

ANNA DANKOWSKA, MARIA MAŁECKA, WOJCIECH KOWALEWSKI

ZASTOSOWANIE FLUORYMETRII SYNCHRONICZNEJ DO WYKRYWANIA ZAFALSZOWANIA OLIWY Z OLIVEK WYBRANYMI OLEJAMI Z NASION

Streszczenie

Oliwa ekstra virgin charakteryzuje się wysoką jakością, w tym pożądanymi cechami sensorycznymi i właściwościami prozdrowotnymi oraz zawartością wolnych kwasów tłuszczowych poniżej 0,8 %. Jest droższa od oliw niższych kategorii oraz od olejów z nasion, dlatego bywa fałszowana.

W celu klasyfikacji i sprawdzania autentyczności oliwy z oliwek stosuje się zarówno analizę sensoryczną, jak i metody instrumentalne. Do najczęściej stosowanych technik zalicza się: chromatografię gazową i cieczową, spektrofotometrię UV-VIS, spektroskopię w podczerwieni oraz, alternatywnie, metody fluorymetryczne, które są coraz częściej wykorzystywane w analizie żywności.

Celem przeprowadzonych badań było zastosowanie pomiaru widm synchronicznych fluorescencji do wykrywania zafałszowań oliwy ekstra virgin olejami z nasion (sojowymi, słonecznikowymi i rzepakowymi). W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono przydatność analizowanej metody do wykrywania zafałszowania oliwy badanymi olejami z nasion. Najniższe granice wykrywalności (2,5 %) oraz najniższe błędy estymacji (2,7 %) i walidacji (2,8 %) modeli wielokrotnej regresji liniowej, zastosowanych do oceny poziomu zafałszowania, uzyskano w przypadku intensywności fluorescencji przy różnicy między długością fali emisji i wzbudzenia równej 30 nm.

Słowa kluczowe: oliwa z oliwek, zafałszowanie, fluorymetria synchroniczna

Wprowadzenie

Oliwa z oliwek charakteryzuje się nie tylko pożądanymi właściwościami sensorycznymi, fizykochemicznymi i prozdrowotnymi, ale i znaczną trwałością [19, 20]. Po włączeniu Polski w strukturę Unii Europejskiej nastąpił wzrost sprzedaży oliwy i znaczne rozszerzenie asortymentu oliw na rynku krajowym. Cena oliwy ekstra virgin

Dr inż. A. Dankowska, prof. dr hab. M. Małecka, Katedra Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Al. Niepodległości 10, 61-875 Poznań, dr W. Kowalewski, Zakład Teorii Przestrzeni Funkcyjnych, Wydz. Matematyki i Informatyki, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, ul. Umultowska 87, 61-001 Poznań

jest znacznie wyższa od ceny oliw niższych kategorii oraz olejów z nasion (rzepakowego, sojowego czy słonecznikowego), co bywa przyczyną jej fałszowania [8, 21].

Do oceny jakości i wykrywania zafałszowań oliwy opracowano szereg metod. Część z nich została włączona do rozporządzenia Komisji (EWG) nr 2568/91, w którym zawarto wymagania dotyczące właściwości poszczególnych kategorii oliw oraz odpowiednie metody i procedury analityczne. Dobór parametrów poddawanych analizie przez jednostki nadzoru został ustalony w taki sposób, aby wyeliminować możliwość wprowadzenia do obrotu oliw zafałszowanych oliwą niższej kategorii bądź też przez dodanie do nich innego tłuszczu.

