

Определяне на съдържанието на вода в образци чесън след съхранението им в складово помещение с флуоресцентна спектроскопия

Ваня Славова*, Стефка Генова

Институт по зеленчукови култури „Марица”, Пловдив

*E-mail: vania_plachkova@abv.bg

Резюме

Настоящото изследване има за цел да установи приложението на флуоресцентната спектроскопия при съпоставката на прорастнали и непрорастнали образци от чесън. Те ще се сравняват по отношение на определянето на съдържанието на вода в тях. Образците чесън са съхранявани в складово помещение, при неконтролирани условия. Това ще позволи методът да се прилага като неинвазивен при качествен контрол на продукцията от чесън, по време на съхранение.

Експерименталните изследвания са проведени локално в складовото помещение за шестнадесет образци (8 прорастнали и 8 непрорастнали), след 9 месечно съхранение. За всеки образец беше измерено биометрично и лъжливото стъбло, което е израснало от вегетативната пъпка.

Спектралната инсталация за генериране на емисионни флуоресцентни спектри е мобилна и има приложимост при локални окачествявания на продукцията. При нейното юстиране (оптично настройване) е приложен системен инженерен подход, базиран на класическите принципи на съвременната оптоелектроника. Резултатите от експеримента ще могат да се приложат за оптимизация на времето за анализ на образци от чесън, в складово помещение, при неконтролирани условия като това ще подпомогне селекционния процес в неговите начални етапи, когато е необходимо за кратко време да бъдат окачествени голям набор от проби.

Ключови думи: образци чесън; неконтролирани условия, съдържание на вода; флуоресцентна спектроскопия

Determination of water content in garlic accessions after storage in a warehouse by fluorescence spectroscopy

Vanya Slavova*, Stefka Genova

Maritsa Vegetable Crops Research Institute- Plovdiv

*E-mail: vania_plachkova@abv.bg

Citation

Slavova, V., & Genova, S. (2021). Determination of water content in garlic accessions after storage in a warehouse by fluorescence spectroscopy. *Rastenievadni nauki*, 58(5) 58-64 (Bg).

Abstract

The present study aims to establish the application of fluorescence spectroscopy in the comparison of sprouted and non sprouted garlic accessions. They will be compared in terms of determining the water content in them. Garlic samples were stored in a warehouse under uncontrolled conditions. This will allow the method to be applied as non-invasive in quality control of garlic production during storage.

The experimental studies were performed locally in the warehouse for sixteen samples (8 germinated and 8 non-germinated), after 9 months of storage. For each accessions, the biometric and false stem that grew from the vegetative bud were measured.

The spectral installation for generating emission fluorescence spectra is mobile and has applicability in local characteristics of the production. In its adjustment (optical setting) a systematic engineering approach is applied, based on the classical principles of modern optoelectronics. The results of the experiment will be able to be applied to optimize the time for analysis of garlic accessions, in a warehouse, under uncontrolled conditions and this will support the breeding process in its initial stages, when it is necessary to qualify a large set of samples in a short time.

Key words: garlic accessions; uncontrolled conditions; water content; fluorescence spectroscopy

ВЪВЕДЕНИЕ

Чесънът (*Allium sativum* L.) е зеленчукова култура, с богато съдържание на хранителни вещества и се използва предимно за подправка. Има лечебни свойства. Етеричните масла на чесъна съдържат големи количества фитонциди с бактерицидно действие. Биохимичните и молекулярните изследвания показват, че най-голямото разнообразие на форми чесън е концентрирано в рамките на Централна Азия. Този богат генетичен фонд съдържа гени, които представляват интерес за използване в бъдещите генетични изследвания и селекционни програми (Kamenetsky et al., 2007). Когато чесънът се стрие, ензимът алиаза превръща алиина в алицин, който придава характерния аромат и лютивина. Фитонцидът е с много силно изразено антибактериално действие - той навлиза в кръвта и действа на белите дробове, на вътрешните органи и на кожата (Charron et al., 2016). Лечебните свойства на чесъна (*Allium sativum*) са широко известни и използвани от древни времена до наши дни. Чесънът подобрява имунните функции и има антибактериални, противогъбични и антивирусни дейности. Известно е, че предотвратява агрегацията на тромбоцитите и има хипотензивни и понижаващи холестерола и триглицеридите свойства (Iciek et al., 2009).

