

## Analiza możliwości identyfikacji parametrów jakościowych oliwy przy wykorzystaniu ultrasłabej luminescencji wtórnej

**Streszczenie.** W artykule przedstawiono możliwości identyfikacji i parametryzacji oliwy wykorzystując zjawisko ultrasłabej luminescencji wtórnej. Badania przeprowadzono na produktach pięciu firm posiadających w swojej ofercie oliwę z oliwek, których podstawowe parametry były znane. Odnotowano różnice w liczbie emitowanych fotonów pomiędzy badanymi produktami, które pozwalają na wstępną możliwość oceny oliwy i identyfikację partii towaru, które należałoby poddać szczegółowej kontroli. Istnieje zatem możliwość wykorzystania metody ultrasłabej luminescencji wtórnej do wstępnej oceny jakości oliwy.

**Abstract.** The article presents the possibilities of olive oil identification and parameterization using the phenomenon of ultra-low secondary luminescence. The research was carried out on products of five companies offering olive oil, whose basic parameters were known. There were differences in the number of emitted photons between the tested products, which allow for the initial possibility of oil assessment and identification of batches of goods that should be subjected to detailed inspection. Therefore, it is possible to use the method of ultra-low secondary luminescence for a preliminary assessment of oil quality. (**Analysis of the possibility of identifying the quality parameters of the oil using ultra-weak secondary luminescence**).

**Słowa kluczowe:** wtórna luminescencja, ultrasłaba emisja fotonowa, pole elektromagnetyczne, oliwa

**Keywords:** secondary luminescence, ultra-low photon emission, electromagnetic field, olive

### Wstęp

Do głównych czynników wpływających na cechy jakościowe oliwy z oliwek należą: odmiana oliwek, gleba, klimat, uprawa, zbiór, parametry przetwórstwa. Bogactwo i różnorodność smaków i zapachów oliwy zależy od odmiany oliwek użytych do produkcji. Każda z nich daje owoc różniący się w pewnym zakresie właściwościami fizykochemicznymi i sensorycznymi, stąd jakość oliwy zależy bezpośrednio od pochodzenia oliwek użytych do jej produkcji [1, 2]. Fakt występowania bardzo dużej konkurencji na rynku, wzrost świadomości i wymagań konsumentów zmuszają producentów do ciągłego doskonalenia technologii poprzez wykorzystanie najnowszych osiągnięć z różnych dziedzin wiedzy w celu uzyskania tłuszczów o jak najwyższej jakości pod względem zdrowotnym, żywieniowym i użytkowym. Prowadzone są badania nad zobjektywizowaniem sensorycznych metod badań żywności, w tym tłuszczów. Ciągły rozwój nowych i bardziej użytecznych technik analitycznych pozwalając na wykrywanie zafałszowań żywności jest niezbędny w celu prowadzenia kontroli zafałszowań i niewłaściwego, wprowadzającego konsumenta w błąd, znakowania oliwy z oliwek. W literaturze światowej dotyczącej problemu wykrywania zafałszowań oliwy z oliwek, bądź też metod różnicowania olejów jadalnych można się spotkać ze stosowaniem oraz weryfikacją metod zamieszczonych w Rozporządzeniu Komisji (EWG) Nr 2568/91, jak również z próbami zastosowania zupełnie nowych, skuteczniejszych metod wykrywania zafałszowań oliwy z oliwek [3].

Analizy z wykorzystaniem metod spektroskopowych są proste, szybkie, nieniszczące, mogą zostać zautomatyzowane i służyć do rutynowej kontroli żywności. Spośród metod spektroskopowych do wykrywania zafałszowania oliwy z oliwek najczęściej wykorzystuje się spektrofotometrię UV-Vis, spektrofotometrię w podczerwieni, spektrofluorymetrię, spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego oraz spektroskopię Ramana z transformacją Fouriera. W Rozporządzeniu Komisji (EWG) Nr 2568/91, zawierającym kryteria, jakie powinny spełniać poszczególne kategorie oliw uwzględnia się parametry uzyskiwane przy zastosowaniu spektrofotometrii UV: K232, K270 oraz  $\Delta K$ . W badaniach

oliwy z oliwek stosuje się głównie chromatografię cieczową i gazową. Metodami chromatograficznymi można oznaczać m.in. zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych z uwzględnieniem izomerów, triacylogliceroli, wosków, steroli, węglowodorów, alkoholi, tokoferoli oraz związków lotnych. Oznaczenie tych związków można wykorzystać do oceny autentyczności poszczególnych olejów roślinnych.