W analizie żywności, także tłuszczów jadalnych, coraz częściej stosuje się metody fluorymetryczne, w tym pomiary synchroniczne widm [17]. Analiza widm pozwala na rozróżnienie oliw ekstra virgin od oliw niższych kategorii oraz olejów z nasion, co może być przydatne do wykrywania zafałszowań oliwy [4, 13]. Zaletą widm synchronicznych fluorescencji jest ich uniwersalność, rozumiana jako możliwość uzyskania widm, które zależą równocześnie od rozkładu spektralnego wzbudzenia i emisji fluorescencji, jak również niski koszt i mały nakład pracy wymagany do wykonywania analiz. Przywołane wyżej rozporządzenie Komisji UE nie zawiera wytycznych do stosowania pomiaru fluorescencji w celu oceny jakości i autentyczności oliwy. Dotychczasowe badania wskazują, że nie tylko pomiar całych widm, ale również punktowy pomiar intensywności fluorescencji przy odpowiednich długościach fal umożliwia rozróżnianie olejów [16]. Przeprowadzany wcześniej dobór fal analitycznych miał podstawy wyłącznie chemiczne, natomiast w niniejszej pracy autorzy podjęli próbę zobiektywizowania tego wyboru metodą matematyczną.

Celem pracy było zastosowanie pomiarów widm synchronicznych fluorescencji do wykrywania zafałszowań oliwy ekstra virgin olejami z nasion: sojowym, słonecznikowym i rzepakowym.

Material i metody badań

Przedmiotem badań były próbki czterech oliw ekstra virgin oraz tłoczone na zimno (nierafinowane) oleje roślinne: sojowy, słonecznikowy i rzepakowy (po dwa z każdego rodzaju), zakupione na poznańskim rynku. Oliwy oraz oleje miały ważny termin przydatności do spożycia. W próbkach olejów oznaczano zawartość wolnych kwasów tłuszczowych [12], liczbę nadtlenkową [11] oraz skład kwasów tłuszczowych [10, 15]. Wyniki zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i liczb nadtlenkowych spełniały wymagania odpowiednich norm [1, 14]. Wolne kwasy tłuszczowe oliw i olejów z nasion zawierały się odpowiednio w zakresach 0,7 - 0,8 % oraz 0,4- 0,8 %, natomiast liczby nadtlenkowe 9,9 - 14,3 oraz 2,0 - 4,9 mEq O₂/kg. Profile kwasów tłuszczowych odpowiadały wartościom granicznym przewidzianym dla badanych rodzajów olejów [7].

Sporządzono 12 serii modelowych mieszanek oliw ekstra virgin z dodatkiem olejów fałszujących (sojowego, słonecznikowego i rzepakowego) w ilości: 3, 5, 8, 10, 15, 20 i 25 %. Łącznie przygotowano 94 próbki, a każdą z nich analizowano trzykrotnie.

Wykonywano widma synchroniczne fluorescencji roztworów olejów i mieszanek olejów w heksanie o stężeniu 1 g w 100 cm³ roztworu (1 %, m/v). W technice pomiarów synchronicznych fluorescencji oba monochromatory: wzbudzeniowy i emisyjny przedstawiane są jednocześnie, tak aby różnica między długością fali emisji i wzbudzenia była przez cały czas pomiaru taka sama. Zwężenie pasm sprawia, że ta technika pomiarów fluorescencyjnych pozwala na uproszczenie widm i zredukowanie nakładania się pasm. Pomiar synchronicznych widm fluorescencji wykonywano w geometrii kąta prostego w zakresie długości fali wzbudzenia $\lambda = 240 - 700$ nm, przy stałych różnicach między długością fali emisji i wzbudzenia wynoszących odpowiednio $\Delta\lambda = 10, 30, 60$ i 80 nm. Pomiar przeprowadzono przy użyciu spektrofluorometru Fluorolog 3-11 z lampą ksenonową, Spex-Jobi Yvon S.A [16].

