

УДК 620.179.148:631.576

А.Н. Одарченко

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГОМОГЕНИЗИРОВАННЫХ ФРУКТОВ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ

*Стаття присвячена дослідженню гомогенізованих фруктів методом лазерної скануючої конфокальної мікроскопії шляхом візуалізації структури індивідуальних фруктових сумішей. Даний спосіб дає можливість вивчити структуру фруктові суміші, характер і природу включень, що мають різну флуоресценцію.*

**Введение.** В последние годы анализ изображений находит все больше применений для изучения товароведных свойств пищевых продуктов. Информация о форме, размерах и о составе компонентов пищевого продукта может быть использована, как параметры для оценки качества продукта.

Метод оптической микроскопии использовали для визуализации структуры индивидуальных фруктовых смесей. С этой целью был применен исследовательский инвертированный микроскоп Axio Observer Z1, (CarlZeiss, Германия), предназначенный для выполнения процедуры цифровой визуализации с максимальным уровнем качества. Основное преимущество конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (ЛСМ) состоит в том, что для этой техники требуется минимальная подготовка образца. Имеется возможность исследовать фрукты и овощи с высоким содержанием воды. В данном исследовании возбуждение флуоресценции всех образцов проводили светом длиной волны 405 нм.

Материалом исследования были индивидуальные фруктовые смеси, приготовленные из яблок, абрикосов и слив. Для приготовления образцов использованы следующие сорта: яблок – белый налив, абрикосов – краснощекий, слив – ренклод (кожица фиолетовой окраски, мякоть фиолетово-янтарного цвета). Способ получения фруктовых смесей включает в себя следующие процедуры:

- подготовку фруктового сырья (мытьё, очистка от семечковой камеры и косточек, измельчение);
- приготовление из него фруктового пюре путем протирания фруктов на протирочных машинах;
- гомогенизирование;
- подогрев смеси на водяной бане до температуры в продукте 80-85°C, выдерживание в течение 3 - 5 минут при постоянном перемешивании;
- охлаждение.

Характерное изображение, полученное на конфокальном сканирующем лазерном микроскопе для яблочной смеси, приведено на рис.1. При облучении образца светом длиной волны 405 нм регистрируется флуоресценция в синем, зеленом и красном диапазонах длин волн (рис. 1 а, б, в). Микроскопическое изображение образца в проходящем белом свете представлено на рис. 1 г. Интегральный сигнал на рис.1 д представляет собой суперпозицию синей, зеленой, красной флуоресценции и изображения образца в проходящем белом свете. Как видно на рис.1, структура яблочной смеси достаточно однородна.

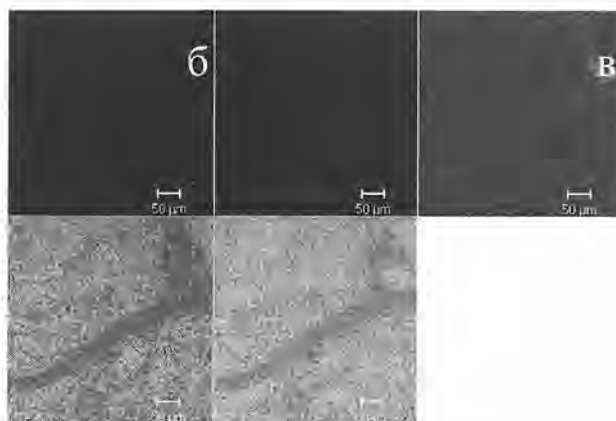


Рис. 1 Микрофотографии образца смеси из яблок: автофлуоресцентное изображение в красной (а), синей (б) и зеленой (в) областях спектра; изображение образца в проходящем белом свете (г); интегральное изображение образца (суперпозиция изображений (а), (б), (в) и (г))

Об этом можно судить по собственной флуоресценции образца: красная флуоресценция обусловлена флуоресценцией хлорофилла *a*, синяя – флавоноидами, зеленая – витаминами, в частности, рибофлавином [Pomeranz A., Meloan C. T. – 2002]. Известно, что хлорофилл *a* сильно поглощает как в красной, так и в синей областях, флуоресценция происходит практически полностью в красной области [6].

Другая характерная область (другое поле) этого же образца представлена на рис. 2. Здесь, наряду с однородной структурой яблочной смеси, наблюдаются относительно большие включения. Они представляют собой, вероятнее всего, частички кожуры, поскольку в этих включениях регистрируется синяя и зеленая автофлуоресценции, которые могут быть объяснены наличием флавоноидов, витаминов и, возможно, собственным пектином яблок.

