Raman band alanı: **1330 cm⁻¹**.

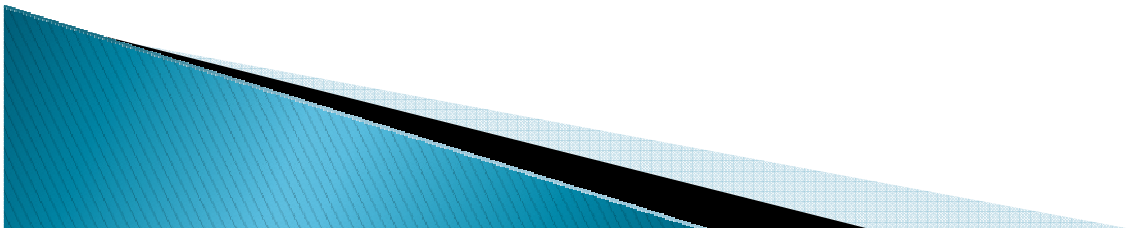
✓ Geliştirilen modelde;

- $R^2 = 0.997$
- LOD (limits of detection)= **0.38 mgL⁻¹**
- LOQ (limits of quantification)=**1.27 mgL⁻¹**

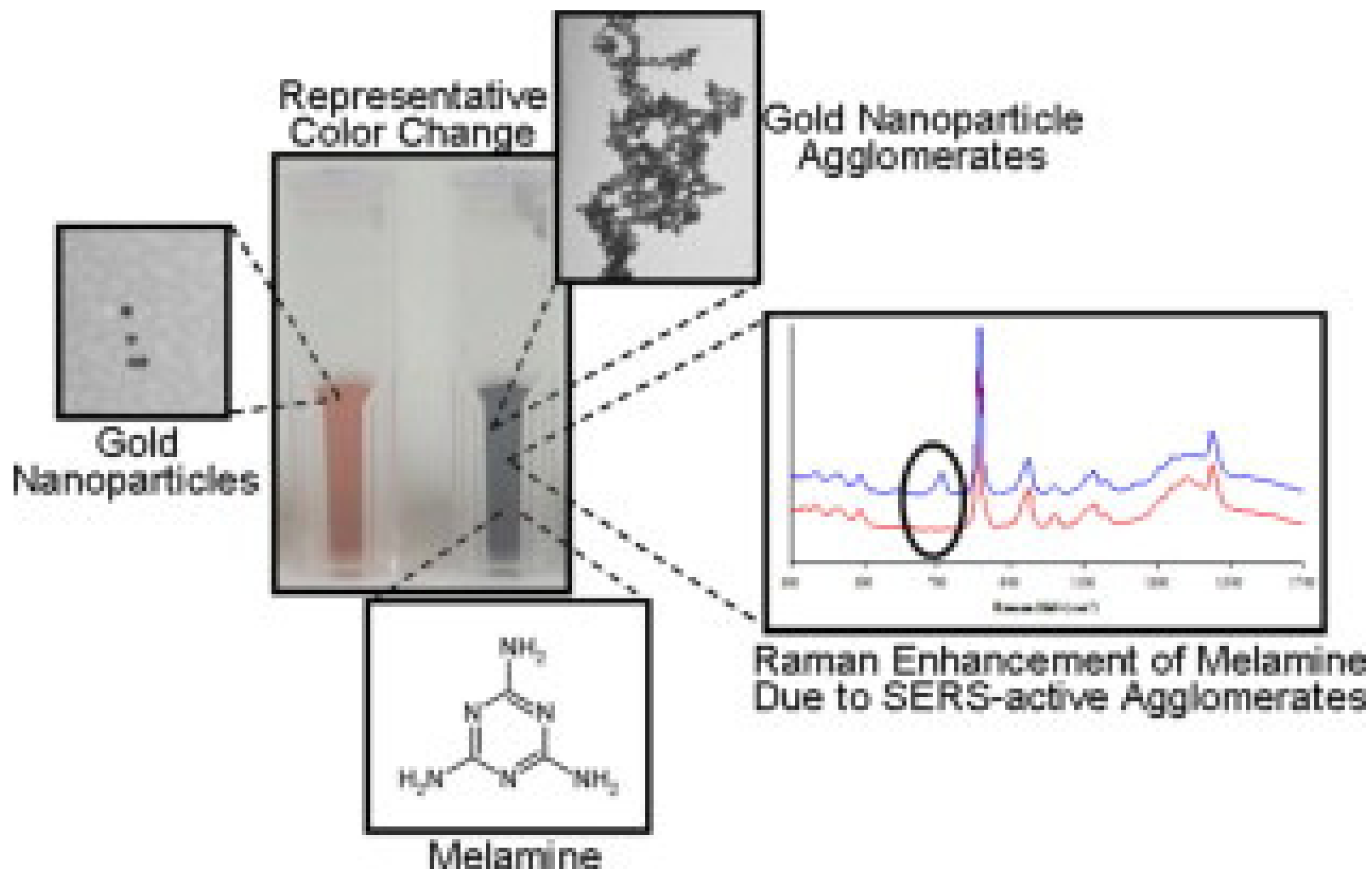
(<http://www.springerlink.com/content/5713uh5812og5l5q/>)

Mecker ve arkadaşları (Temmuz-2012):

- Taşınabilir Raman cihazı (yüzey-zenginleştirilmiş raman spektroskopisi-aktif altın nanopartiküller) ile **kati matrikslerde** (süt tozu, bebek maması, laktoz, peyniraltı proteini, buğday kepeği ve gluteni) **100–200 μgL^{-1}** seviyesinde **melamin** saptamışlardır.