Zastosowano algorytm wyboru zmiennych SPA (ang. Successive Projections Algorithm) oraz prostą i wielokrotną regresję liniową [18]. Algorytm ten stosowano wcześniej do wyboru długości fal z widm spektrofotometrycznych UV-Vis olejów roślinnych, w celu późniejszej klasyfikacji olejów metodą liniowej analizy dyskryminacyjnej (LDA) [2]. Algorytm SPA okazał się lepszym narzędziem służącym do wyboru zmiennych niż stosowany wcześniej algorytm genetyczny [6]. Zastosowanie w niniejszej pracy algorytmu SPA do analizy widm pozwoliło na wybranie spośród całego widma synchronicznego analitycznych długości fal najlepiej różnicujących poszczególne próbki. Danymi wejściowymi do zastosowanego algorytmu SPA były: pierwsza zmienna, za którą przyjęto długość fali równą 666 nm (rejon emisji chlorofilu), liczba fal, która miała zostać wybrana przez algorytm (sześć) oraz uśrednione widma synchroniczne fluorescencji oliw z oliwek oraz olejów: sojowego, słonecznikowego i rzepakowego. Intensywność fluorescencji przy wybranych długościach fal została poddana dalszej analizie statystycznej metodą prostej i wielokrotnej regresji liniowej.

Granice wykrywalności olejów roślinnych w oliwie obliczano jako iloraz potrojonego odchylenia standardowego punktu przecięcia linii regresji do współczynnika kierunkowego prostej. Wszystkie analizy statystyczne wykonywano w programie Statistica 7.0 (StatSoft Inc, Tulusa, USA), natomiast algorytm SPA został zaimplementowany w języku C++ (kompilator Visual Net 2005).

Wyniki dyskusja

Różnice w widmach fluorescencyjnych poszczególnych olejów, uzyskane w danych warunkach pomiaru, wynikają ze zróżnicowania ilościowo-jakościowego składu związków wykazujących naturalną emisję, takich jak: tokoferole, chlorofile oraz związki fenolowe [5, 9, 16, 17].

Wykresy intensywności fluorescencji analizowanych próbek oliwy i olejów przy zastosowaniu różnic między długością fali emisji i wzbudzenia ($\Delta\lambda$) wynoszącymi odpowiednio 10, 30, 60 i 80 nm przedstawiono na rys. 1.

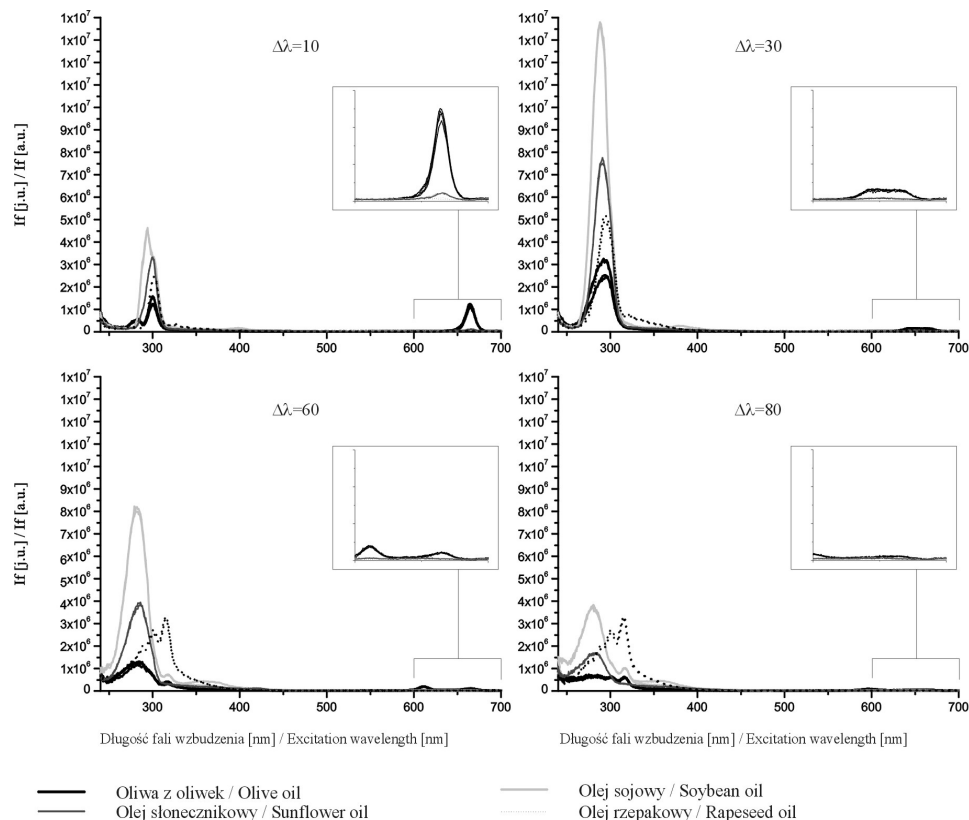
Zróznicowany przebieg widm synchronicznych fluorescencji poszczególnych rodzajów tłuszczów umożliwił rozróżnienie olejów roślinnych i oliwy. Intensywność fluorescencji oraz kształt widma zależą od różnicy między długością fali emisji i wzbudzenia ($\Delta\lambda$). Przy zastosowaniu $\Delta\lambda = 10$ nm, charakterystyczne dla oliwy z oliwek pasmo z maksimum przy 284 nm pochodziło od emisji związków fenolowych, natomiast w rejonie 300 nm obserwowano wąskie pasmo związane z obecnością tokoferoli. Przy większych różnicach między długością fali emisji i wzbudzenia pasmo to przesunęło się w kierunku krótszych fal. Widma oliwy uzyskane przy różnicy między długością fali emisji i wzbudzenia równej 10 nm mają intensywne pasmo z maksimum występującym przy około 666 nm związane z emisją chlorofilu. Wraz ze wzrostem parametru $\Delta\lambda$ można zauważyć zmniejszenie szczegółowości uzyskiwanych widm, poszerzenie uzyskanych pasm oraz obniżenie intensywności [16, 17].

