



**КЛАСИФИКАЦИЯ НА ЗЕХТИНИ И РАСТИТЕЛНИ МАСЛА ЧРЕЗ ФЛУОРЕСЦЕНТНА  
СПЕКТРОСКОПИЯ ВЪВ ВИДИМИЯ ДИАПАЗОН ЧРЕЗ ДВУ- И ТРИМЕРНИ  
СРАВНИТЕЛНИ МАСИВИ**  
**CLASSIFICATION OF OLIVE AND VEGETABLE OILS USING VISIBLE FLUORESCENCE  
SPECTROSCOPY BY TWO- AND THREE-DIMENTIONAL COMPARATIVE MATRIXES**

**Кръстена Николова**  
**Krastena Nikolova**

Университет по хранителни технологии - Пловдив  
University of Food Technologies - Plovdiv

**E-mail: kr.nikolova@abv.bg**

**Резюме**

Получени са възбудно-излъчвателните и тримерните матрици с компонента вид на пробата на 63 образци от слънчогледово, соево, царевично, зехтиново масло и др. във видимия диапазон между 370 nm и 450 nm с цел тяхното бързо различаване. За целта са използвани различни начини на представяне и обработка на тримерните масиви от данни и са показани предимствата и недостатъците на всеки от представените методи.

**Abstract**

Excitation-emission and three dimensional comparative matrices have been obtained from the fluorescence spectra of 63 samples of olive, sunflower, soybean and corn oils after excitation in the 370 nm to the 450 nm range. Different methods to represent and process the three-dimensional data have been used and their advantages and disadvantages have been commented.

**Ключови думи:** флуоресценция, възбудно-излъчвателни матрици, растителни масла, зехтини.  
**Key words:** fluorescence, excitation-emission matrix, vegetable oils, olive oils.

**ВЪВЕДЕНИЕ**

Флуоресцентната спектроскопия е сравнително нов метод с нарастващо значение при комплексен анализ на хранителни продукти. Основни предимства на метода са по-високата му чувствителност в сравнение с други спектроскопски техники, не се използват химически реагенти (Oldham, 2000) и не се изисква предварителна подготовка на пробата. В повечето случаи обаче се изследва отделният възбудно-излъчвателен спектър, който не може да даде пълна представа за ефективността на метода при конкретната проба (Ndou, 1991).

В последно време са правени опити за класифициране на растителни масла (Engelsen, 1997; Kyriakidis, 2000; Giungato, 2002) за различаване на "lampante virgin olive oil" от растителни масла (Poulli, 2005), както и за откриване на примеси от растителни масла в зехтин чрез приготвяне на моделни системи (Tzouros, 2001).

За да се повиши чувствителността на метода, е необходимо многократно възбуждане на една и съща проба при различни дължини

на вълните и записване на емисионния излъчвателен спектър. Резултатът от това е възбудно-излъчвателна матрица, даваща представа за пълния профил на образеца както в областта на възбуждане, така и в областта на излъчване.

Посочената техника е използвана успешно при анализа на фармацевтични продукти, за характеризиране на машинни масла, както и за диференциране и класифициране на органични вещества (Persson, 2001; Patra, 2002). Сравнително рядко се срещат подобни бази данни за получаване на емисионно-възбудни матрици на храни (Tzouros, 2001; Poulli, 2005).

Целите на настоящата работа са:

– Въз основа на сравнително голяма база данни от растителни масла и зехтини да се създадат тримерни емисионно-възбудни матрици за различаване на натурален зехтин ("extra virgin olive oil"), помаче зехтин ("pomace olive oil") и растителни масла, които може да бъдат използвани за по-нататъшно моделиране на процеса на ефективното им различаване.

– Да се представи по-лесен и по-нагледен метод за визуализация на 3D матриците в равнината.

### МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

#### 1. Образци

Закупени са голям набор от образци от чист зехтин (“extra virgin olive oil”), помаче зехтин (“pomace olive oil”) и растителни масла, налични в търговската мрежа на България. Типът на пробата, годината на закупуване, държавата и броят на пробите от даден вид са представени в таблица 1.