У нас подходящи за отглеждането на чесън са почти всички райони на страната. През последните години се наблюдава увеличаване на площите, които са 560 ha (Agrostatistics, 2020).

Целта на настоящето изследване е да се установи приложението на флуоресцентната спектроскопия за качествен анализ на съдържанието на вода в продукцията от чесън, при съхранение в складово помещение, при неконтролирани условия.

Флуоресцентната спектроскопия в хранителната индустрия се използва широко за количествен анализ. Тя е достатъчно чувствителна и специфична, за да открие дори малки концентрации на съединенията в изследваните обекти. (Qin & Lu, 2008; Valeur et al., 2012).

Прогресът във влакнесто-оптичните технологии предлага изключителни възможности за разработка на широк спектър от високочувствителни влакнесто-оптични сензори, в много нови области на приложения. Влакнесто-оптичните компоненти успешно се адаптират към компилации с елементи от микрооптиката като лещи, огледала, призми, решетки и други (Dakin & Brown, 2006; Mitchke, 2010).

Флуоресцентната спектроскопия е важен инструмент за изследване в много аналитични области на науката. Понастоящем тя е доминираща методология и широко се използва в биотехнологиите, поточната цитометрия, медицинската диагностика, секвенирането на ДНК, селското стопанство и генетичния анализ, както и в много други области на приложение. Методите, използващи това явление на светлината, са силно чувствителни, не отнемат продължително време и няма необходимост от разходи и трудности при работа с радиоактивни проследяващи вещества (Becker et al., 2003; Albani, 2006).

Ефектите на светлината, приложими при спектралния анализ като флуоресценция, пропускане и дифузно отражение, могат да се използват за контрол на качеството на зеленчуковите култури, в т.ч. при чесън. Също така, те може да служат за наблюдение на съдържанието на вода в образци от чесън, тъй като се визуализира флуоресцентна емисия във видимия спектрален диапазон и от ултравиолетовите лъчи. Спектралното разпределение на емисионния

сигнал при чесъна се състои главно от два максимума във видимия диапазон. Интензитетът и формата на спектъра на флуоресцентна емисия при стайна температура зависят главно от концентрацията на флуорофорните съединения и в по-ниска степен от структурата, фотосинтетичната активност и разположението на клетките в тъканта (National Research Council, 1968; Leo et al., 2007).

В много изследвания се потвърждава генотипната реакция на чесъна към продължителността на съхранение (Shokrgozar et al., 2013; Darabi, 2018).

Във връзка с изискванията на потребителите за високо хранително качество, проведеното изследване може да служи като база за създаване на мобилни детектиращи устройства, с които да се извършва моментен анализ на складово съхраняваната продукция от чесън, както в преработвателните предприятия, така и в хранителните търговски обекти.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Образците, които са обект на изследването са: Разградски 11 (характеризира се със средно едри луковици с плътно разположени прилепнали скилиди. Луковицата е с тегло 40 g, съдържанието на сухо вещество е 33%); Пловдивски 157 (характеризира се със средно едри до едри луковици с рехаво разположени скилиди. Луковица е с тегло 50 g, съдържанието на сухо вещество е 35%); Стрелкуващ 4 (характеризира се с едри луковици с тегло 60 g, с рехаво разположени скилиди. Съдържанието на сухо вещество е 32%); Разградски 117 (характеризира се с едри луковици с тегло 65 g, с рехаво разположени скилиди. Съдържанието на сухо вещество е 35%); Разградски 80 (характеризира се с едри луковици с тегло 60 g с рехаво разположени скилиди. Съдържанието на сухо вещество е 30%); Разградски 4 (характеризира се със средно едри луковици с тегло 40 g, с плътно разположени прилепнали скилиди. Съдържанието на сухо вещество е 33%); Разградски 119 (характеризира се със средно едри луковици с тегло 45 g. Съдържанието на сухо вещество е 29%.) и Монтански 113 (характеризира се с едри луковици с тегло 65 g, с плътно разположени прилепнали

скилиди. Съдържанието на сухо вещество е 37%).