Pilotażowe badania dotyczące parametryzacji żywności metodami wykorzystującymi rejestrację zaników fluorescencji metodą skorelowanego w czasie zliczania pojedynczych fotonów (ang. Time-Related Single Photon Counting, TCSPC) wykonano na produktach już przetworzonych obserwując zróżnicowanie emisji fotonów [4, 5]. Zjawisko emisji fotonowej odkryto w wielu mikroskopowych jak i makroskopowych układach [6,7,8], w tym m.in. w układach lipidowych, w bakteriach [9], w namnażających się drożdżach [10], w leukocytach [11], w komórkach nerwowych [12], w mitochondriach i chloroplastach [13], w komórkach nowotworowych [14], w tkance wątrobowej [15], w tkance nerkowej [16], w płynach ustrojowych [17]. Ponadto może być również pomocna do oceny stanu materii organicznej, która została poddana utrwalanu np. pulsacyjnym polem elektrycznym [18]. Ostatnie badania wskazują, że ultrasłaba emisja fotonowa wydaje się być dobrą metodą do analizowania oddziaływania nanocząstek z różnymi obiektami biologicznymi [19]. Gałązka-Czarnecka i in. [20] wykorzystywali zjawisko ultrasłabej luminescencji do różnicowania składowych jaj kurzych pochodzących z różnych systemów chowu. Usa i in. [21] stwierdzili okresowe zmiany intensywności ultrasłabej luminescencji, stowarzyszone ze spontanicznym powierzchniowym potencjałem elektrycznym, dla rozwijającego się korzenia (wraz z hipokotylem) soi. Istnieje zatem wysokie prawdopodobieństwo, że będzie możliwa identyfikacja oliwy metodami TCSPC z precyzją pozwalającą na identyfikację procesu jej wytwarzania.

### Cel i metodyka badań

Celem badań była ocena zastosowania ultrasłabej luminescencji wtórnej do identyfikacji wybranych parametrów oliwy oraz jej parametryzacji pod względem technologii wytwarzania. Badania przeprowadzono w

laboratorium posiadającym akredytację PCA na stanowisku do badań ultrasłabej emisji fotonowej (rys. 1) w zakresie 20-500 szt./min znajdującego się na wyposażeniu Laboratorium Eksperymentalnych Technik Badawczych Surowców i Produktów Biologicznych. Laboratorium w oparciu o własną procedurę badawczą uzyskało na metodę akredytację PCA AB 1698.



Rys. 1. Stanowisko pomiarowe

Do wyznaczenia ultrasłabej emisji fotonowej wykorzystano metodę zliczania pojedynczych fotonów. Interwał czasowy operacji zliczania pojedynczych fotonów ustalany jest doświadczalnie każdorazowo w zależności od badanego materiału. Za minimalną długość interwału czasowego przebywania próbki w komorze światłoszczelnej przyjęto za właściwy czas, kiedy różnica liczby fotonów zliczonych między dwiema bezpośrednio sąsiadującymi, jednonumitowymi interwałami czasowymi jest mniejsza niż 10%. Wynik pomiaru ultrasłabej emisji fotonowej stanowi bezwzględną różnicę między liczbą fotonów zarejestrowanych przez fotopowielacz w komorze światłoszczelnej z materiałem i liczbą fotonów zarejestrowanych przez fotopowielacza w tej komorze bez materiału, wg zależności  $L=A-B$  [foton], gdzie: L – liczba fotonów emitowanych przez badaną próbkę, A - liczba fotonów emitowana przez próbkę umieszczoną w komorze światłoszczelnej, B - liczba wskazań (fotonów) generowana przez pustą komorę światłoszczelną. Kalibracja czujnika wykonywana była każdorazowo w dniu wykonywania pomiarów i polegała na wyznaczeniu stosunku odpowiedzi układu na wzorcową dawkę promieniowania według zależności (2), która:

$$K = \frac{M - M_0}{D}$$

gdzie: K – współczynnik kalibracji - jeżeli współczynnik kalibracji mieści się w przedziale  $<0,8; 1>$ , układ pomiarowy uznaje się za sprawny i gotowy do przeprowadzania pomiarów, M – średnia liczba zliczonych fotonów w interwale 500 s., przy wymuszeniu wzorcowym,  $M_0$  - średnia liczba fotonów rejestrowanych w pustej komorze światłoszczelnej, D – znana dawka użyta do kalibracji (400 fotonów).