Zastosowanie w niniejszej pracy algorytmu SPA do analizy widm pozwoliło na wybranie spośród całego widma synchronicznego analitycznych długości fal różnicujących najlepiej poszczególne próbki. Przy zastosowaniu algorytmu wybrano następujące długości fal: 291, 292, 294, 300, 302, 666 ($\Delta\lambda = 10$ nm); 287, 289, 290, 299, 303, 666 ($\Delta\lambda = 30$ nm); 282, 284, 285, 368, 370, 666 ($\Delta\lambda = 60$ nm); 281, 282, 286, 303, 316, 666 ($\Delta\lambda = 80$ nm).

Wśród długości fal wybranych przy zastosowaniu algorytmu SPA znalazły się zarówno te, które są charakterystyczne dla emisji tokoferoli i związków fenolowych, jak i chlorofilu [17].

Na podstawie intensywności fluorescencji mierzonych przy wartościach $\Delta\lambda = 10, 30, 60$ i 80 nm dla każdej z wybranych długości fal obliczono granice wykrywalności badanych olejów z nasion w eksperymentalnych próbkach oliwy (tab. 1).

W przypadku każdego rodzaju oleju użytego do fałszowania i każdego parametru $\Delta\lambda$ wyznaczono najniższą wartość granicy wykrywalności oraz długość fali, przy której została ona uzyskana. Stwierdzono, że najłatwiejszym do wykrycia zafałszowaniem w oliwie z oliwek extra virgin był dodatek oleju sojowego. Wykrywano go na poziomie od 0,7 do 2,3 % w zależności od zastosowanego parametru $\Delta\lambda$. Najniższe granice wykrywalności olejów rzepakowego i słonecznikowego wyniosły 1,7 i 2,0 %, a uzyskano je odpowiednio przy $\Delta\lambda$ wynoszącym 60 i 30 nm (tab. 1).



Rys. 1. Widma synchroniczne fluorescencji oliwy ekstra virgin i wybranych olejów z nasion przy różnicy między długością fali emisji i wzbudzenia $\Delta\lambda = 10, 30, 60$ i 80 nm.

Fig. 1. Synchronous fluorescence spectra of extra virgin olive and several seed oils at wavelength intervals $\Delta\lambda = 10, 30, 60$ i 80 nm.