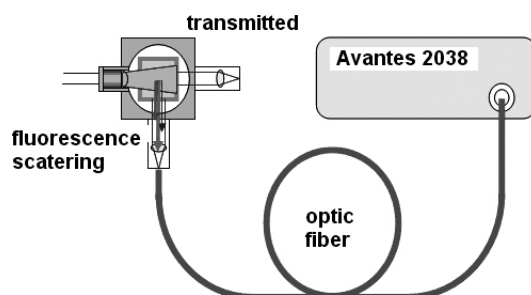
#### 2. Флуоресцентни измервания

За измерване на флуоресценцията за предпочитане е в качеството на източник да се използва лазерен диод (ЛД), тъй като спектрал-

ната му ширина е много малка. Тъй като наборът от лазерни източници с подходяща дължина на вълната е ограничен, то често се използват светодиоди, чиято спектрална ширина е значително по-голяма, но за сметка на това съществуват светодиоди с широк набор от дължини на вълните на излъчване. Светодиодите, които са използвани, са с дължини на вълната, както следва: 370 nm, 395 nm, 425 nm и 450 nm. Така избраните светодиоди са директно прикачени към входа и лъчението им попада в изследваната проба. Информацията от фотоприемника през оптичното влакно се предава на спектрофотометъра. За получаване на флуоресцентните спектри е използван спектрофотометър Avantes (AvaSpec-2038, Avantes), чиято схема е представена на фиг. 1.

**Таблица 1.** Спецификация на изследваните масла  
**Table 1.** Specification of the investigated oils

Вид/Type	Брой проби/ Number of samples	Година/Year	Държава Country
Натурален зехтин/Extra virgin olive oil	35	2009-2013	Испания, Италия, Гърция Spain, Italy, Greece
Помаче зехтин/Pomace olive oil	12	2009-2013	Испания, Турция, Гърция Spain, Turkey, Greece
Слънчогледово масло/Sunflower oil	4	2009-2013	България/ Bulgaria
Соево масло/Soy bean oil	8	2009	България, Италия Bulgaria, Italy
Царевично масло/Corn oil	4	2009	Турция/Turkey



**Фиг. 1.** Експериментална установка за получаване на флуоресцентни спектри  
**Fig.1.** Experimental set-up for measuring fluorescence spectra



Използвана е 90-градусова геометрия, без разреждане на пробите. Получени са 3D възбудно-излъчвателните матрици чрез възбуждане на пробите в интервала от 350 nm до 450 nm със стъпка  $\Delta\lambda = 25$  nm и запис на флуоресцентните спектри в интервала 350-750 nm. За получаване на 3D възбудно-излъчвателните матрици, както и контурните карти на пълния набор на флуоресцентните спектри на дадена проба, е използвана програмата Mat lab. За първи път са представени емисионно-излъчвателни матрици, като на едната ос са нанесени всички изследвани проби, а на ос z – интензитетът на флуоресценцията като функция на възбуждащата дължина на вълната.

### РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Флуоресцентните спектри на 35 проби чист зехтин ("extra virgin olive oil"), 12 помаче зехтин ("pomace olive oil") и 16 проби от растителни масла (слънчогледово, соево, царевично), често използвани за фалшифициране на зехтин, са получени при възбуждане на пробите със светодиоди, излъчващи съответно дължини на вълните 375 nm, 390 nm, 425 nm и 450 nm.

Анализът и интерпретацията на флуоресцентните данни може да се извърши по два различни начина:

– Получените флуоресцентни спектри се подреждат в масив, от който може да бъде изчертана възбудно-излъчвателната матрица. Типичното за нея е, че всеки ред съдържа данни за един образец и всяка колона съответства на специфична възбудно-излъчвателна комбинация за дължина на вълната. За избрани проби посочената матрица е визуализирана на фиг. 2.

– Многостъпков анализ на данни с променлива в повече от едно направление. Обикновено всеки анализ на данни е една матрица и давайки няколко матрици за няколко образци получаваме тримерен масив.

Анализът на тримерни масиви може да бъде приложен, когато интензитетът на флуоресценцията е функция на изследвания образец, възбуждащата и излъчената дължина на вълната. Ще разгледаме възбуждането на зехтини и растителни масла при дължини на вълните 370 nm и 450 nm. При възбуждане с 370 nm всички зехтини показват силна флуоресценция около 670 nm, дължаща се на високото съдържание на хлорофил, докато растителните масла имат слаба флуоресценция – около 500-550 nm. При

възбуждане с 450 nm всички зехтини отново силно флуоресцират около 670 nm, но се появява един слабо изразен флуоресцентен пик около 500-550 nm, особено ясно изразен е той при растителните масла за същата дължина на възбуждане.