Równanie wyniku z procedury badawczej na którą jednostka naukowa posiada akredytację laboratorium badawczego Polskiego Centrum Akredytacji nr AB 169 Proces przygotowania układu pomiarowego jest akredytowany a każdy jej element procedury konieczny do zapewnienia odpowiedniego budżetu niepewności wyników pomiaru. Po uruchomieniu układu pomiarowego w pierwszej fazie o interwale czasowy 120 s następuje stabilizacja układu zapobiegająca zakłóceniom wynikającym z chwilowej destabilizacji warunków standardowych. Po fazie wstępnej następuje faza główna (pomiarowa), której interwał czasowy wynosi 500 sekund a częstotliwość zapisywania wyników wynosiła 4 Hz, czyli

każdy zapisany wynik był sumą fotonów zliczonych w czasie 0,25 sekundy. Parametry te określone są w drodze eksperymentów wstępnych, ale również uwzględniany jest minimalny czas ekspozycji konieczny do obserwacji prowadzących do istotnych statystycznie wyników badań. Po fazie głównej następuje faza końcowa pomiaru w której następuje zatrzymanie, ale nie wyłączenie pracy ciągu pomiarowego. Cały proces pomiaru jest monitorowany w czasie rzeczywistym poprzez oryginalną aplikację wykonaną w programie LabView. Do badań użyłam oliw różnych firm: La Pedriza, Goccia d' Oro, Monini, Auchan, Eridanous (rys. 2)

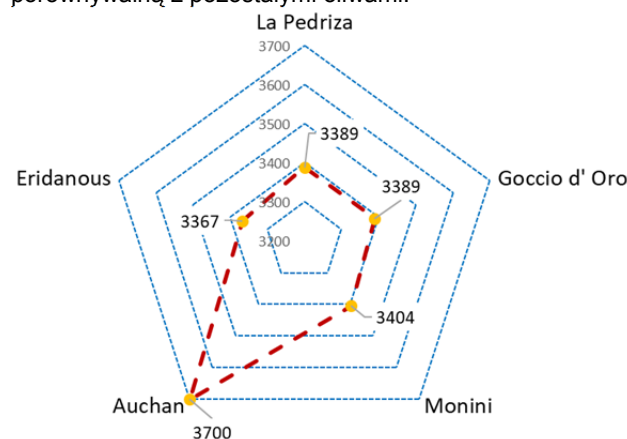


Rys. 2. Materiał badawczy

Badania zostały przeprowadzone w zamkniętym pomieszczeniu, gdzie używano tylko światła czerwonego, wilgotność w pomieszczeniu wynosiła 26% a temperatura pomieszczenia była stała w czasie całego cyklu badań wynosiła 20°C.

### Wyniki badań

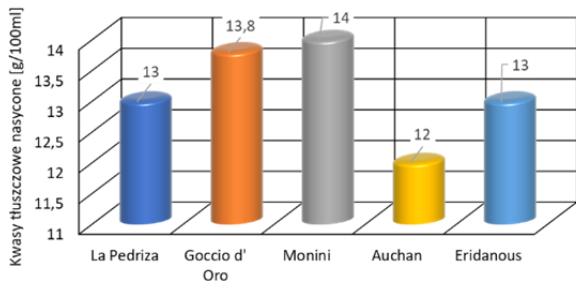
Badania przeprowadzono olejach z oliwek pięciu firm tj. La Pedriza, Goccia d' Oro, Monini, Auchan, Eridanous, należy zaznaczyć, że tylko oliwa firmy Goccio d' Oro była pozyskana z wyłoków oliwek, natomiast reszta była pozyskana z pierwszego tłoczenia. Na rysunku 3 przedstawiono wartość energetyczną w kJ badanych substancji w przeliczeniu na 100 ml oliwy. Najwyższą wartością energetyczną wynoszącą 3700 kJ charakteryzowała się oliwa firmy Auchan, natomiast najmniejsza wartością energetyczną charakteryzowała się oliwa firmy Eridanous i wynosiła 3367 kJ, co było wartością porównywalną z pozostałymi oliwami.