Експериментът е проведен в Институт по зеленчукови култури „Марица” - Пловдив, при опитна площ на парцелката 4.8 m², по схема 85+25+25+2525x6 cm по приетата технология за отглеждане на зрял чесън (Bachvarov et al., 1990). Чесънът е засаден през средата на октомври и реколтиран в средата на юни, след което е оставен за просушаване в складово помещение. Агротехническите мероприятия са проведени в оптималните за културата срокове. За определяне на съдържанието на вода в отделните образци чесън след съхранението им в складово помещение е приложена флуоресцентна спектроскопия.

Изследването е проведено с влакнесто-оптичен спектрометър, който позволява генерирането на емисионни флуоресцентни сигнали от 200 nm до 1200 nm. Апаратът намира приложение при извършване на флуоресцентна спектроскопия на твърди проби при фотосенситивна площ 1.9968×1.9968 mm.

Опитната постановка включва лазерен диод (емисионна дължина на вълната 285 nm, оптична мощност 16 mW, DC), портативен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO. Образецът се поставя на дуралуминиева стойка, която позволява приемане на емисионен сигнал от него под 180° от U-образно оптично влакно. То намалява аберациите и позволява генериране на емисионен флуоресцентен сигнал с по-добро качество (Фиг.1). Разделителната способност на спектрометъра може да бъде в интервала от 0.06 - 20 nm, като тази на постановката, използвана за нашия експеримент е 0,09 nm. Тъй като флуоресценцията често пъти е много слаба и освен това е във всички посоки, то за да не се насища приемникът, полезният флуоресцентен сигнал се измерва в направление, което е под 180° спрямо възбуждащото лъчение. За предпочитане е като източник в схемата да се използва лазерен диод (ЛД), тъй като спектралната му ширина е много малка. ЛД, използван в експеримента има сравнително широка спектрална ширина на излъчване от около 30-40 nm и ъгловото разпределение на излъчването му е в голям ъглов диапазон от +/-30°. Чувствителността на спектрометъра е в интервала от 200 nm до 1200 nm. Разделителната му способност е $\delta\lambda = 5$ nm.

Спектралната инсталация на основата на флуоресцентни сигнали ще даде възможност да се запишат и емисионния спектър и спектъра на възбуждащия източник. Емисионният спектър представлява разпределението на вълната на емисия, измерена за една постоянна възбуждаща дължина на вълната. Възбуждащият спектър представлява зависимостта на интензивността на емисията, измерена за една дължина на вълната при сканиране спрямо възбуждащата дължина на вълната. Този спектър е представен като зависимост от дължината на светлинната вълна от светлинния интензитет, попадащ върху фотодетектора в спектрометъра.

За конкретната схема фотодетектора е от типа CMOS модел S9132. Чувствителността му е в интервала от 200 nm до 1200 nm. Разделителната му способност е $\delta\lambda = 5$ nm. S9132 е избран, тъй като може да засича емисионно лъчение от образец от чесън с много ниска загуба на водно съдържание, което се дължи на лъжливо

стъбло, израснало от вегетативна пъпка, с много малка дължина.

Лазерното лъчение се отвежда от източника и попада на образеца. След като пробата флуоресцира, емисионният сигнал попада върху U-образно оптично влакно с диаметър на сърцевината 200 μm със стъпален индекс на показателя на пречупване и числова апертура 0.22. То го отвежда до детектора. В спектрометъра светлинният сигнал се преобразува в електричен-цифров посредством USB 2.0 проводник, сваля се на компютър със софтуер AvaSoft8 и се експортира в Excel. Това позволява анализ, обработка и визуализация на резултатите от проведеното изследване.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Израстването на лъжливо стъбло от вегетативната пъпка при луковиците (прорастване)



Фигура 1. Общ вид на експерименталната инсталация, приложена за флуоресцентна спектроскопия
Figure 1. General view of the experimental installation used by fluorescence spectroscopy

води до намаляване съдържанието на вода в тях. Този процес зависи право пропорционално от дължината на прорастването.