W celu wyboru najkorzystniejszego parametru $\Delta\lambda$, służącego wykrywaniu zafałszowań oliwy z oliwek olejami z nasion na podstawie pomiaru intensywności fluorescencji, obliczono średnie granice wykrywalności uzyskanych dla różnych olejów roślinnych przy każdej z wybranych długości fal. Następnie wybrano najniższą średnią granicę wykrywalności i długość fali, przy której ją uzyskano (tab. 2).

Najniższe wyznaczone średnie granice wykrywalności badanych olejów roślinnych w oliwie ekstra virgin zawierały się w przedziale od 2,5 do 3,5 %, a najniższą granicę wykrywalności uzyskano przy $\Delta\lambda = 30$ nm.

Tabela 1

Granice wykrywalności zafalszowania oliwy ekstra virgin wybranymi olejami z nasion przy różnych $\Delta\lambda = 10, 30, 60$ i 80 nm.

Detectability limits of extra virgin olive oil adulteration with selected seed oils at various wavelength intervals $\Delta\lambda = 10, 30, 60,$ and 80 nm.

$\Delta\lambda$ [nm]	Olej / Oil	LOD [%]						LOD _{min} / λ_{min} [%] / nm
	λ [nm]	291	292	294	300	302	666	
10	Rzepakowy Rapeseed	7,0	3,4	2,7	2,8	19,5	2,6	2,6 / 666
	Słonecznikowy Sunflower	3,4	4,8	3,4	3,7	3,3	4,2	3,3 / 302
	Sojowy Soybean	3,7	2,1	2,6	2,9	4,0	3,3	2,1 / 292
30	λ [nm]	287	289	290	299	303	666	-
	Rzepakowy Rapeseed	4,0	2,2	32,5	2,5	4,4	4,6	2,2 / 289
	Słonecznikowy Sunflower	2,0	4,8	3,1	2,9	2,8	5,7	2,0 / 287
	Sojowy Soybean	3,3	2,4	3,4	2,0	3,1	5,0	2,0 / 300
60	λ [nm]	282	284	285	368	370	666	-
	Rzepakowy Rapeseed	9,1	2,9	11,1	1,7	2,9	2,7	1,7 / 368
	Słonecznikowy Sunflower	4,0	4,2	4,5	56,4	3,4	8,8	3,4 / 370
	Sojowy Soybean	2,7	2,3	3,1	4,6	2,8	9,3	2,3 / 284
80	λ [nm]	281	282	286	303	316	666	-
	Rzepakowy Rapeseed	4,6	5,5	6,3	9,4	5,6	21,9	4,6 / 281
	Słonecznikowy Sunflower	2,8	3,0	2,9	5,8	3,2	22,4	2,8 / 281
	Sojowy Soybean	9,5	2,4	1,4	0,7	4,1	10,0	0,7 / 300

Objaśnienia: / Explanatory notes:

λ – długość fali / wavelength; $\Delta\lambda$ – różnica między długością fali emisji i wzbudzenia / wavelength interval between emission wavelength and excitation wavelength; LOD - granica wykrywalności / detectability limit; LOD_{min} – najniższa obliczona granica wykrywalności przy danym parametrze $\Delta\lambda$ / the lowest detectability limit calculated for particular $\Delta\lambda$ parameter; λ_{min} – długość fali przy której uzyskano najniższą granicę wykrywalności / wavelength at which the lowest detectability limit was obtained.

Tabela 2

Granice wykrywalności zafałszowania oliwy ekstra virgin wybranymi olejami z nasion obliczone dla różnych $\Delta\lambda$ (10, 30, 60 i 80 nm).

Detectability limits of extra virgin olive oil adulteration with selected seed oils at different wavelength intervals (10, 30, 60, and 80 nm).