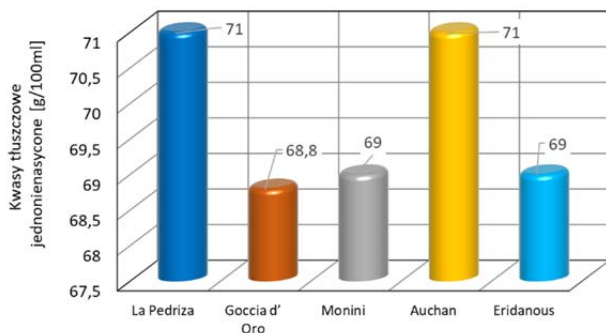
Rys. 3. Wartość energetyczna 100 ml oliwy

Biorąc pod uwagę kwasy tłuszczowe nasycone odnotowano (rys.4), że najwyższą ich zawartością charakteryzują się oliwy firm Monini, oraz firmy Goccia d' Oro, należy zaznaczyć, że oliwy pozostałych firm miały zawartość przedmiotowego wskaźnika na podobnym poziomie z wyjątkiem oliwy firmy Auchan, gdzie zawartość

kwasów tłuszczowych nienasyconych jest wyraźnie mniejsza (12g/100ml oliwy). Nieco bardziej zróżnicowana była zawartość kwasów tłuszczowych jednonienasyconych w badanych oliwach (rys.5). Najwyższymi wartościami przedmiotowych kwasów charakteryzowały się oliwy dwóch firm tj.: La Pedriza i Auchan (ok 70g w 100ml oliwy). W przypadku pozostałych oliw zawartość kwasów tłuszczowych jednonienasyconych była wyrównana i wynosiła od 68 do 69 g w 100 ml oliwy.

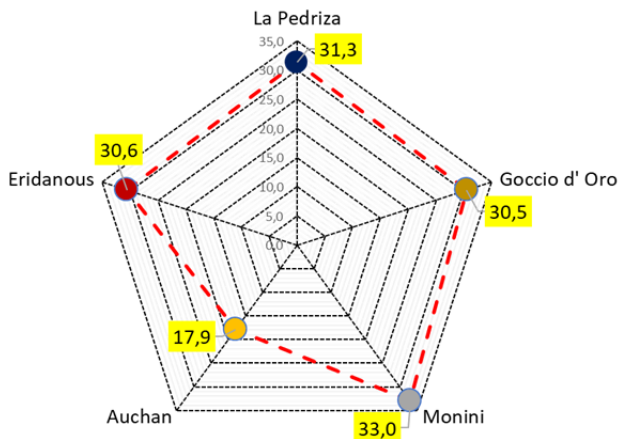


Rys.4. Zawartość kwasów tłuszczowych nienasyconych 100 ml oliwy



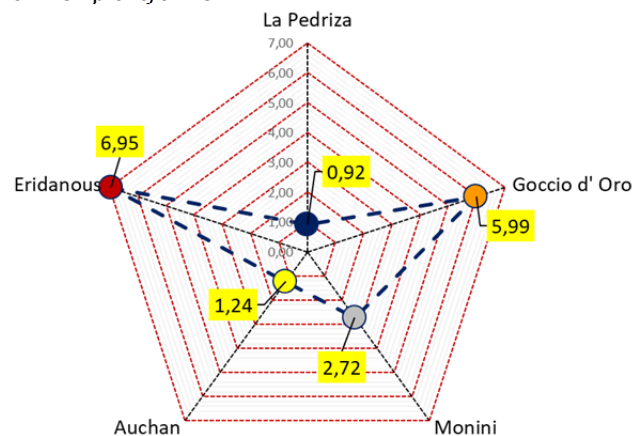
Rys. 5. Zawartość kwasów tłuszczowych jednonienasyconych w 100 ml oliwy

Na rysunku 6 przedstawiono liczbę fotonów w przeliczeniu na 1g oliwy zliczoną w zadanym metodycznie interwale czasu. Stwierdzono, że w przypadku czterech z pięciu badanych oliw jednostkowa liczba fotonów była zbliżona i wynosiła ok 30 na 1 gram oliwy. Znacznie niższe wartości emisji fotonów wynoszące ok 18 na 1 g oliwy odnotowano w przypadku produktu firmy Auchan pomimo tego, że oliwa ta charakteryzowała się najwyższą wartością energetyczną (patrz rys. 3).