<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267012006332>



Sütte *Brucella* spp. Saptanmasında Raman Spektroskopisi Uygulaması

Meisel ve arkadaşları (Ağustos-2012):

□ Raman spektroskopisinin sütte *Brucella* spp. saptanmasında alternatif potansiyel bir araç olduğunu vurgulamışlardır.

- ✓ Hızlı tanımlama (birkaç saat içinde)
- ✓ Örnek hazırlama gereksiz
- ✓ Tanımlama doğruluğu:

besiyerindeki *Brucella* için %92

sütteki *Brucella* için %94



Gallier ve arkadaşları (Haziran-2012):

□ Kuruyemişlerde var olan yağ ve sığır yağ globullerini raman spektroskopisi ile incelemişlerdir.

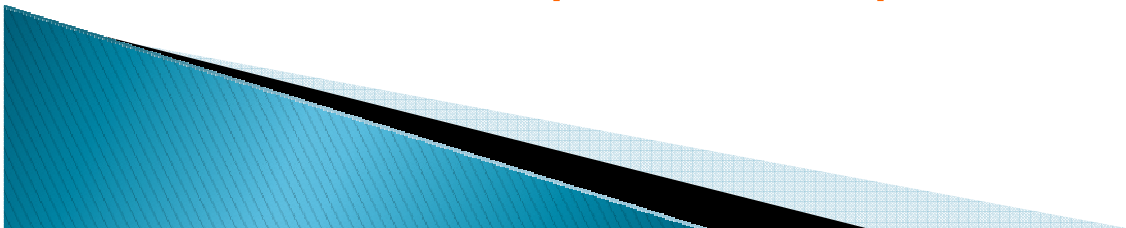
✓ Kuruyemişlerin içerdikleri yağın **tek katmanlı** membranla çevrili, sığır yağ globüllerinin ise **3 katmanlı membranla** çevrili olduklarını ve

- bu yapıların, gıda matriksi içindeki yağ damlalarının stabilitesi ve sindirilebilirlikleri üzerine etkileri olabileceğini vurgulamışlardır.



Di Anibal ve arkadaşları (Şubat-2012):

- ❑ Çok değişkenli bilgisayar tabanlı yöntem ile kombine edilen normal Raman, FT-Raman ve Yüzey-zenginleştirilmiş Raman spektroskopi tekniklerini baharatlarda **Sudan I boyasını** saptayan bir araç olarak değerlendirdiler.
- ✓ Baharatlarda en iyi Sudan 1 boyasını saptama aracı olarak **Yüzey-zenginleştirilmiş Raman spektroskopisi** olduğu saptanmıştır.



Miranda-Bermudez ve arkadaşları (2012):

❑ Carbon black (C. I. 77266) hidrokarbonların kısmi yanmasıyla elde edilen çözünmez pigmenttir.

✓ Bu pigmentin bazı sinonimleri: **vegetable carbon**, **lamp black** and **carbon ash**

❑ Bitkisel karbon (E153) AB tarafından gıda boyası olarak izin verilmiştir.

❑ FDA tarafından onaylanmamıştır.

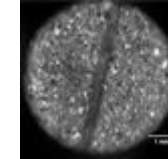
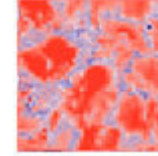
✓ D&C Black No. 2 bazı kozmetiklerde renklendirici olarak kullanılmaktadır.

❑ Raman spektroskopisini kullanarak bazı standartlar ve gıda ürünlerinde karbon siyahının kalıntılarının varlığı onaylandı.

❑ Bu pigmentin maksimum limitleri: 0.0001g/

Raman Spektroskopisinin Kullanıldığı Alanlar-ÖZET

- ✓ Gıda Mühendisliğinde
- ✓ Mineraloji (değerli maden bilimi),
- ✓ Çevresel izleme,
- ✓ Yüzey analizi,
- ✓ Malzeme bilimi,
- ✓ Kimya (medikal ve klinik kimyası),
- ✓ Doğa bilimleri,
- ✓ Nanoteknoloji,
- ✓ Adli tıp,
- ✓ Eczacılık,
- ✓ Biyolojik bilimler (biyoteknoloji),
- ✓ Arkeoloji ve
- ✓ Sanat ve mirasi değerler alanlarında etkili bir biçimde kullanılmaktadır.