$\Delta\lambda$ [nm]	LOD (\bar{x}) [%] / LOD (\bar{x}) [%]							LOD _{min} / λ_{min} [%] / nm
	λ [nm]	291	292	294	300	302	666	
10	Oleje z nasion Seed Oils	4,7	3,4	2,9	3,1	8,9	3,4	2,9 / 294
30	λ [nm]	287	289	290	299	303	666	–
	Oleje z nasion Seed Oils	3,1	3,1	13,0	2,5	3,4	5,1	2,5 / 299
60	λ [nm]	282	284	285	368	370	666	–
	Oleje z nasion Seed Oils	5,3	3,1	6,2	20,9	3,0	6,9	3,0 / 370
80	λ [nm]	281	282	286	303	316	666	–
	Oleje z nasion Seed Oils	5,6	3,6	3,5	5,3	4,3	18,1	3,5 / 286

Objaśnienie jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Analiza całych widm synchronicznych fluorescencji przy $\Delta\lambda = 20$ nm do wykrywania zafałszowania oliwy ekstra virgin pozwoliła na uzyskanie granic wykrywalności oleju sojowego, słonecznikowego i rzepakowego w oliwie na poziomie odpowiednio: 2,0; 3,8 i 4,3 % [13]. Badania przeprowadzone w ramach niniejszej pracy i analiza intensywności fluorescencji przy wybranych za pomocą algorytmu SPA długościach fal pozwoliły na wykrycie zafałszowania oliwy ekstra virgin powyższymi olejami na znacznie niższym poziomie: 0,7; 2,0; 1,7 %, odpowiednio (tab. 1). Duża różnica zawartości tokochochromanoli między oliwą a olejem sojowym przyczyniła się prawdopodobnie do uzyskania najniższej granicy wykrywalności tego oleju w oliwie z oliwek [4]. W pozostałych olejach użytych do fałszowania zawartość związków tokoferolowych nie różni się tak znacząco od ich zawartości w oliwie. Przy długości fali wzbudzenia 300 nm, przy której uzyskano najniższą granicę wykrywalności oleju sojowego (0,7 %), obserwuje się emisję fluorescencji związków tokoferolowych. Zastosowanie pomiarów fluorescencji jest skuteczniejszą metodą wykrywania zafałszowań oliwy z oliwek ekstra virgin olejem sojowym, słonecznikowym i rzepakowym niż analiza składu kwasów tłuszczowych [3].

Na podstawie intensywności fluorescencji eksperymentalnych próbek oliwy zafalszowanej olejami z nasion o różnym stężeniu, zmierzonej przy wybranych długościach fal (wyznaczonych algorytmem SPA) i dla różnych wartości parametrów $\Delta\lambda$, zbudowano modele wielokrotnej regresji liniowej, pozwalające na prognozowanie zawartości oleju sojowego, słonecznikowego lub rzepakowego w oliwie ekstra virgin. Zmienną zależną w budowanych modelach był dodatek oleju fałszującego, natomiast predykatorem – intensywność fluorescencji poszczególnych olejów i eksperymentalnych mieszanek przy wcześniej wybranych długościach fal.

Zestawienie uzyskanych współczynników korelacji (R), determinacji (R^2) oraz błędów standardowych estymacji i walidacji modeli globalnych drugiego rzędu przedstawiono w tab. 3. Zdolności prognostyczne modeli były oceniane na podstawie obliczonych błędów standardowych estymacji walidacji.

Tabela 3

Statystyczne parametry modeli globalnych wielokrotnej regresji liniowej uzyskanych na podstawie pomiarów widm synchronicznych fluorescencji przy różnych wartościach różnicy między długością fali emisji i wzbudzenia ($\Delta\lambda$).

Statistical parameters of multiple regression global models calculated based on the measured synchronous fluorescence spectra at varying values of the wavelength interval ($\Delta\lambda$) between the emission wavelength and excitation wavelength.