Rys.6. Liczba emitowanych fotonów w przeliczeniu na 1 gram oliwy

Bardzo istotną wielkością z punktu widzenia parametryzacji oliwy przy wykorzystaniu emisji fotonowej jest zmienność wyników pomiarów (rys.7). W przypadku badanych oliw stwierdzono, że najwyższym współczynnikiem zmienności emisji fotonów charakteryzował się produkt firmy Eridanous, gdzie przedmiotowy współczynnik wynosił 6,58%. Podobnym współczynnikiem zmienności (5,99%) charakteryzowała się oliwa firmy Goccia d' Oro. Należy zaznaczyć, że współczynnik zmienności te świadczą o dużej stabilności pomiaru. Emisja fotonów pozostałych oliw charakteryzowała się jeszcze wyższą stabilnością, ponieważ współczynnik zmienności mieściły się w przedziale od 0,97% do 2,72%. Uzyskana stabilność w emisji fotonów może być wykorzystana w walidacji metody pomiarowej, ponieważ już niewielkie różnice w wartościach bezwzględnych emisji fotonów mogą okazać się istotne nie tylko statystycznie, ale również praktycznie.



Rys.7. Współczynniki zmienności jednostkowej emisji fotonów

## Podsumowanie

Odnotowano istotne różnice w liczbie emitowanych fotonów pomiędzy badanymi produktami, które pozwalają na wstępnie parametryzować oliwę z oliwek i identyfikować poszczególne partie towaru. Zastosowana metoda pomiarowa na obecnym etapie może stanowić początkowy etap kontroli na podstawie którego produkt będzie kwalifikowany szczegółowej analizie. Istnieje zatem możliwość wykorzystania metody ultrastabej luminescencji wtórnej do wstępnej oceny jakości oliwy.

**Autorzy:** dr inż. Piotr Nawara, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail: rtnawara@cyf-kr.edu.pl, dr inż. Karolina Trzyniec, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail: karolina.trzyniec@urk.edu.pl, dr inż. Tomasz Drózdź, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail: tomasz.drozd@office.urk.edu.pl, mgr inż. Ernest Popardowski, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail: ernest.popardowski@urk.edu.pl, prof. dr hab. inż. Tadeusz Juliszewski, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail: tadeusz.juliszewski@urk.edu.pl, dr inż. Mirosław Zagórda Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, E-mail: miroslaw.zagorda@urk.edu.pl, mgr inż. Anna Miernik, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki, ul. Balicka 116B, 30-149 Kraków, e-mail: miernikanna07@gmail.com,

## LITERATURA

[1] Ridgway J. Olive oil: its attributes and diversity, Nutr. Food Sci. (1993), 3, 30-32.