Последните факти показват, че възбуждането на растителните масла при 370 nm не е много ефективно поради безизлъчвателни процеси. Възбуждането при 450 nm дава по-контрастна картина при зехтините за разлика от растителните масла, което може да бъде използвано за тяхното различаване. В интервала на възбуждане 370-425 nm информативността не се подобрява съществено и затова не се коментира по-нататък в статията.

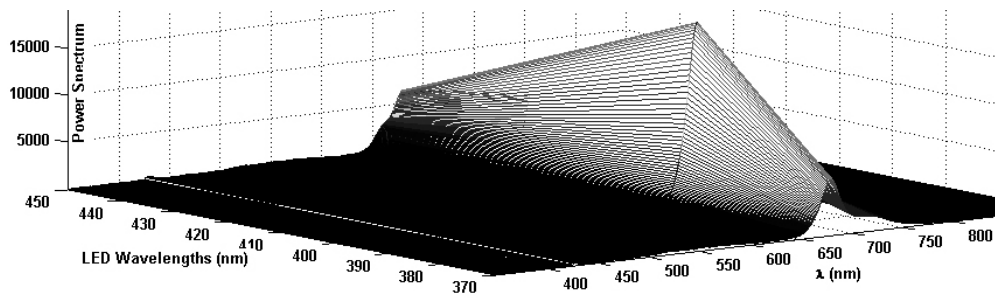
Всеки от представените начини си има своите предимства:

- Двумерните контури по-лесно се обработват от тримерните. Те се приемат по-лесно визуално, защото са цветово наситени и кодирани. Последните са подходящи за визуален анализ.

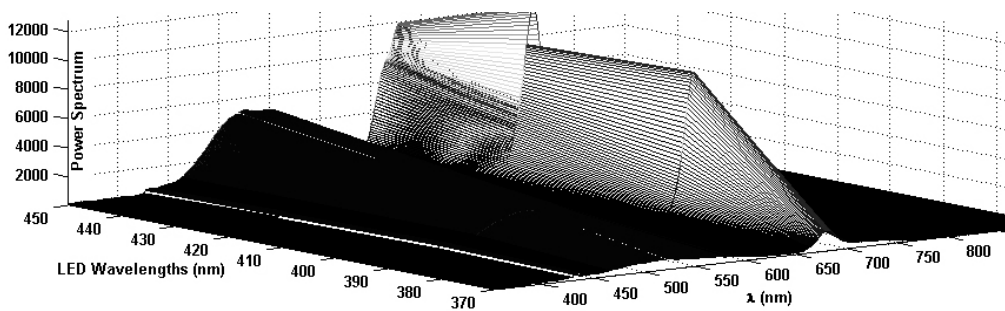
- Двумерните изолинии (притежаващи цветова кодировка на интензитета) представляват топографско изображение на линиите с еднакъв интензитет. Различният цвят на изолиниите съответства на различна, z-компонента, т.е. различен интензитет на флуоресценцията. Контурите с изолинии са строго индивидуални и представляват аналог на „пръстови отпечатьци“ на отделните проби.

Тримерните масиви са удобни при анализ на смеси, при преход от един тип проба (олио от соя, слънчоглед, рапица и др.) до друг тип (зехтин). Неудобство при тях е ъгълът, под който се наблюдават. Те са изображения в тримерното пространство и служат най-вече при обработка на пробите с цел създаване на модели - използване на еднокомпонентен анализ (U-PCA), паралелен многофакторен анализ (PARAFAC) (Guimet, 2004).