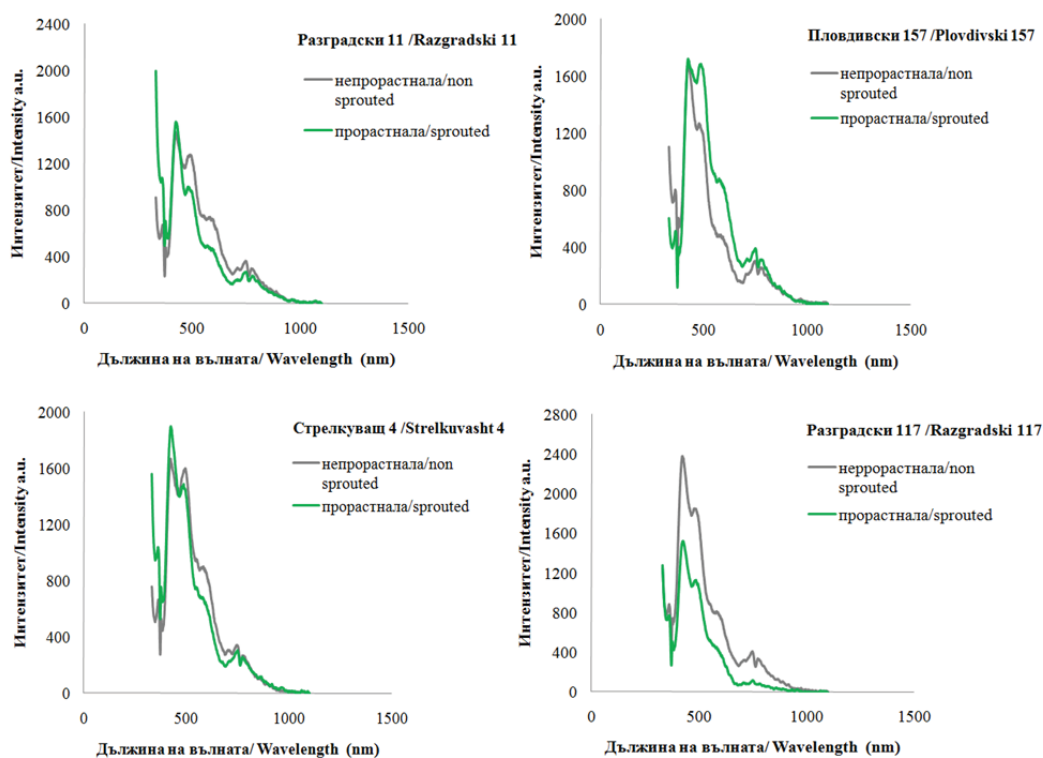
Оптичните свойства на чесъна се определят от неговата енергетична структура, която включва както заетите и свободните електронни енергетични нива, така и енергетичните нива на атомните трептения на молекулите или кристалната решетка. Възможните преходи между тези енергетични нива, като функция от енергията на фотоните, са специфични за чесъна, в резултат на което спектрите и оптичните свойства са характерни само за него. Чесънът съдържа частички с размери, по-малки от дължината на вълната на видимата светлина. Частиците в мътната среда, каквато е чесънът, играят ролята на независими източници на светлина, излъчващи некохерентно, при което образците видимо флуоресцират.

Поради това флуоресцентната спектроскопия намира приложение за анализ при тази зеленчукова култура. Оптичните параметри и спек-

тралните свойства се променят и като функция от температурата, налягането, външните електрични и магнитни полета и т. н., което позволява да се получи съществена информация за промяна в химичния и клетъчно морфологичния състав на чесъна.

Направено е литературно проучване за провеждане на сходни изследвания. Оказва се, че до настоящия момент не е прилаган в национален и международен план описания експериментален подход за анализ на луковици. Това ни дава основание да твърдим, че за първи път е приложена флуоресцентна спектроскопия за анализ на образци от чесън относно съдържанието им на вода при съхранението им в складово помещение при неконтролирани условия.

Бяха анализирани шестнадесет образци чесън (8 прорастнали и 8 непрорастнали) след 9-месечно съхранение в складово помещение с метода флуоресцентна спектроскопия поотделно. Размера на лъжливото стъбло, което е израснало от вегетативната пъпка на всеки от образците



Фигура 2. Разлика в емисионните дължини на вълните при прорастнали и непрорастнали образци Разградски 11, Пловдивски 157, Стрелкуващ 4 и Разградски 117

Figure 2. Difference in emission wavelengths in sprouted and non sprouted accessions Razgradski 11, Plovdivski 157, Strelkuvash 4 and Razgradski 117

е както следва: образец Разградски 80 - 6,2 mm, образец Разградски 11 - 0,3 mm, Пловдивски 157 - 0,5 mm, Разградски 4 - 8,4 mm, Стрелкуващ 4 - 1,2 mm, Разградски 117 - 3,6 mm, Разградски 119 - 7,4 mm, Монтански 113 - 5,8 mm.