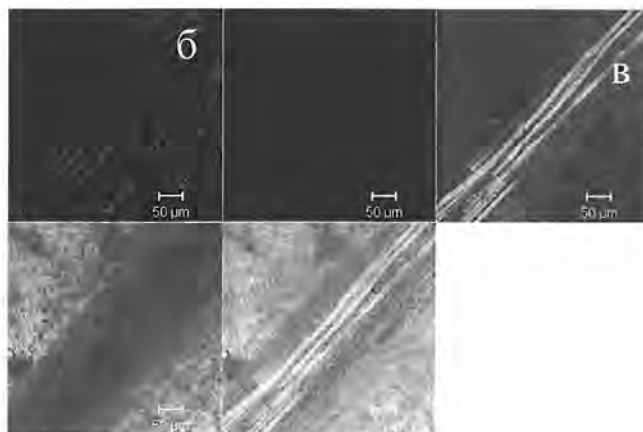


Рис. 2. Микрофотографии участка образца смеси из яблок с включениями кожуры яблок: автофлуоресцентное изображение в красной (а), синей (б) и зеленой (в) областях спектра; изображение образца в проходящем белом свете (г); интегральное изображение образца (суперпозиция изображений (а), (б), (в) и (г))

Вместе с тем, во включениях регистрируется интенсивная автофлуоресценция в красном диапазоне, что указывает на наличие хлорофилла. Одновременно, как видно на рис. 1 и рис. 2, красная флуоресценция хлорофилла регистрируется и по всей массе образца, где этот флуорофор присутствует в виде небольших вкраплений. Суммарная флуоресценция от включений кожуры, как видно на рис. 2. (д), более высокая, чем флуоресценция остальной мякоти яблока. Отсюда следует, что в частичках кожуры содержится существенно больше флуорофоров, прежде всего флавоноидов, витаминов и пектина, чем в основной массе (мякоти) плода.

Микрофотографии образцов фруктовой смеси из абрикосов представлены на рис. 3 и рис.4. Видно, что образец фруктовой смеси из абрикосов состоит из более мелких фрагментов, чем рассмотренный выше образец фруктовой смеси из яблок (рис.1). Флуоресцентное изображение демонстрирует наличие тех же соединений, что и в рассмотренном выше случае, – хлорофилла, флавоноидов и витаминов

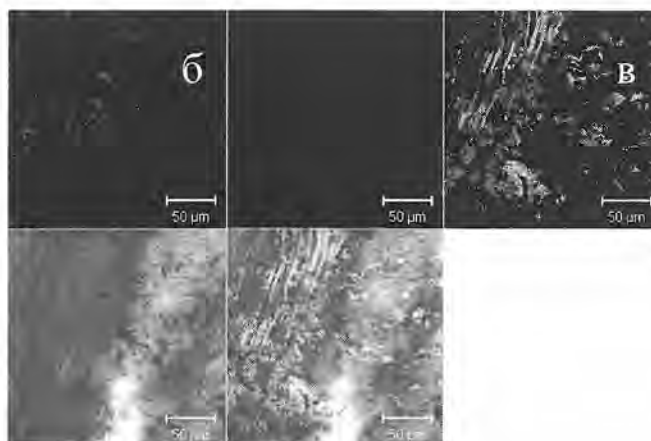


Рис. 3. Собственная красная (а), синяя (б) и зеленая (в) флуоресценция; изображение образца в проходящем белом свете (г); интегральное изображение образца абрикосовой смеси (д)

Информацию о точном значении длин волн флуоресценции и о локализации флуоресцирующих компонентов фруктовой смеси в данной работе получали из анализа спектров флуоресценции от отдельных кластеров в образце. Пример таких спектров представлен на рис. 4.

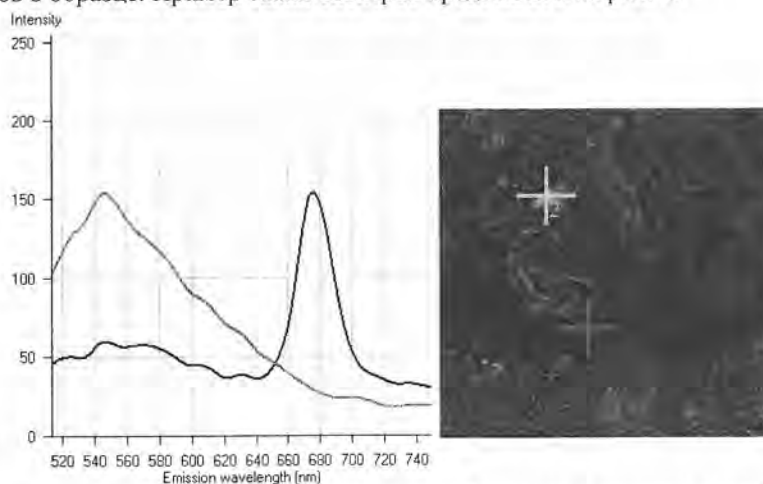


Рис. 4. Интегральное изображение участка смеси из абрикосов и спектры автофлуоресценции выделенных фрагментов. Спектр от фрагмента 1 с максимумом на длине волны 675 нм – хлорофилл; спектр от фрагмента 2 с максимумом на длине волны 545 нм – витамины.