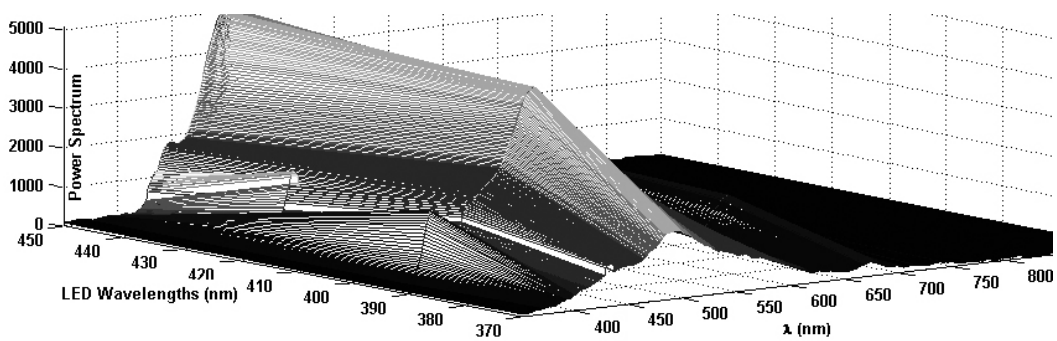
Използването на изолинии (втория метод) е по-удобен метод, защото погледът отгоре винаги е един и същ и дава усещане за „индивидуален пръстов отпечатък“ на пробата. При тримерните матрици се съдържат и първото, и второто представяне. Въприемат се по-бързо, осигуряват релеф при наблюдение, но много зависят от ъгъла на проекцията. Възбудно-излъчвателните матрици са подходящи за получаване и обработка на математични модели.



a) Чист зехтин от Италия  
Extra virgin olive oil from Italy

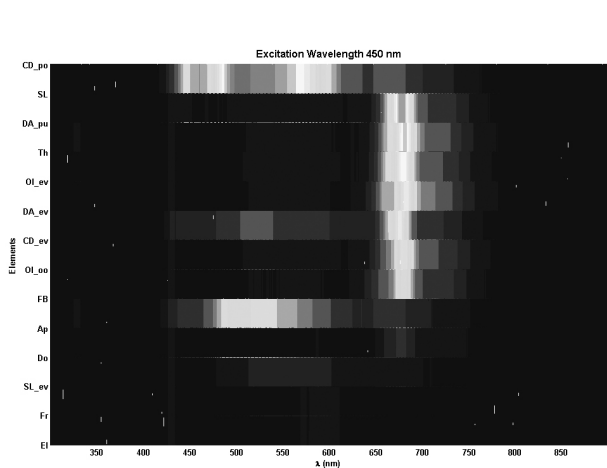


b) Помаче зехтин от Испания  
Pomace olive oil from Spain

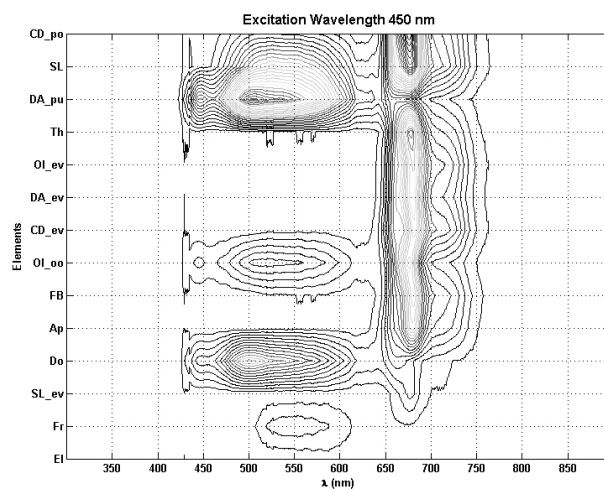


c) Слънчогледово олио+зехтин  
Sunflower oil + olive oil

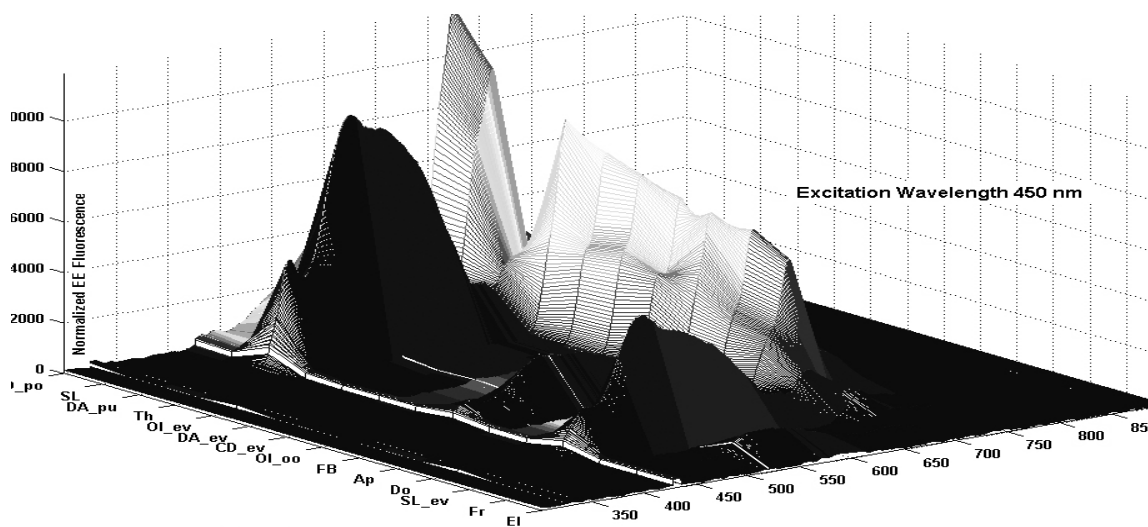
Фиг. 2. Възбудно-излъчвателна матрица за различни типове растителни масла  
Fig. 2. Excitation-emission matrix for different types of vegetable oils