- [2] Vossen P. Olive oil: history, production and characteristics of the world's classic oils, *HortSci*, (2007), 42, 1093-1100.
- [3] Firestone D. Assuring the integrity of olive oil products. *J. AOAC* (2001), 84, 176-180.
- [4] Nawara P., Gliniak M., Popardowski E., Szczuka M., Trzyniec K., Control system of a prototype measurement system for the identification of ultra-low photonic emission of organic material, *Progress in Applied Electrical Engineering*, (2018), 176 – 180
- [5] Kielbasa P., Drózd T., Nawara P., Drózd M., Wykorzystanie emisji biofotonów do parametryzacji jakościowej produktów spożywczych, *Przegląd Elektrotechniczny*. 93 (2017), n.1, 153-156
- [6] Oziębłowski M., Drózd M., Kielbasa P., Drózd T., Gąsiorowski A., Nawara P., Tabor S., Ultraślaba luminescencja (USL) jako potencjalna metoda oceny jakości żywności tradycyjnej, *Przegląd Elektrotechniczny*. 93 (2017), n. 12, 131–134.
- [7] Trzyniec K., Kielbasa P., Oziębłowski M., Drózd M., Nawara P., Posyłek Z., Leja R. Using photons emission to evaluate the quality of apples. *Przegląd Elektrotechniczny* (2017), nr 12, s. 183-187.
- [8] Borc R., Jaśkowska A., Dudziak A., Ultraślaba emisja fotonowa z układów żywych, *Politechnika Lubelska* (2015), ISBN 978-83-7947-164-5.
- [9] Laager F.M., Becker N.M., Park S.H., Soh K.S., Effects of Lac operon activation, deletion of the Yhha gene, and the removal of oxygen on the ultraweak photon emission of *Escherichia coli*, *Electromagnetic Biology and Medicine*, (2009), 28 pp. 240–249.
- [10] Nerudová M., Červinková K., Hašek J., Cifra M., Optical spectral analysis of ultra-weak photon emission from tissue culture and yeast cells, *Proceedings of SPIE* (2015), 9450, 94500O-1–94500O-7, doi: 10.1117/12.2069897.
- [11] Van Wijk E.P.A., Van der Greef J., Van Wijk R., Photon counts statistics in leukocyte cell dynamics, *Journal of Physics Conference Series*, (2011), 329, no. 012021
- [12] Salari V., Valian H., Bassereh H., Bókkon I., Barkhordari A., Ultraweak photon emission in the brain, *Journal of Integrative Neuroscience* (2015), 14, pp. 419-429.
- [13] Hideg E., Kobayashi M., Inaba H., Delayed Fluorescence and Ultraweak Light Emission from Isolated Chloroplasts (Comparison of Emission Spectra and Concentration Dependence), *Plant and Cell Physiology*, (1992), 33 pp. 689-693.
- [14] Karbowski L.M., Murugan N.J., Dotta B.T., Persinger M.A., Only 1% Melanoma Proportion in Non-Malignant Cells Exacerbates Photon Emissions: Implications for Tumor Growth and Metastases, *International Journal of Cancer Research and Molecular Mechanisms*, (2015), 1(2): doi <http://dx.doi.org/10.16966/2381-3318.108>
- [15] Kim J.D., Lim J., Sung B., Soh K.S., Biophoton Emission from Rat Liver, *Journal of the Korean Physical Society*, (2003), 42 pp. 427-430
- [16] Zhang J.G., Zhong L.F., Zhang M., Xia Y.X., Protection effects of procaine on oxidative stress and toxicities of renal cortical slices from rats caused by cisplatin in vitro, *Archives of Toxicology*, (1992), 66, pp. 354-358.
- [17] Kobayashi M., Takeda M., Sato T., Yamazaki Y., Kaneko K., Ito K.-I., Kato H., Inaba H., In vivo imaging of spontaneous ultraweak photon emission from a rat's brain correlated with cerebral energy metabolism and oxidative stress, *Neuroscience Research*, 1999, 34 pp. 103-113.
- [18] Maciej Oziębłowski, Magdalena Drózd, Paweł Kielbasa, Tomasz Drózd, Maciej Gliniak, Piotr Nawara, Marek Ostafin, Impact of pulsed electric field on the quality of unpasteurized beer. *Progress in Applied Electrical Engineering (PAEE)*, Koscielisko, Poland, (2017), pp. 1-4. doi: 10.1109/PAEE.2017.8009011.
- [19] Hossu M., Ma L., Zou X., Chen W., Enhancement of biophoton emission of prostate cancer cells by Ag nanoparticles, *Cancer Nanotechnology*, 2013, 4 pp. 21–26.
- [20] Gałazka-Czarnecka I., Korzeniewska E., Czarnecki A., Sójka M., Kielbasa P., Drózd T. Evaluation of Quality of Eggs from Hens Kept in Caged and Free-Range Systems Using Traditional Methods and Ultra-Weak Luminescence. *Applied Sciences*, (2019), 9, 2430; doi:10.3390/app9122430.
- [21] Usa M., Kobayashi M., Scott R.Q., Hiratsuka R., Maeda T., Inaba H., Ultraweak biophoton emission and bioelectrical activity in plant tissues. *Biological Luminescence*, World Scientific Publishing, 1990, pp.117-130.