Parametr / Parameter	$\Delta\lambda$ [nm]			
	10	30	60	80
R	0,99	1,00	0,99	0,96
R^2	0,99	0,99	0,99	0,91
RMSE	3,2	2,7	3,2	8,7
RMSECV	3,3	2,8	3,3	8,9

Objaśnienia: / Explanatory notes:

R – współczynnik korelacji / coefficient of correlation, R^2 – współczynnik determinacji / coefficient of determination, RMSE – błąd standardowy estymacji / root mean square error, RMSECV – błąd standardowy walidacji / root mean square error of cross validation.

Wszystkie modele, niezależnie od zastosowanego parametru $\Delta\lambda$, charakteryzowały się wysokim stopniem dopasowania, o czym świadczą uzyskane współczynniki korelacji (R) i determinacji (R^2), które mieściły się w przedziale 0,91 - 1,00. Najniższe błędy standardowe estymacji i walidacji uzyskano stosując pomiary synchronicznych widm fluorescencji przy różnicy między długością fali emisji i wzbudzenia ($\Delta\lambda$) równej 30 nm i przyjęły one odpowiednio wartości 2,7 i 2,8.

Wnioski

1. Pomiar synchronicznych widm fluorescencji jest metodą pozwalającą na wykrywanie zafałszowań oliwy ekstra virgin olejami: sojowym, słonecznikowym i rzepakowym, przy czym granice wykrywalności zafałszowania oliwy ekstra virgin tymi olejami wyniosły odpowiednio 0,7, 2,0 oraz 1,7 %. Najniższe średnie granice wykrywalności olejów z nasion uzyskano, wykonując pomiary przy różnicy między długością fali emisji i wzbudzenia równej 30 nm.
2. Intensywność fluorescencji eksperymentalnych próbek oliw zafałszowanych olejami: sojowym, słonecznikowym i rzepakowym mierzone przy długościach fal wskazanych przez algorytm SPA i przy zastosowaniu parametru $\Delta\lambda = 30$ nm mogą być wykorzystane do zbudowania modelu służącego prognozowaniu zawartości oleju fałszującego. Wskazują na to niskie błędy standardowe estymacji i walidacji zbudowanego modelu wielokrotnej regresji liniowej, wynoszące odpowiednio 2,7 i 2,8.

Literatura

- [1] Codex Alimentarius Commission: Codex standard for edible fats and oils not covered by individual standards, Codex Stan 19-1981, Rev. 2, 1999.
- [2] Coelho Pontes M.J., Kawakami R., Galvão H., Araújo M.C.U., Teles Moreira P.N., Pessoa Neto O.D., José G.E., Bezerra Saldanha T.C.: The successive projections algorithm for spectral variable selection in classification problems. *Chemom. Intell. Lab. Sys*, 2005, **1-2 (78)**, 11-18.
- [3] Dankowska A., Małecka M.: Wykrywanie zafałszowań oliwy z oliwek olejami z nasion na podstawie analizy składu kwasów tłuszczowych. W: *Towaroznawstwo w zapewnieniu jakości żywności i bezpieczeństwa konsumenta*. Red. M. Małecka. Zesz. Nauk. UE w Poznaniu, 2011, **196**, 147-154.
- [4] Dankowska A., Małecka M.: Application of synchronous fluorescence spectroscopy for determination of extra virgin olive oil adulteration. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2009, **12 (111)**, 1233-1239.
- [5] Kamm W., Doionisi F., Hischenhauber C., Engel K.H. : Authenticity assessment of fats and oils. *Food Res. Int.*, 2001, **17**, 249-290.
- [6] Kawakami Harrop Galvão R., Pimentel M.F., Ugolino Araújo M.C., Yoneyama T., Visani: Aspects of the successive projections algorithm for variable selection in multivariate calibration applied to plasma emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 2001, **443**, 107-115.
- [7] IUPAC Technical Report: Lexicon of Lipid Nutrition. *Pure Appl. Chem.*, 2001, **73**, 731-734.
- [8] Matuszewska M., Obiedziński M.W.: Określenie autentyczności oliw z oliwek za pomocą składu kwasów tłuszczowych oraz zawartości 3,5-stigmastadienu. *Tusz. Jad.* 2001, **36**, 137-46.
- [9] Mauri-Aucejo A.R., Llobat-Estellés M., Marín-Saez R.: Characterisation of quaternary mixtures by the apparent content curves method: identification of tocopherols in vegetable oils. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, **5 (375)**, 643-652.
- [10] PN- ISO 5509:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [11] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenczkowej.
- [12] PN-ISO 660:1998/A1:2004. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.