а) Двумерен контур на зехтини  
Two-dimensional matrix for olive oils



б) Двумерни масиви с изолинии  
на интензитета  
Two-dimensional matrix for olive oils with isolines  
of intensity



в) Тримерни сравнителни масиви  
Three-dimensional comparative matrix

Използвани са следните съкращения: DA - Del Alma, SL - San Lazaro, OI - Olitalia, Th - Thasos, CD - Costa Doro, ev - extra virgin, oo - olive oil, pu – pure olive oil

Фиг. 3. Различни начини на представяне на флуоресцентни данни  
Fig. 3. Different types for presentation of fluorescence data

### ИЗВОДИ

От много години флуоресценцията е използвана в биологията, биотехнологията, химията и физиката като метод за анализ. Но развитието на „Математическата хроматография“ във формите на двумерни и тримерни масиви я прави оп-line сензор в хранителната индустрия, подобрява чувствителността ѝ и разширява възможностите ѝ за анализ чрез двумерни контури или тримерни масиви на комплексни системи, каквито са хранителните продукти. Тя дава възможност чрез получените тримерни масиви ясно да бъдат разграничени чистият зехтин от салатния зехтин и растителните масла.

### REFERENCES

- Engelsen, S.B.*, 1997. Explorative Spectrometric Evaluations of Frying Oil Deterioration, -Journal of the American Oil Chemist' Society, 74(12), 1495-1508.
- Giungato, P., Notarnicola, L. & Colucci, L.*, 2002. Evaluation of fluorescence spectroscopy potential in edible oil analysis. In R. Zielinski (Ed.), Current trends in commodity science (pp. 513–518). Pozna\_n: Pozna\_n University of Economics Press.
- Guimet, F., Ferré, J., Boqué R.*, 2005. Rapid detection of olive-pomace oil adulteration in extra virgin olive oils from the protected denomination of origin “Siurana” using excitation-emission fluorescence spectroscopy and three-way methods of analysis, *Analytica Chimica Acta*, 544, 143-152.
- Kyriakidis, N. B., & Skarkalis, P.*, 2000. Fluorescence spectra measurement of olive oil and other vegetable oils, *Journal of AOAC International*, 83, 1435–1439.
- Ndou, T. T., & Warner, I. M.*, 1991. Applications of multidimensional absorption and luminescence spectroscopies in analytical chemistry, *Chemical Reviews*, 91, 493–507.
- Oldham, P. B., McCarroll, M. E., McGown, L. B., & Warner, I. M.*, 2000. Molecular fluorescence, phosphorescence, and chemiluminescence spectrometry, *Analytical Chemistry*, 72, 197R– 209R.
- Patra Digambara, Mishra, A. K.*, 2002. Study of diesel fuel contamination by excitation emission matrix spectral subtraction fluorescence, *Analytica Chimica Acta*, 454 (2), 209-215.
- Persson, T. & Wedborg, M.*, 2001. A Multivariate evaluation of the fluorescence of aquatic organic matter, *Analytica Chimica Acta*, 434, 179–192.
- Poulli, K., Mousdis, G, Georgoi, C.*, 2005. *Analytica chimica Acta*. 542, 151-156.
- Tzouros, N.E., Arvanitoyannis, I.S.*, 2001. Agricultural produces: Synopsis of employed quality control methods for the authentication of foods and application of chemometrics for the classification of foods according to their variety or geographical origin, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(4), 287-319.

Статията е приета на 11.11.2013 г.

Рецензент - проф. дсн Анна Аладжаджиян

E-mail: anna@au-plovdiv.bg