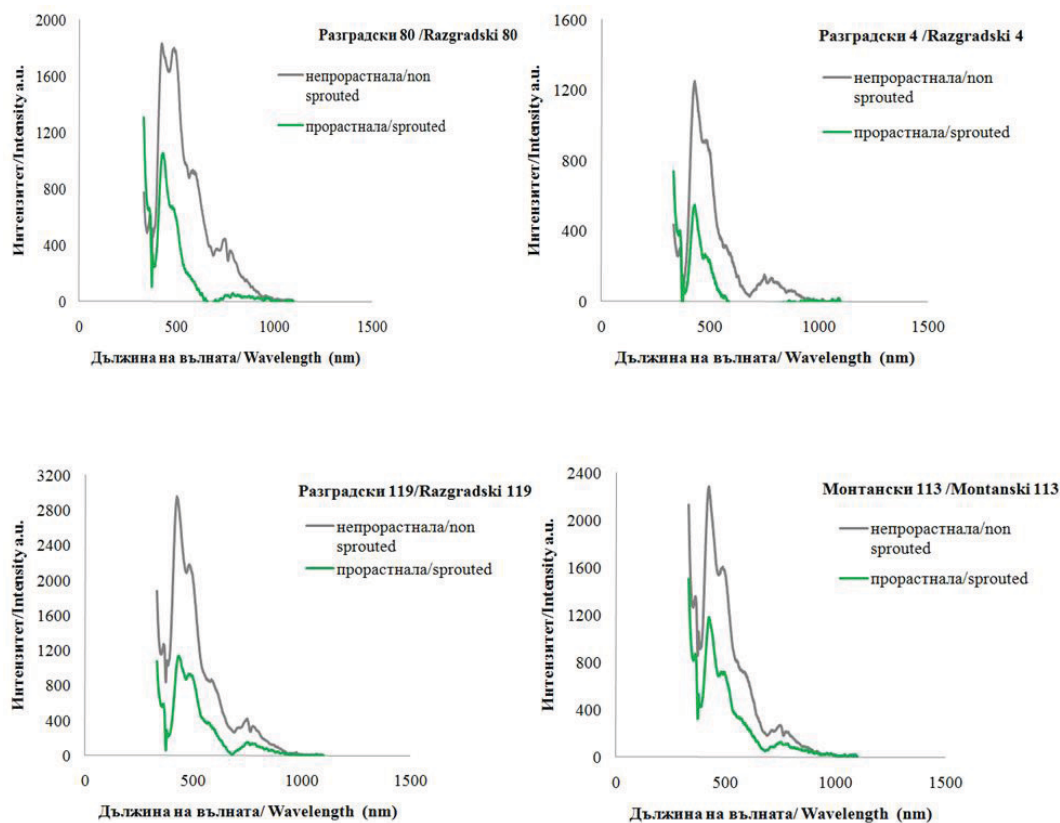
Установено е, че най-подходящата дължина на вълната на възбуждане е 285 nm. Това се дължи на факта, че само при нея има малка разлика в емисионните дължини на вълната между прораствали и непрораствали глави на образците Разградски 11, Стрелкуващ 4 и Пловдивски 157 (Фиг. 2). Спектралните разпределения на останалите образци с по-голямо прорастване се различават значително (Фиг. 3).

На Фигура 2 са представени 4 образци от чесън, които са с лъжливи стъбла под 1,5 mm. При образец Разградски 11 се наблюдава съвсем малка разлика между спектралното разпределение на емисионния флуоресцентен сигнал между прораствала и непрораствала луковица, а това

означава, че загубата на съдържание на вода е почти незначителна. В следващите три образци – Пловдивски 157, Стрелкуващ 4 и Разградски 117 от Фигура 2 е установена правопрпорционална зависимост между интензитета на спектралната ивица на излъчване и нарастването на дължината на лъжливото стъбло.

На Фигура 3 са представени 4-те образци от чесън, които са с по-голяма дължина на лъжливото стъбло, израснало от вегетативната пъпка. При тези образци отново се потвърждава, че корелацията в интензивността на спектрите му е правопрпорционална на нарастването на дължината на лъжливото стъбло (вследствие на загуба на вода).