Максимум флуоресценции от кластера, обозначенного на рис. 4 цифрой 1 приходится на длину волны 675 нм, что соответствует автофлуоресценции хлорофилла по литературным данным. Флуоресценция кластера 2 на длине волны 545 нм соответствует витаминам и, вероятно, каротинам, которые, как известно, определяют оранжевую окраску абрикоса.

Микрофотографии образцов фруктовой смеси из слив представлены на рис 5.

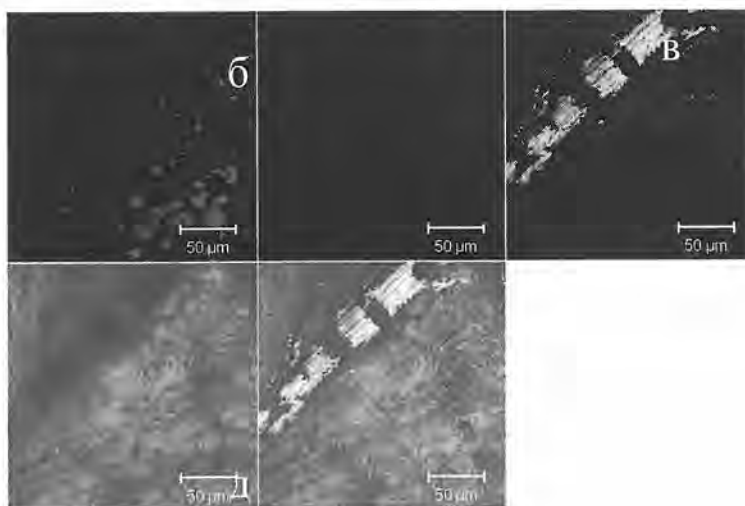


Рис. 5. Микрофотографии участка образца смеси из слив автофлуоресцентное изображение в красной (а), синей (б) и зеленой (г) областях спектра; изображение образца в проходящем белом свете (г); интегральное изображение образца (суперпозиция изображений (а), (б), (в) и (г))

На представленных микрофотографиях обнаруживаются автофлуоресценция хлорофилла, флавоноидов и витаминов. Хлорофилл распределен во всей массе образца, а флавоноиды и витамины локализованы, главным образом в составе фрагментов кожуры.

**Выводы.** Таким образом, представленные результаты иллюстрируют возможность идентификации биологических компонентов и их локализацию в пищевых продуктах, полученных путем обработки различных фруктов. Данные показатели могут быть использованы в технологическом цикле производства фруктовых пищевых продуктов из различных фруктов и замороженных полуфабрикатов с целью формирования их товароведных свойств.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Goodman D. E., Rao R. M. A new, rapid, interactive image analysis method for determining physical dimensions of milled rice kernels. // J Food Sci. – 1984. – v.49, N 2. – P. 648-649.
2. Sapirstein H. D., Neuman M., Wright E. H, Shwedyk E., Bushuk W. An instrumental system for cereal grain classification using digital image analysis. // J. Cereal. Sci. – 1987. – v. 6, N 1. – P. 3-14.
3. Symons S. J., Fulcher R. G. Determination of wheat kernel morphological variation by digital image analysis: I. Variation in eastern Canadian milling quality wheats. // J. Cereal. Sci/ – 1988.-v. 8, N 3.- P. 211-218.
4. Neuman M., Sapirstein H. D., Shwedyk E, Bushuk W. Discrimination of wheat class and variety by digital image analysis of whole grain samples. // J. Cereal. Sci. – 1987. – v.6, N 1. – P. 125-132.
5. Pomeranz A., Meloan C.T. Food analysis. Theory and practice. Aspen Publisyers, Inc. 200 Orchard Ridge Drive Gaithersburg. – 2002. – 729 p.
6. Нобел П. Физиология растительной клетки. Перевод с английского. – М: Мир. – 1973.– 288 с.

ОДАРЧЕНКО Андрей Николаевич – к.т.н., доцент Харьковского государственного университета питания и торговли.

Научные интересы:

- товароведение и экспертиза товаров.
- пищевые технологии.