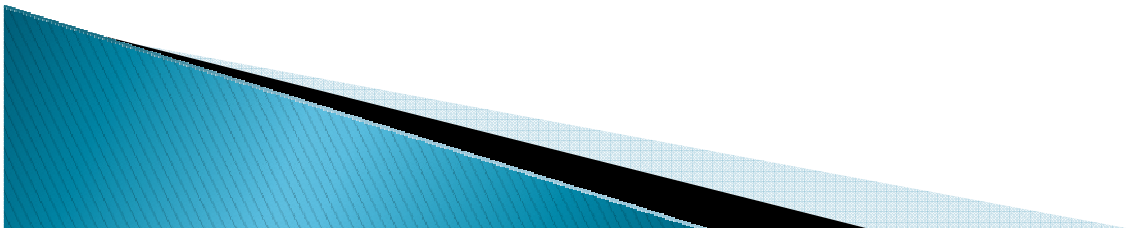


(Das and Agrawal, 2011)

Raman Spektroskopisinin Kullanıldığı Alanlar-ÖZET...

- ✓ Aynı zamanda kalite değerlendirmesi ve süreç izleme için giderek kullanımı artmaktadır.
- Örneğin, kağıt endüstrisi, polimer ve plastik sektöründe, kimya ve ilaç sektörlerinde vb.)

(Das and Agrawal, 2011)



Kaynakça

- Miranda-Bermudez, E., Belai, N., Harp, B.P., Yakes, B.J. and Barrows, J.N. (2012). Qualitative determination of carbon black in food products . FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS PART A-CHEMISTRY ANALYSIS CONTROL EXPOSURE & RISK ASSESSMENT Volume: 29 (1): 38-42.
- Di Anibal, C.V., Marsal, L.F., Callao, M.P. and Ruisanchez, I. (Feb-2012). Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) and multivariate analysis as a screening tool for detecting Sudan I dye in culinary spices . Source: SPECTROCHIMICA ACTA PART A-MOLECULAR AND BIOMOLECULAR SPECTROSCOPY, 87: 135-141.
- Yazgan, N.N., Boyaci, I.H., Topcu, A. and Tamer, U. (Jun-2012). Detection of melamine in milk by surface-enhanced spectroscopy coupled with magnetic and -labeled nanoparticles. Analytical And Bioanalytical Chemistry, 403 (7): 2009–2017.
- Gallier, S., Gordon, K.C. And Singh, H., (Jun-2012) Chemical and structural characterisation of almond oil bodies and bovine milk fat globules Food Chemistry, 132 (4): 1996-2006.
- Mecker, L.C., Tyner, K.M., Kauffman, J.F., Arzhantsev, S., Mans, D.J., and Grynowicz-Ruzicka. (Jul-2012). Selective melamine detection in multiple sample matrices with a portable Raman instrument using surface enhanced Raman spectroscopy-active gold nanoparticles. Analytica Chimica Acta, 733: 48-55.
- Meisel, S., Stockel, S., Elschner, M., Melzer, F., Rosch, P. and Poppl, J., Aug-2012. Raman Spectroscopy as a Potential Tool for Detection of Brucella spp. in Milk. Applied And Environmental Microbiology, 78 (16): 5575-5583.

Kaynakça...

Dong, W., Zhang, YQ, Zhang, B, Wang, XP., Sep-2012. Quantitative analysis of adulteration of extra virgin olive oil using Raman spectroscopy improved by Bayesian framework least squares support vector machines. *Analytical Methods*. 4 (9): 2772-2777.

Das, R.S. and Agrawal, Y.K. (Nov-2011). Raman spectroscopy: Recent advancements, techniques and applications. *VIBRATIONAL SPECTROSCOPY*, 57 (2) : 163-176.

Lopez-Diez, E.C., Bianchi, G. and Goodacre, R. 2003. Rapid quantitative assessment of the adulteration of virgin olive oils with hazelnut oils using Raman spectroscopy and chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(21): 6145-6150.

Meurens, M. 2003. Spectrophotometric techniques. In: *Food Authenticity and Traceability*. Ed: Lees, M. CRC Press. pp. 185-194.

<http://tr.wikipedia.org/wiki/>

http://tr.wikipedia.org/wiki/Elastik_olmayan_n%C3%B6tron_sa%C3%A7%C4%B1lmas%C4%B1

<http://www.rsc.org/csr>, Vibrational Spectroscopy: a “vanishing” discipline?, Robert J. Meier, 26.05.2005

http://science.widener.edu/svb/ftir/ir_co2.html

http://www.med.upenn.edu/bmbgrad/Faculty/Master_List/Vanderkooi/course_notes/8.vibrational.pdf

<http://www.merlab.metu.edu.tr/fourier-donusumlu-kizil-oetesi-ve-raman-spektrometresi>

TEŞEKKÜR EDERİM.

Gölgün YILDIZ TİRYAKİ



KSÜ Gıda Mühendisliği Bölümü