Трите основни предимства на флуоресцентната спектроскопия са, че методът е бърз, не изисква консумативи и може да се извърши на място в складовото помещение. Решението за локални измервания е взето, за да се избегне



Фигура 3. Разлика в емисионните дължини на вълните при прораствали и непрораствали образци Разградски 80, Разградски 4, Разградски 119 и Монтански 113

Figure 3. Difference in emission wavelengths in sprouted and non sprouted accessions Razgradski 80, Razgradski 4, Razgradski 119 and Montanski 113

повреждането на пробите при транспортиране и по този начин да се осигури флуоресцентен анализ с висока чувствителност.

Интензивността на сигнала е достатъчно висока при много ниско съдържание на вода (късо лъжливо стъбло), което означава, че методът е приложим за контролиране на прорастването на лъжливото стъбло от луковици, съхранявани в складови помещения при неконтролирани условия.

Съществен момент при флуоресцентната диагностика по отношение на съпоставката на прорастнали и непрораснали образци е този, че методът е с висока чувствителност по отношение на определянето на съдържанието на вода в луковиците, съхранявани в складово помещение, при неконтролирани условия. Този факт позволява флуоресцентната спектроскопия да се прилага като неинвазивен метод при качествен анализ на продукцията от чесън по време на съхранение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методът на флуоресцентната спектроскопия е бързодействащ при определяне съдържанието на вода в чесъна при съхранение на продукцията.

Методът на флуоресцентната спектроскопия е приложим при контролиране на прорастването на лъжливо стъбло от чесън по време на съхранение.

Доказано, е че флуоресцентната спектроскопия ще подпомогне селекционния процес, когато е необходимо за кратко време да бъдат окачествени голям набор от проби.

Установено е, че системният инженерен подход за юстиране (оптично настройване) на специализирана инсталация за приложни изследвания с флуоресцентна спектроскопия е приложим при окачествяване на продукцията от чесън.

ЛИТЕРАТУРА

- Albani, J.** (2007). Principles and applications of fluorescence spectroscopy. *Blackwell Science*, pp. 103-186.
- Agrostatistics** (2020). Ministry of Agriculture and Forestry and Food. <https://www.agrostat.bg/ISASPublic/Crops>
- Becker, M., Christensen, J., Frederiksen, C., & Haugegaard, V.** (2003). Front-Face fluorescence spectroscopy and chemometrics in analysis of yogurt rapid analysis of riboflavin. *Journal of Dairy Science*, 86, 2508-2515.
- Bachvarov, St., Petkov, M., Todorov, Yo., Ivanov, L., & Kostov, D.** (1990). *Alliaceae /Lukovi, Zemizdat*, Sofia.
- Charron, C., Milner, J., & Novotny, J.** (2016). Garlic in *Encyclopedia of Food and Health*, pp. 184-190.
- Darabi, S.** (2018). Storability evaluation of short day onion populations and cultivars in non-controlled storage. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, 49(1), 107-118.
- Dakin, J., & Brown, R.** (2006). *Handbook of Optoelectronics*, Taylor & Francis, pp. 74-253.
- Iciek, M., Kwiecień, I. & Włodek, L.** (2009). Biological properties of garlic and garlic-derived organosulfur compounds. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50(3), 247-265.
- Kamenetsky, R., Khassanov, F., & Rabinowitch, D.** (2007). Garlic biodiversity and genetic resources. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, Global Science Books, pp. 1-5.
- Leo, M., Nollet, L. & Toldra, F.** (2007). *Advances in Food Diagnostics*, pp. 49-194.
- Mitchke, F.** (2010). *Fiber optics physics and technology* heidelberg, Springer.
- National Research Council (U.S.).** (1968). *Committee on Line Spectra of the Elements Research in Optical Spectroscopy: Present Status and Prospects; a Report*, 1968.
- Qin, J. & Lu, R.** (2008). Measurement of the optical properties of fruits and vegetables using spatially resolved hyperspectral diffuse reflectance imaging technique. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 355-365.
- Shokrgozar, S., Khodadadi, M., Hassanpanah, D., Abdo-si, V. & Moradi, P.** (2013). Effects of storage conditions on losses rate and some quality traits of six Iranian onion genotypes in Karaj region, Iran. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(1), 151-156.
- Valeur, B., Santos, B., & Molecular, M.** (2012). *Fluorescence: Principles and applications*, Wiley-VCH, pp. 13-19.