- [13] Poulli K.I., Mousdis G.A., Georgiou C.A.: Rapid synchronous fluorescence method for virgin olive oil adulteration assessment. *Food Chem.*, 2007, **1 (105)**, 369-375.
- [14] Rozporządzenie Komisji (EWG) Nr 2568/91 z dnia 11 lipca 1991 roku w sprawie właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wytloczyn oliwek oraz w sprawie odpowiednich metod analizy *Dz. Urz.* 1991, L 248/1, 368-452.
- [15] Samotyja U., Małecka M., Pawłowska M.: Saturated and trans fatty acids in selected confectionery products. In: *Current Trends in Commodity Science. Food Safety*. Red. M. Małecka. Zesz. Nauk. UE w Poznaniu, 2010, **147**, 37-43.
- [16] Sikorska E., Górecki T., Khmelinskii I.V., Sikorki M., Kozioł J.: Classification of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Food Chem.*, 2005, **2 (89)**, 217-225.
- [17] Sikorska E.: *Metody fluorescencyjne w badaniach żywności*, Wyd. AE w Poznaniu, Poznań 2008.
- [18] Ugolino Araújo M.C., Bezerra Saldanha T.C., Kawakami R., Galvão H., Yoneyama T., Chame H.C., Visani V.: The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopic multicomponent analysis. *Chemom. Intell. Lab. Sys.*, 2001, **2(57)**, 65-73.
- [19] Wroniak M., Łukasik D., Maszewska M.: Porównanie stabilności oksydacyjnej wybranych olejów tłoczonych na zimno z olejami rafinowanym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1(46)**, 214-221.
- [20] Wroniak M., Maszewska M.: Oliwa z oliwek w diecie śródziemnomorskiej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **5 (78)**, 26-36.
- [21] Wroniak M., Ramotowska J., Matuszewska M., Obiedziński M.: Możliwości zastosowania izomerów trans kwasów tłuszczowych i 3,5-stigmastadienów do badania autentyczności olejów tłoczonych na zimno. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47)**, 365-373.

UTILIZATION OF SYNCHRONOUS FLUORESCENCE SPECTROSCOPY TO DETECT ADULTERATION OF OLIVE OIL

S u m m a r y

Extra virgin olive oil is characterized by a high quality including desirable sensory features and health promoting properties, as well as by a lower than 08.% content of free fatty acids. It is more expensive than olive oils of a lower quality and oils made from seeds; therefore, it is often adulterated.

In order to classify olive oil and to test its authenticity, there are used both the sensory analysis and the instrumental techniques. The most often used techniques are gas and liquid chromatography, UV-VIS spectrophotometry, and infrared spectroscopy, as well as, alternatively, the methods of fluorescence spectrophotometry, which are more and more often used in food analysis. The objective of the study research performed was to apply the synchronous fluorescence spectra to detect the adulteration of extra virgin olive oil with seed oils (soybean, sunflower, and rapeseed oils). Based on the research accomplished, the usefulness was confirmed of the method under analysis in detecting the adulteration of the olive with the seed oils studied. The lowest limit of adulteration detectability (2.5 %) and the lowest RMSE (root mean square) (2.7 %) and RMSECV root mean square error of cross validation (2.8%) of the multiple linear regression models applied to assess the adulteration level were obtained in the case of a fluorescence intensity at a 30 nm wavelength interval between the emission and the excitation wavelengths.

Key words: olive oil, adulteration, synchronous fluorescence spectroscopy 